



Foto: Adriana Ferreira Lima

COMUNICADO
TÉCNICO

09

Palmas, TO
Outubro, 2022



Canulação como técnica de baixo custo para identificação do sexo e condição reprodutiva em fêmeas de pirarucu *Arapaima gigas*

Lucas Simon Torati
Adriana Ferreira Lima
Lucina Nakaghi Ganeco Kirschnik
Hervé Migaud

Canulação como técnica de baixo custo para identificação do sexo e condição reprodutiva em fêmeas de pirarucu *Arapaima gigas*¹

¹ Lucas Simon Torati, Biólogo, doutor em Aquicultura, pesquisador da Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas, TO. Adriana Ferreira Lima, Engenheira de Pesca, mestre em recursos pesqueiros e aquicultura, pesquisadora da Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas, TO. Luciana Nakaghi Ganeco Kirschnik, Zootecnista, doutora em aquicultura, pesquisadora da Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas, TO. Hervé Migaud, Biólogo, doutor em ciência animal, pesquisador da Universidade de Stirling, Stirling, UK.

O pirarucu *Arapaima gigas* é uma espécie amazônica com enorme potencial para a diversificação da aquicultura brasileira. Entretanto, esse potencial genético encontra-se ameaçado pela pesca predatória, tendo a espécie sido classificada como em risco de extinção pela “Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção” – CITES (Castello; Stewart, 2010). No Brasil, o cultivo de pirarucu ainda é insuficiente para atender à demanda do mercado e sua cadeia de produção é limitada pela falta de controle reprodutivo da espécie em cativeiro. Atualmente, a reprodução em cativeiro do pirarucu é estimulada pela separação de casais sexualmente maduros em viveiros escavados, onde as desovas costumam ocorrer de forma natural durante o período chuvoso, de outubro a maio, de acordo com a região. As desovas são geralmente observadas pelos produtores quando os alevinos já iniciaram sua respiração aérea, aproximadamente

cinco dias após a fertilização dos ovos no ninho. É nesse momento que os alevinos são geralmente coletados para o treinamento alimentar e a comercialização para fazendas do setor de engorda (Santana et al., 2020).

Na separação dos casais para reprodução, a identificação sexual do pirarucu é determinante para o sucesso reprodutivo e consequente obtenção de desovas. Porém, as técnicas e os métodos disponíveis atualmente para identificação sexual são limitados e de difícil acesso para o produtor. Além disso, não existem técnicas não-cirúrgicas descritas para avaliação da condição reprodutiva (estágio de maturação gonadal) dos reprodutores.

Até o momento, diversas técnicas de sexagem foram estudadas. Na última década, estudos genéticos mostraram que o pirarucu não possui um cromossomo sexual distinto, por esse motivo as técnicas de cariotipagem não podem ser empregadas para identificação sexual (Marques et al., 2006).

Abordagens utilizando equipamentos médico cirúrgicos também foram testadas para identificação sexual, por meio da observação direta da gônada. A primeira delas foi a técnica de laparoscopia, na qual uma abertura cirúrgica no abdômen do peixe é feita com o objetivo de inserir um endoscópio em sua cavidade celomática (Carreiro et al., 2011). No entanto, esse método é invasivo e arriscado para a integridade do peixe, além de depender de um equipamento cirúrgico geralmente inacessível para o produtor e de um manejo mais especializado. Além da laparoscopia, a técnica de ultrassonografia foi testada sem sucesso para observação gonadal, possivelmente devido às escamas da parede abdominal serem bastante densas na espécie (Lima et al., 2017). Ainda na década de 2010, uma outra importante técnica, esta sim mostrou-se mais eficiente, foi desenvolvida permitindo a identificação de fêmeas adultas: a detecção de vitelogenina sanguínea (Chu-Koo et al., 2009). Inclusive, essa ferramenta passou a ser comercializada na forma de um kit de imunoensaio enzimático. Entretanto, a adoção dessa tecnologia pelo setor produtivo foi limitada, uma vez que o acesso a esta envolve processos de importação ainda demorados e onerosos, com necessidade de refrigeração durante seu transporte, o que limita seu acesso em regiões remotas. Além disso, o kit apresenta curto prazo de validade, exigindo um elaborado planejamento para seu uso, e sua aplicação é limitada para peixes que sejam sabidamente maduros (> 3 anos de idade), exigindo a

