

**Paulo Henrique de Mello**

**Alterações metabólicas ao longo da ontogenia das larvas de  
cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum* Siluriformes,  
Pimelodidae, Linnaeus, 1776)  
e do híbrido**

**São Paulo**

**2010**

**Paulo Henrique de Mello**

**Alterações metabólicas ao longo da ontogenia das larvas de  
cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum* Siluriforme,  
Pimelodidae, Linnaeus, 1776)  
e do híbrido**

**Dissertação apresentada ao  
Instituto de Biociências da  
Universidade de São Paulo para  
a obtenção do título de Mestre  
em Ciências, na área de  
Fisiologia.**

**Orientadora: Profa. Dra. Renata Guimarães Moreira**

**São Paulo**

**2010**

## Ficha Catalográfica

Mello, Paulo Henrique de

Alterações metabólicas ao longo da ontogenia das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*, Siluriformes, Pimelodidae, Linnaeus, 1776) e do híbrido. 208p.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Universidade de São Paulo.

1. *Pseudoplatystoma*; 2. Ontogenia; 3. Metabolismo; 4. Substratos Energéticos; 5. Enzimas; 6. Ácidos graxos;

I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Fisiologia.

### Comissão Julgadora

---

Prof. (a) Dr. (a)

---

Prof. (a) Dr. (a)

---

Profa. Dra. Renata Guimarães Moreira  
Orientadora

## **Agradecimentos**

*Antes de tudo agradecer a Deus, que me deu tudo que mais amo e mais prezo na vida, uma família maravilhosa, saúde, amigos e as pessoas que colocou em meu caminho, pois cada uma delas contribuiu de uma forma diferente em minha vida.*

*À Profa. Dra. Renata Guimarães Moreira, por toda a dedicação, confiança, orientação e amizade. Não tenho palavras para descrever tudo que você representa pra mim, deixo aqui toda gratidão, amizade, carinho, respeito e admiração, não só pela profissional que esteve disponível em todas as horas, mas pela pessoa que você é. Obrigado pela oportunidade de tanto crescimento durante esses anos. Fica aqui o meu Muito Obrigado! Espero poder um dia retribuir tudo que aprendi e que ainda vou aprender com você.*

*À minha família, pequena em número e enorme no amor, respeito e apoio, tão pequena e tão grande ao mesmo tempo, me ensinou todos os valores que tenho hoje. Ao homem mais íntegro e honesto do mundo, meu pai, pelo exemplo de integridade, humildade, respeito e honestidade. À minha mãe, a mulher mais maravilhosa do mundo em todos os sentidos, pelo exemplo de dedicação, doação, inteligência e família, saiba que toda sua dedicação e esforço valeram a pena. Ao meu irmão, meu melhor e maior amigo e que sempre esteve comigo em todas as horas. Agradeço por sempre me estimularem a continuar.*

*À Empresa Mar e Terra Indústria e Comércio de Pescados LTDA, pelo apoio financeiro, logístico, suporte técnico e pelos animais disponibilizados. Agradeço em especial ao Jorge Souza, Thiago Ushizima, Milton Vicensotto e Carlos Linares pela amizade, aprendizado e possibilidade de realização desse trabalho.*

*Aos meus “irmãos” do Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos do Instituto de Biociências da USP, Amanda, Bianca, Bruno, Kadu, Carol, Cristiele, Jajá, Jaboti, Larissa, Juliane Suzuki, Renato Honji, Tiago e Vanessa. Obrigado a todos por tudo, pelas conversas, ajuda nos experimentos, contribuição nos paredões e palavras de incentivo. Vocês*

*fizeram toda a diferença ao longo de todos esses anos, saibam que vocês moram no meu coração.*

*Ao Prof. Dr. Gilberto Moraes do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos, pela disponibilidade, amizade, conversas e tantos ensinamentos sempre com muito bom humor.*

*À Profa. Dra. Lícia Maria Lundstedt, da Universidade Federal de São Carlos, por toda dedicação, pela amizade, disponibilidade, e tanto ensinamento na condução dos experimentos enzimáticos. Muito obrigado por tudo!*

*Aos meus professores e colegas de graduação, em especial a Juliane Suzuki, sem a qual nada disso seria possível, a Tatyane Okazaki, Giuliano, Gabriel, Fernanda, Patrícia Cristalli, Rodrigo, Alexandre Peres, Daniel (Bandido) e Oscar Passamar.*