manutenção de peixes não sexados nas propriedades por longos períodos. Mais recentemente, após o sequenciamento genômico de *A. gigas* (DU et al., 2019), um estudo identificou o provável gene envolvido na determinação sexual da espécie, havendo hoje um marcador genético possível de ser empregado para identificação sexual na espécie (Adolfi et al., 2021). Apesar de confiável, este método ainda não está disponível como uma prestação de serviço por laboratórios públicos ou privados, limitando o acesso a essa tecnologia.

Em termos morfológicos, o pirarucu não possui diferenças sexuais evidentes em seu corpo, principalmente em seu poro urogenital, como quando comparado com outras espécies (Figura 1 A e B). A técnica de canulação, já amplamente utilizada para determinar a maturidade gonadal em diversas espécies (ex. tambaqui, surubim) foi por muito tempo considerada impossível para o pirarucu (Núñez et al., 2011), dada a morfologia peculiar do gonoduto (“ligamento”) e do gonópore na espécie. Recentemente, um endoscópio com 3 mm de diâmetro foi utilizado para estudar essa anatomia urogenital do pirarucu (Toratti et al., 2016), o que gerou um entendimento morfológico que viabilizou não somente o procedimento de endoscopia não-cirúrgica através do gonópore (gonoductoscopia), como permitiu implementar e adaptar a técnica de canulação na espécie (Toratti et al., 2019). Com base nos resultados desse estudo, este comunicado técnico objetiva descrever o procedimento de canulação no pirarucu,

como uma ferramenta acessível para qualquer produtor que queira realizar a identificação sexual em peixes juvenis (~10 kg) e adultos. Adicionalmente, esse comunicado descreve os estágios de maturação gonadal nas fêmeas para

que as biópsias ovarianas coletadas por meio da canulação possam auxiliar na identificação da maturidade sexual das fêmeas e assim aumentar as chances de sucesso no processo de formação de casais para reprodução.

Fotos: Adriana Ferreira Lima, (A,B)

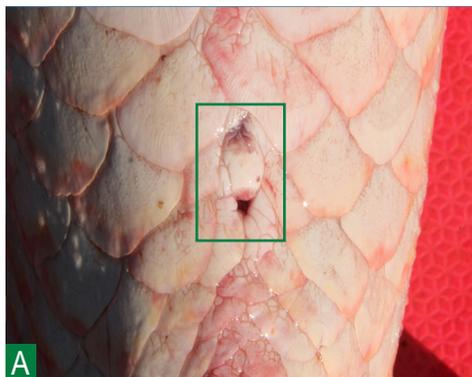


Figura 1. (A e B), Papila urogenital (retângulos) de fêmea (A, esquerda) e macho (B, direita) de pirarucu *Arapaima gigas*, sem evidenciar diferenças morfológicas externas.

Morfologia gonadal do pirarucu e desenvolvimento da técnica de canulação

A morfologia gonadal do pirarucu foi inicialmente descrita por Gordinho et al., 2005. Há tempos se sabe que na espécie (assim como nos osteoglossídeos), apenas a gônada esquerda é desenvolvida nos machos e nas fêmeas (Figura 2 A e B). Além disso, no pirarucu o ovário não é envolvido por uma cápsula como na maioria das espécies de teleosteos.

Por isso, no processo de ovulação, os ovos são liberados e caem diretamente na cavidade celomática, de onde são conduzidos por ação da musculatura abdominal em direção a uma estrutura denominada “ligamento”. Esse ligamento atua como um oviduto, conduzindo os ovos para o gonópore, abertura pela qual eles chegam ao ambiente externo para fertilização no momento da cópula. Em estudo usando endoscopia (Toratti et al., 2016, 2019), foi observado que, na fêmea do pirarucu, o canal urinário e o “ligamento” possuem sua abertura num espaço comum dentro da papila urogenital (Figura 3), sendo essas aberturas

separadas por uma membrana ou “septo” (Figura 4D). Tendo conhecimento da presença desse septo, foi possível acessar a cavidade celomática onde o ovário do pirarucu se encontra, tanto por

endoscopia quanto por canulação. Até o momento, o procedimento de canulação e acesso à gônada só pode ser realizado em fêmeas.

Fotos: (A, B), Adriana Ferreira Lima.

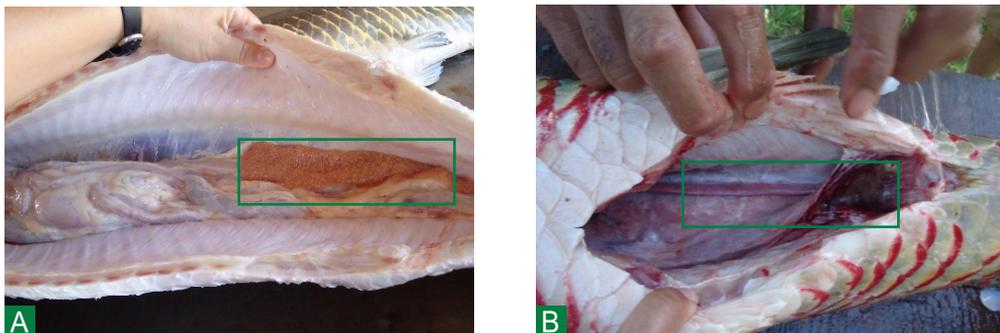


Figura 2. (A) Ovário e (B) testículo desenvolvidos em pirarucus *Arapaima gigas*.

Foto: Adriana Ferreira Lima.



Figura 3. Detalhes externos da papila urogenital (seta) e ânus (*) do pirarucu *Arapaima gigas*.