*A Dra. Rossana Venturieri, pelo exemplo de trabalho, conhecimento, atitude, determinação, amizade e principalmente pela oportunidade de trabalhar com você e aprender tanto sobre aquicultura.*

*À Profa. Dra. Maria Inês Borella do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, por disponibilizar o laboratório durante as análises histológicas.*

*Ao Tio Urias e Tia Regina, por serem minha segunda família durante tanto tempo, fica aqui minha gratidão por tudo que sempre fizeram por mim e pela minha família. Obrigado Amigão!*

*Aos técnicos e funcionários do Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências de Universidade de São Paulo pela ajuda durante todos esses anos.*

*Aos integrantes da república Fiote de Bordóque, que fizeram o período em São Carlos, mais fácil e divertido.*

*Aos funcionários da Mar e Terra, João Bosco, Possidônio, Lindomar, Flavinho, Jonatas, Batista, Zé e Jonny por tanto me ensinarem sobre larvicultura, reprodução e cultivo de pintado, além dos tererés, entre “outras atividades” em Bandeirantes.*

*À Adriana Maria Giorgi Barsotti, quem escolhi para estar sempre comigo, e que partilha comigo o prazer de exercer a mais bela de todas as profissões. Obrigado pelo auxílio nas análises histológicas, além da dedicação,*

*compreensão e sintonia durante tantos anos e principalmente nessa fase da nossa vida. Obrigado por estar sempre tão presente!*

*Aos meus eternos amigos Duardão, Tiaguinho, Xande, Robertinho, Thomaz, Alvinho, André, Fabinho, Kaká, Heli, Ademir, Zé mandioca, João Gimenes (Fera), saibam que fizeram com que todo esse tempo fosse mais fácil e divertido. Ao grande amigo Marcelo Fortes Junqueira que mesmo longe, esteve sempre muito perto. Obrigado a todos, vocês moram no meu coração!*

*Aos meus “primos irmãos”: Flaviano, Sérgio, Felipe, Maurício e Alvinho. Obrigado jovens!*

*À todos meus tios, tias, avôs, avós, que estão aqui e aos que não estão mais. Obrigado por sempre estarem comigo me apoiando!*

*À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida, durante a execução do projeto.*

*A todos que contribuíram diretamente ou indiretamente da minha vida para a realização desse trabalho, a minha mais sincera gratidão.*

*Muito Obrigado!*

## Índice

<b>Lista de Abreviações</b>	<b>i</b>
<b>Resumo</b>	<b>iv</b>
<b>Abstract</b>	<b>vi</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>1</b>
1.1. Espécie-Modelo – Cachara ( <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> Linnaeus 1766 Pimelodidae, Siluriformes) e híbrido ( <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> x <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> )	<b>7</b>
<b>2. Objetivos</b>	<b>13</b>
2.1. Objetivo Geral	<b>13</b>
2.2. Objetivos Específicos	<b>13</b>
<b>3. Materiais e Métodos</b>	<b>14</b>
3.1. Delineamento Experimental	<b>14</b>
3.2. Coletas das Amostras	<b>22</b>
3.3. Análises Bioquímicas	<b>38</b>
3.3.1. Proteínas Totais	<b>38</b>
3.3.2. Lipídeos Totais	<b>38</b>
3.3.3. Perfil de ácidos graxos	<b>38</b>
3.4. Análises enzimáticas	<b>39</b>
3.5. Análises histológicas	<b>40</b>
3.6. Análises dos resultados – Análises estatísticas	<b>41</b>
<b>4. Resultados</b>	<b>42</b>
4.1.1. Morfologia do trato digestório	<b>42</b>
4.1.2. Boca	<b>42</b>
4.1.3. Vitelo e Saco vitelínico	<b>43</b>
4.1.4. Esôfago	<b>43</b>
4.1.5. Estômago	<b>43</b>
4.1.6. Bolsa Intestinal e Intestino	<b>43</b>
4.2. Análises Metabólicas	<b>44</b>
4.2.1. Proteínas Totais	<b>44</b>