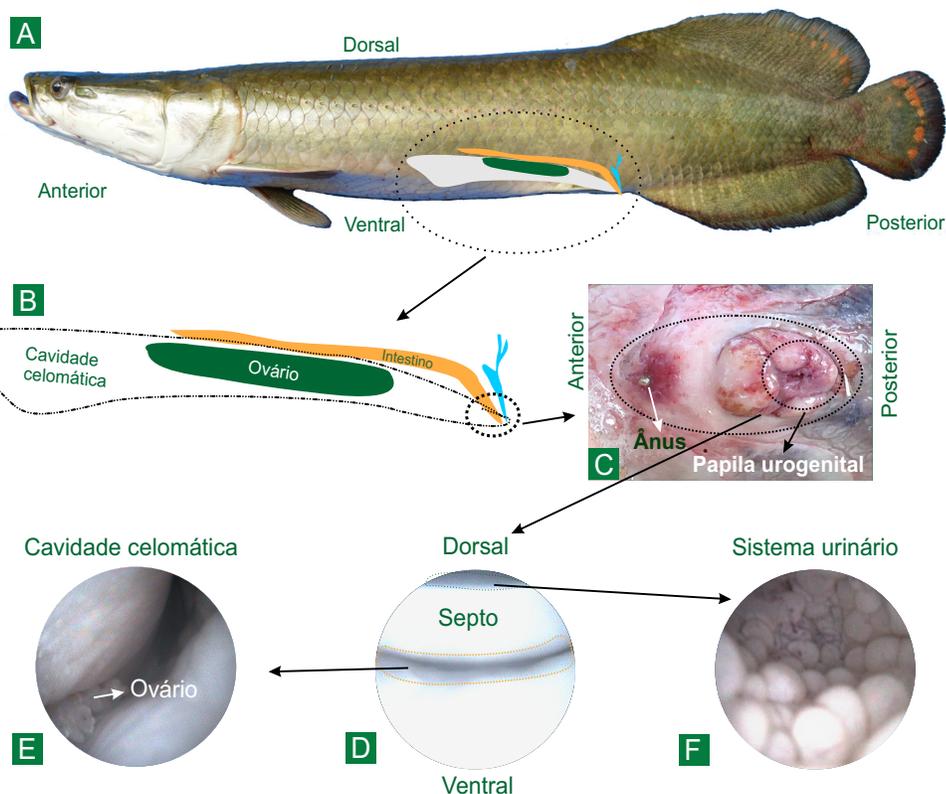


Figura 4. (A) Vista lateral de um pirarucu, mostrando a cavidade celomática (branco), o ovário esquerdo (verde), o intestino (laranja) e o sistema urinário (azul). (B) Ampliação da cavidade celomática onde se encontra o ovário esquerdo (verde), incluindo a posição relativa do intestino e do sistema urinário. (C) Foto mostrando a posição relativa entre o ânus (anterior) em relação à papila urogenital (posterior). (D) Imagem endoscópica da abertura (aprox. 0,5cm) da papila urogenital mostrando o septo que separa os caminhos para a cavidade celomática (ventral; linha pontilhada alaranjada) ou para o sistema urinário (dorsal; linha pontilhada verde escuro). (E) Imagem endoscópica da cavidade celomática mostrando um ovário esbranquiçado de uma fêmea imatura. (F) Imagem endoscópica mostrando a aparência interna da bexiga urinária. Adaptado de Torati et al. (2019).

Cuidados com o reprodutor na realização do procedimento de canulação

Para realizar a canulação, é preciso tomar todos os cuidados necessários para garantir a segurança do peixe e daqueles que o manipulam (Lima et al., 2017). Rapidamente, recomenda-se que o reprodutor seja contido dentro de uma rede de contenção (“camisinha”), e mantido em decúbito dorsal (ventre para cima) sobre uma superfície úmida e molhada. Durante o procedimento, é

necessário permitir que o peixe respire e seja mantido molhado pela maior parte do tempo. Se o procedimento durar mais que 3 min, sugere-se voltar o peixe para a posição de decúbito ventral (ventre para baixo) para facilitar e estimular sua respiração aérea. Após a respiração do animal, deve-se retorná-lo para a posição indicada para o procedimento. O tempo para realização do procedimento é variável e depende tanto da anatomia individual de cada peixe, quanto da prática e da experiência do examinador. No estudo com endoscopia, levou-se de 0,3 a 5,8 min para acessar a cavidade celomática em 12 fêmeas adultas (Tabela 1). Na prática da canulação, esse tempo estimado não é diferente.

Tabela 1. Endoscopia em fêmeas adultas de pirarucu. Dados publicados em (TORATI et al., (2019). Massa corporal (kg), comprimento total (cm), tempo necessário para observar o ovário (min), cor predominante dos ovócitos, diâmetro médio dos ovócitos (mm).

N ° fêmea	Massa (kg)	Comprimento total (cm)	Tempo (min)	Cor dos ovócitos	Tamanho dos ovócitos (mm)
1	37,0	155,0	1,3	verde	2,4
2	31,0	156,0	0,7	verde	2,2
3	45,0	162,0	1,2	verde	1,7
4	-	-	0,6	verde	2,3
5	48,5	175,0	0,7	verde	2,4
6	41,0	167,0	0,6	verde	2,1
7	48,0	173,0	0,5	verde	2,2
8	51,0	175,0	0,7	verde	2,3
9	41,0	160,0	5,8	amarelo	1,3
10	45,0	168,0	2,1	verde	2,2
11	42,0	166,0	0,5	verde	2,3
12	44,0	171,0	0,3	verde	2,4

Material necessário para a canulação

Para realizar a canulação, o examinador irá precisar de:

- rede de despesca;
- rede ou malha de contenção (“camisinha”);
- baldes;
- superfície macia (colchão ou tatame de EVA);
- cânula (sonda uretral no 8 a 12);
- 40 cm de arame liso galvanizado BWG 18 - 1,24 mm;
- seringa (50 mL) com bico Luer Slip;
- pisseta com álcool 70% para esterilização da cânula;
- frascos de 2 mL para acondicionar os ovócitos;
- solução de formaldeído (10%);
- planilha de anotações e leitor de microchip, caso os peixes sejam marcados individualmente.

A cânula deve ser preparada para o procedimento. Para isso, é necessário “endurecer” a cânula de forma que ela se torne uma estrutura firme e maleável. Isso é feito inserindo o arame flexível dentro da cavidade da cânula, de forma que a ponta do arame fique sempre protegida pelo fundo cego da cânula (Figura 5B). Isso é fundamental para evitar que a ponta do arame tenha qualquer contato

com o peixe, o que poderia causar uma perfuração ou injúria indesejada. Uma vez estando com a cânula montada, faz-se uma ligeira curvatura na extremidade da cânula (Figura 5C). Essa curvatura é feita para que a extremidade da cânula possa ser usada para tatear a cavidade “urogenital”.



Figura 5. (A) Cânula (sonda uretral número 12) utilizada para o procedimento de canulação no pirarucu *Arapaima gigas*. (B) Detalhe

da extremidade da cânula com arame flexível em seu fundo cego. (C) Detalhe da ligeira curvatura feita na extremidade da cânula para auxiliar na identificação do septo.

Como realizar a canulação?

Para a canulação, a pessoa que examina o peixe deve inserir a cânula com arame (conforme descrito no tópico anterior) na papila urogenital e buscar identificar a presença (fêmea) ou a ausência (macho) do septo (Figura 4D) na região ventral da cavidade urogenital. Para isso, deve-se inserir e remover a cânula de forma suave. Nos machos, que não possuem septo, a ponta da cânula irá deslizar sobre a parte ventral da cavidade urogenital sem encontrar nenhuma resistência, depressão ou obstáculo. Do ponto de vista prático, uma vez que o examinador não conseguiu identificar a presença do septo, considera-se o peixe do sexo masculino.

Nas fêmeas, ao contrário, ao movimentar a cânula dentro da cavidade urogenital será possível sentir ou tatear com sua ponta uma ligeira resistência (ao inserir) ou uma ligeira depressão (ao remover). Isso acontecerá a aproximadamente 0,5 cm da abertura urogenital. Nesses casos, o examinador deve movimentar a cânula de forma suave, buscando encontrar a abertura do “ligamento” por tentativa e erro, tateando o septo e tentando deslocá-lo (sentido dorsal), para então inserir a cânula dentro da cavidade celomática, onde o ovário se

encontra. É comum que, quando a cânula tatear o septo, este pode se dobrar de forma a impedir sua entrada, sendo então necessário repetir os movimentos. Essa etapa exige bastante cuidado e delicadeza por parte do examinador, para que o acesso seja feito sem causar injúrias ao peixe.

Considerando que cada peixe possui uma anatomia própria, diferentes peixes apresentarão dificuldades diferentes para o examinador. Nesse processo, é importante ter em mente dois aspectos. Primeiro, a angulação utilizada para buscar a abertura da cavidade celomática após encontrar o septo deve ser menor do que aquela quando a cânula está no canal urinário (Figura 4). Segundo, quando a cânula é colocada dentro da papila urogenital, o caminho mais “natural” a se percorrer é o que leva ao canal urinário. Identifica-se que este foi acessado quando a entrada da cânula é limitada em aproximadamente 15 cm (distância entre a abertura do poro urogenital e a bexiga urinária). No entanto, quando a cânula acessa a cavidade celomática, não existe uma limitação de comprimento para sua inserção. É possível ainda sentir, por meio do tato, o momento em que a cânula encontra o ligamento, não havendo então mais resistência para adentrar a cavidade celomática do peixe.

Uma vez que o examinador consegue inserir a cânula na cavidade celomática, o arame deve ser então removido do interior da cânula, com o cuidado de mantê-la na cavidade celomática. Uma

seringa (50 mL) com o êmbolo totalmente pressionado deve então ser acoplada à cânula (Figura 6A), fazendo com que, ao puxar o êmbolo, seja gerada uma pressão negativa na cânula, o que permite a sucção dos ovócitos. Nesse momento, a cânula pode então ser levemente movimentada no interior do peixe, até que os ovócitos sejam observados externamente na cânula e/ou no interior da seringa (Figura 6B).