4.2.2. Lipídeos Totais	46
4.3. Perfil de Ácidos Graxos	47
4.3.1. Fração Neutra	47
4.3.2. Fração Polar	50
4.4. Enzimas Digestórias	53
4.4.1. Protease Inespecífica	54
4.4.2. Tripsina	56
4.4.3. Quimiotripsina	57
<b>5. Discussão</b>	<b>128</b>
5.1. Análises Morfológicas	129
5.2. Análises Metabólicas	134
5.3. Perfil de Ácidos Graxos	140
5.4. Enzimas Digestórias	153
<b>6. Conclusões e Considerações finais</b>	<b>165</b>
<b>7. Referências Bibliográficas</b>	<b>170</b>
<b>8. Tabelas</b>	<b>187</b>



## Lista de Abreviações

- AA - Aminoácido  
AB – Arcos branquiais  
AG – Ácido Graxo  
AL – Alimento  
ARA – Ácido araquidônico  
BI – Bolsa Intestinal  
BTEE – N-Benzoyl-L-tyrosine ethyl ester  
C – Córion  
CaCl<sub>2</sub> – Cloreto de Cálcio  
Cc – Células calciformes  
cm – Células mucosas  
CO – Cavidade opercular  
DAE – Dias após a eclosão  
DAF – Dias após a fertilização  
DHA – Ácido docosahexanóico  
EF – Esôfago  
EM – Encéfalo  
EP – Erro Padrão  
EPA – Ácido eicosapentanóico  
ET – Estômago  
FG – Fígado  
FID – Ionizador de chama  
FL – Fosfolipídio  
FM – Fibras musculares  
g – Gramas  
GC – Cromatógrafo gasoso  
GL – Gotas de lipídeos  
Gn – Camada Granulosa  
H/E – Hematoxilina e Eosina  
H<sub>2</sub>O – Água  
HAF – Horas após a fertilização  
HCl – Ácido clorídrico

HUFA – Ácido graxo altamente insaturado  
IN – Intestino  
INP – Intestino Proximal  
LI – Lúmen Intestinal  
M – Molar  
mg – Miligramas  
min – Minutos  
ml – Mililitro  
mm – Milímetros  
mM - Milimolar  
mol – Molaridade  
mU – Miliunidades  
MUFA – Ácido graxo monoinsaturado  
N<sub>2</sub> – Nitrogênio  
n3 – Ômega 3  
n6 – Ômega 6  
nm – Nanômetros  
nmol – Nanomols  
NT – Notocorda  
°C – Graus Celsius  
PA – Pólo animal  
PAS – Ácido periódico de Schiff  
pH – Potencial Hidrogeniônico  
Prot – Proteína  
PUFA – Ácido graxo poliinsaturado  
PV – Espaço Perivitelínico  
R – Rim  
rpm – Rotações por minuto  
SV – Saco Vitelínico  
TAME –  $\alpha$ -p- Toluenesulphonyl-L-arginine methyl ester hydrochloryde  
TCA – Ácido tricloroacético  
TG - Triglicerídeos  
Tris - tris(hidroximetil)aminometano  
U – Unidades por minuto

V – Vitelo

v:v – Volume:volume

μm – Micrômetros

## Resumo

O ciclo de vida de muitos organismos inclui um estágio larval de desenvolvimento que é morfologicamente distinto do adulto. Durante o período embrionário e larval os processos dominantes mais importantes são: crescimento, diferenciação de tecidos e/ou alterações fisiológicas, acompanhadas de mudanças nas exigências nutricionais, e mobilização de recursos energéticos e estruturais, que desencadeiam as alterações que normalmente são observadas durante a ontogenia. Os substratos energéticos como os lipídeos e proteínas são fundamentais durante o processo reprodutivo dos peixes tanto energeticamente quanto estruturalmente, sendo imprescindíveis para o desenvolvimento do ovo e conseqüentemente do sucesso das larvas. O cachara é uma das espécies de teleosteo de água doce mais importante do Brasil, em razão da qualidade da sua carne, porte avantajado, além da importância histórica da pesca nas regiões onde ocorre, e os híbridos de cachara com pintado vêm sendo cada vez mais cultivados nas pisciculturas brasileiras. Estudos ontogenéticos com ênfase na fisiologia e na morfologia das larvas de peixes são muito incipientes e se tornam ainda mais escassos nas espécies tropicais. Desta forma, o presente trabalho visou investigar as alterações morfofisiológicas ao longo da ontogenia de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). As coletas foram realizadas no período de Janeiro/2008 à Fevereiro/2008 no município de Bandeirantes-MS e foram divididas em quatro fases principais. A abertura da boca foi observada com 3 DAF (dias após a fertilização), o saco vitelínico foi verificado do 1º ao 5º DAF, o esôfago e o intestino foram observados aos 3 DAF e por fim o estômago aos 4 DAF. Morfologicamente, cacharas e híbridos apresentaram desenvolvimento muito similar entre si e aos demais teleosteos. A concentração de proteínas totais das larvas mostrou alta homogeneidade ao longo da ontogenia, sendo a musculatura o principal órgão de deposição deste substrato, seguida pelo fígado. A concentração de lipídeos totais das larvas também foi muito similar entre cacharas e híbridos sugerindo alta homogeneidade, sendo o encéfalo o órgão de maior deposição deste substrato, seguido pela musculatura e fígado. Apesar desta homogeneidade na