Por fim, o procedimento de sexagem por meio da canulação tem uma acurácia de 100% para as fêmeas, dada a visualização dos ovócitos inerentes ao procedimento, e de 78% para os machos, considerando um examinador sem experiência. À medida que o examinador realiza o procedimento com frequência, essa eficiência tende a aumentar. Isso se justifica pelo fato de que, por esse método, a identificação dos machos é indireta, pela não localização do septo.

Fotos: Adriana Ferreira Lima, (A,B)



Figura 6. Canulação em *Arapaima gigas*. (A) Seringa acoplada à cânula para permitir a sucção dos ovócitos. (B) Detalhe dos ovócitos (esverdeados) sendo succionados por meio da cânula inserida na cavidade celomática.

Caso o examinador não optar por avaliar o tamanho dos ovócitos no momento da coleta, estes devem ser removidos da cânula/seringa e fixados em solução de formaldeído (10%). Este procedimento fará com que os ovócitos percam sua coloração natural.

No QR Code abaixo o leitor pode acessar um vídeo demonstrando o procedimento de canulação:



O que o tamanho dos ovócitos nos fala sobre o estágio de maturação das fêmeas

O pirarucu é classificado como uma espécie que possui o desenvolvimento ovariano do tipo assincrônico (Godinho et al., 2005). Isso significa que as células germinativas se desenvolvem de forma não sincronizada e em um ovário são encontrados ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento. Isso explica a capacidade das fêmeas desovarem múltiplas vezes ao longo do período reprodutivo. Nesse processo, diferentes coortes (parcelas) de ovócitos maturam e são ovulados em momentos distintos. Para se ter uma ideia, existem relatos de casais de pirarucu que desovam até cinco vezes durante o período de reprodução (Núñez; Duponchelle, 2009; Núñez et al., 2011). Quando coletamos uma biópsia ovariana de pirarucu, estamos coletando uma amostra de ovócitos que geralmente estão em diferentes estágios de desenvolvimento, uns mais próximos de uma ovulação do que outros. Via de regra, conforme os ovócitos avançam no seu desenvolvimento, passando

pelos fases de crescimento secundário (vitelogênese I e II), maturação final e ovulação, existe um incremento no seu volume e mudanças na sua coloração (quando visto a olho nu e sem uso de fixadores que alteram a sua cor). A Tabela 2 mostra o tamanho do diâmetro dos ovócitos de pirarucu nos diferentes estágios e etapas de desenvolvimento. Do ponto de vista prático, é importante notar que o estágio de maturação final em *A. gigas* inicia-se quando os ovócitos possuem cerca de 1,3 mm. O tamanho do ovócito na fase de ovulação corresponde a aproximadamente 2,4 mm, aumento ocasionado pela hidratação dos ovócitos. Além disso, observa-se que, no pirarucu, os ovócitos em estágio de maturação final apresentam coloração esverdeada característica (Figura 7B). Portanto, são fêmeas com ovócitos majoritariamente com essas características (ovócitos esverdeados com diâmetro > 1,3 mm) que podem ser consideradas em fase de maturação final. A escolha dessas fêmeas para a composição de casais em viveiros escavados pode aumentar a probabilidade de obtenção de desovas, uma vez que estas possuem ovário em condição mais avançada de desenvolvimento.



Figura 7. (A) Ovócitos imaturos, com coloração esbranquiçada. (B) Ovócitos com coloração esverdeada, indicando que estão em maturação final.

Tabela 2. Variação no diâmetro (mínimo, máximo e médio; μm) nos diferentes estágios e etapas de desenvolvimento ovocitário, conforme proposta de classificação de Grier et al. (2009).

Estágio	Etapas	Diâmetro min-máx. (μm)	Diâmetro médio \pm SD (μm)
Crescimento Primário	Multi nuclear	32,2 - 113,1	72,0 \pm 17,3
	Perinucleolar	64,7 - 320,8	105,2 \pm 17,3
	Vesícula de óleo	354,5 - 599,0	473,4 \pm 82,1
	Alvéolos corticais	627,0 - 777,0	697,5 \pm 57,6
Crescimento Secundário	Inicial	783,5 - 916,5	892,6 \pm 46,5
	Final	1007,0 - 1111,5	1066,1 \pm 39,8
	Completamente crescidos	1139,5 - 1276,0	1214,9 \pm 52,99
Maturação Final (MF) e Ovulação	Migração da vesícula germinativa	1302,5 - 2354,0	192,3 \pm 275,6
	Ovulação	2394,0 - 2466,0	2427 \pm 21,4

Considerações finais

Esta publicação descreve com detalhes um método não invasivo para identificação sexual e determinação da condição reprodutiva no pirarucu. Esse método, amplamente utilizado em outras espé-

cies de peixes (tambaqui, surubins, dentre outros), é ainda incipiente para esta espécie e tem aplicação direta no setor produtivo, podendo auxiliar no processo de formação de casais visando a uma reprodução em cativeiro mais controlada. No campo da pesquisa, além da finalidade de sexagem, o método tem sido

utilizado com a finalidade de estudar o ritmo ovulatório de fêmeas da espécie, bem como para estudos com terapias hormonais, que dependem da identificação de fêmeas maduras aptas para a estimulação com hormônios sintéticos. Espera-se que, no futuro, a prática de canulação no pirarucu seja difundida no setor produtivo de forma a auxiliar na domesticação da espécie.

Agradecimentos

Essa pesquisa foi financiada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), via CNPq (nº 457465/2012-3) e pelo Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (Sebrae), via Fundação de Apoio Científico e Tecnológico do Tocantins (Fapto) (convênio 9/2012, processo nº 2538/2012) e pelo Programa de Pesquisa e Inovação Horizonte 2020 da União Europeia (contrato de subvenção nº 818173).

Refêrências

- ADOLFI, M. C.; DU, K.; KNEITZ, S.; CABAU, C.; ZAHM, M.; KLOPP, C.; FERON, R.; PAIXÃO, R.V.; VARELA, E.S.; ALMEIDA, F.L.; OLIVEIRA, M.A.; NÓBREGA, R.H.; LOPEZ-ROQUES, C.; IAMPETRO, C.; LLUCH, J.; KLOAS, W.; WUERTZ, S.; SCHAEFER, F.; STÖCK, M.; GUIGUEN, G.; SCHARTL, M. A duplicated copy of id2b is an unusual sex-determining candidate gene on the Y chromosome of arapaima (*Arapaima gigas*). **Scientific Reports**, v. 11, n. 21544, p. 1-15, 2021.
- CARREIRO, C. R. P.; FURTADO-NETO, M. A. A.; MESQUITA, P. E. C.; BEZERRA, T. A. Sex determination in the Giant fish of Amazon Basin, *Arapaima gigas* (Osteoglossiformes, Arapaimatiidae), using laparoscopy. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 3, p. 415-420, 2011.
- CASTELLO, L.; STEWART, D. J. Assessing CITES non-detriment findings procedures for *Arapaima* in Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, n. 1, p. 49-56, 2010.
- CHU-KOO, F.; DUGUE, R.; ALVAN AGUILAR, M.; CASANOVA DAZA, A.; ALCANTARA BOCANEGRA, F.; CHAVEZ VEINTEMILLA, C.; DUPONCHELLE, F.; RENNO, J.F.; TELLO, S.; NUNEZ, J. Gender determination in the Paiche or Pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 β -estradiol, and 11-ketotestosterone levels. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, n. 1, p. 125-136, Mar. 2009.
- DU, K.; WUERTZ, S.; ADOLFI, M. C.; KNEITZ, S.; STÖCK, M.; OLIVEIRA, M.; NÓBREGA, R.; ORMANN, J.; KLOAS, W.; FERON, R.; KLOPP, C.; PARRINELLO, H.; JOURNOT, L.; HE, S.; POSTLETHWAIT, J.; MEYER, A.; GUIGUEN, Y.; SCHARTL, M. The genome of the arapaima (*Arapaima gigas*) provides insights into gigantism, fast growth and chromosomal sex determination system. **Nature Scientific Reports**, v. 9, n. 5293, p. 1-12, 2019.
- GODINHO, H. P.; SANTOS, J. E.; FORMAGIO, P. S.; GUIMARÃES-CRUZ, R. J. Gonadal morphology and reproductive traits of the Amazonian fish *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Acta Zoologica**, v. 86, n.4, p. 289-294, 2005.