concentração de lipídeos e proteínas, observa-se um consumo mais elevado de proteína nas larvas de cachara até 16 HAF (horas após a fertilização) e de lipídeos entre a fase de oócito e 40 HAF, quando comparadas às larvas dos híbridos. A análise do perfil de ácidos graxos sugere que as larvas de cachara utilizaram preferencialmente os ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs) para a eclosão, enquanto as larvas híbridas utilizaram ácidos graxos saturados (SFA). A atividade proteolítica ácida somente foi verificada a partir do 10<sup>o</sup> DAF e por outro lado, a atividade da protease inespecífica básica e das proteases específicas (tripsina e quimiotripsina) foram verificadas ainda na fase de oócito, permanecendo ativa durante a ontogênese. Essa relação indicou uma compensação à baixa atividade das proteases ácidas, indicando possivelmente que os animais são capazes de digerir proteínas já após a abertura da boca. As larvas de híbridos apresentam maiores atividades de proteases inespecíficas (básicas) do que as larvas de cachara no período de 15 a 25 DAF, sugerindo uma maior atividade proteolítica. As larvas de ambos os grupos apresentaram alto grau de similaridade, quando morfológica e fisiologicamente comparadas, sugerindo que as larvas híbridas expressaram herdabilidade da matriz. No entanto, algumas alterações pontuais evidenciam que os padrões de utilização dos substratos energéticos assim como as alterações da atividade das proteases, podem auxiliar a elucidação das diferenças empíricas relatadas por piscicultores, nas quais os híbridos apresentam melhor desempenho que os cacharas.

## Abstract

The life cycle of many organisms includes a larval stage of development that is morphologically distinct from adults. During the embryonic and larval period the main processes are: growth, tissue differentiation and/or physiological alteration followed by changes in nutritional requirements, and mobilization of energetic and structural resources, which trigger these alterations that are commonly observed during the ontogeny. The energetic substrates such as lipids and proteins are essential during the reproductive process of fish both energetically and structurally, and thus become essential for the egg development and consequently, the success of the larvae. Cachara is one of the most important teleost freshwater species in Brazil, because of the quality of their meat, great height, besides the historical importance of fisheries in the region where it occurs, and the hybrid of cachara and pintado has been increasingly reared in fish farms in Brazil. Ontogenetic studies with emphasis on physiology and morphology of fish larvae are very incipient and become even scarcer in tropical fish species. Thus, this study aimed to investigate the morphophysiological changes during the ontogeny of the cachara larvae (*Pseudoplatystoma reticulatum*) and the hybrid (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). Samplings were conducted from January/2008 to February/2008 in the city of Bandeirantes-MS and they were divided into four main phases. The mouth opening was observed at 3 DAF (days after fertilization), the yolk sac was observed from 1 to 5 of DAF, the esophagus and the intestine were observed at 3 DAF and finally the stomach at 4 DAF. Morphologically, cacharas and hybrids showed similar development comparing each other and with other teleosts. The total protein concentration of larvae showed high homogeneity during ontogeny, and the musculature was the main body deposition substrate, followed by the liver. The concentration of total lipids of the larvae were very similar suggesting high homogeneity, being the brain the largest organ of lipids deposition, followed by the muscle and the liver. Despite this homogeneity in lipids and proteins concentration, there was a more elevated consume of proteins in cachara larvae until 16 HAF (hours after hatching) and of lipids between the oocyte phase and 40 HAF, when compared with hybrid larvae. The