- GRIER, H. J.; ARANZÁBAL, M. C. U.; PATIÑO, R. The ovary, folliculogenesis, and oogenesis in teleosts. In: JAMIESON, B. G. M. (ed.). **Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Bony Fishes)**. Enfield, New Hampshire: Science Publishers, 2009. p. 24-85.
- LIMA, A. F.; RODRIGUES, A. P. O.; VARELA, E. S.; TORATI, L. S.; MACIEL, P. O. A produção do Pirarucu em cativeiro. **Aquaculture Brazil**, 2017.
- MARQUES, D. K.; VENERE, P. C.; GALETTI JÚNIOR., P. M. Chromosomal characterization of the bonytongue *Arapaima gigas* (Osteoglossiformes: Arapaimidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 4, n. 2, p. 215-218, 2006.
- NÚÑEZ, J.; CHU-KOO, F.; BERLAND, M.; ARÉVALO, L.; RIBEYRO, O.; DUPONCHELLE, F.; RENNO, J. Reproductive success and fry production of the paiche or pirarucu, *Arapaima gigas* (Schinz), in the region of Iquitos, Perú. **Aquaculture Research**, v. 42, n. 6, p. 815-822, 2011.
- NÚÑEZ, J.; DUPONCHELLE, F. Towards a universal scale to assess sexual maturation and related life history traits in oviparous teleost fishes. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, n. 1, p. 167-180, Mar 2009.
- SANTANA, T. M.; ELIAS, A. H.; FONSECA, F. A. L.; FREITAS, O. R.; KOJIMA, J. T.; GONÇALVES, L. U. Stocking density for arapaima larviculture. **Aquaculture**, v. 528, 735565, 2020.
- TORATI, L. S.; LIMA, A. F.; GANECO-KIRSCHNIK, L. N.; MIGAUD, H. Endoscopy and Cannulation as Non-Invasive Tools to Identify Sex and Monitor Reproductive Development in *Arapaima gigas*. **Copeia**, v. 107, n. 2, p. 287-296, 2019.
- TORATI, L. S.; VARGES, A. P. S.; GALVÃO, J. A. S.; MESQUITA, P. E. C.; MIGAUD, H. Endoscopy application in broodstock management of *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 32, n. 2, p. 353-355, 2016.

Embrapa Pesca e Aquicultura
Avenida NS 10, Loteamento Água Fria,
Palmas, TO. Caixa Postal n 90,
CEP 77008-900, Palmas, TO.
Fone: (63) 3229-7800
Fax: (63) 7800
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
Publicação Digital (2022): PDF

Embrapa

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Embrapa Pesca e Aquicultura

Presidente
Roberto Manolio Valladão Flores
Secretário-Executivo
Diego Neves de Sousa

Membros
*Alexandre Uhlmann, Clenio Araújo, Fabrício
Pereira Rezende, Hellen Christina de Almeida
Kato, Jefferson Christofolotti, Luciana Cristine
Vasques Vilela, Luiz Eduardo Lima de Freitas*

Supervisão editorial
Luciana Cristine Vasques Villela

Revisão de texto
Clenio Araújo

Normalização bibliográfica
Andrea Liliane Pereira da Silva (CRB-2/1166)

Tratamento das ilustrações
Jonathan Cleimes

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Jonathan Cleimes

Foto da capa
Adriana Ferreira Lima

CGPE 017765

Apoio:



AquaVítæ



Este documento reflete apenas as opiniões dos autores, e a comissão Europeia não pode ser responsabilizada por qualquer uso que possa ser feito das informações nele contidas.