analysis of fatty acid profiles suggests that the larvae of cachara used preferentially monounsaturated fatty acids (MUFAs) to hatch, whereas hybrid larvae used saturated fatty acids (SFA). The acid protease activity was detected only from the 10th DAF. Moreover, the nonspecific basic protease activity and the specific proteases (trypsin and chymotrypsin) activity were observed at the stage of oocyte and remain active during ontogenesis. This relationship indicated a compensation for the low activity of acidic proteases, possibly indicating that animals are able to digest proteins just after opening the mouth. The larvae of hybrids have higher activities of nonspecific proteases (basic) than cachara larvae during 15-25 DAF, suggesting an increased proteolytic activity. The larvae of both groups showed a high degree of similarity when morphologically and physiologically compared, suggesting that the hybrid larvae expressed heritability of the broodstock. However, some specific changes show that the patterns of utilization of energetic substrates and the alteration in protease activity may help to elucidate the empirical differences reported by fish farmers, in which the hybrids perform better than cacharas.

## 1. Introdução

O ciclo de vida de muitos organismos inclui um estágio larval de desenvolvimento que é morfologicamente distinto do adulto, ou ainda, as larvas podem habitar um ambiente diferente daquele em que vive o adulto. Tais espécies apresentam desenvolvimento indireto; as larvas sofrem metamorfose, se transformam em, ou são substituídas, pelos adultos (Hall & Wake, 1999). Em muitas espécies o desenvolvimento larval e a biologia da larva são pontos ainda não explorados e, em alguns casos sequer foram descritos (Leis, 1989, 1991).

Desde a fase de embrião (ovo fertilizado) até a fase adulta, os peixes teleosteos passam por uma sequência de fases durante o desenvolvimento, e para alguns autores, passam por um período, no qual, a larva se diferencia (metamorfose) até chegar ao plano adulto. A metamorfose em peixes requer uma série de complexas transformações comportamentais, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, além de apresentar um elevado custo energético para o seu desenvolvimento, completando assim, seu desenvolvimento para seu fenótipo definitivo (Balon, 1986).

A duração destes processos de metamorfose é espécie-específica e podem durar desde poucos dias até vários meses, dependendo dos fatores ambientais, como: temperatura, pH, luminosidade, oxigênio dissolvido e disponibilidade de alimento (Youson, 1988).

Durante o período embrionário e larval os processos dominantes mais importantes são: crescimento, diferenciação de tecidos e/ou alterações fisiológicas (Fuiman, 1997), acompanhadas de mudanças nas exigências nutricionais (Bromage, 1995), e mobilização de recursos energéticos e estruturais, que desencadeiam as alterações que normalmente são observadas durante a ontogenia. Para se entender melhor esse processo que ocorre desde a fertilização até o completo desenvolvimento do ovo, do embrião, e da larva, muitos trabalhos têm focado os estudos nos recursos bioquímicos e os processos envolvidos, bem como a composição das larvas, durante essa fase tão complexa da vida dos animais (Chu & Ozkizilcik, 1995).

Durante o estágio larval a taxa de crescimento é muito alta e, o crescimento está principalmente relacionado à deposição de proteínas no



músculo (Conceição *et al.*, 1998). Um alto fluxo de aminoácidos é exigido do alimento para crescimento da biomassa (Ronnestad *et al.*, 2003), uma vez que os peixes metabolizam preferencialmente proteínas e aminoácidos como fonte primária de energia (Zhu, *et al.*, 1998), diferente dos mamíferos que utilizam carboidratos como principal substrato energético.

Kamler (2008) descreve o processo de formação do ovo, inicialmente, com a incorporação da vitelogenina que é uma molécula fosfolipoproteica, sendo esta, sintetizada nos hepatócitos, transportada via corrente sanguínea até sua incorporação pelos oócitos. Jalabert (2005), também afirma que durante o processo reprodutivo e a maturação sexual dos vertebrados, a vitelogenina é incorporada nos oócitos, e será a proteína responsável pelo substrato mais abundante no vitelo e conseqüentemente nos ovos e nas larvas (Hemming & Buddington, 1988). Cerca de 79% do vitelo é composto por proteínas e 19% é composto por lipídeos (Jalabert, 2005). Todo aporte protéico será utilizado de duas principais formas: fornecendo energia metabólica, e fornecendo substrato estrutural durante essa fase de intensas transformações morfofisiológicas (Hemming & Buddington, 1988).

Assim como as proteínas, os lipídeos têm um papel central na taxa de crescimento e no desenvolvimento dos ovos e das larvas de peixes, sendo este a principal fonte de energia metabólica ao longo dos estágios de desenvolvimento (Rainuzzo *et al.*, 1997). Os lipídeos armazenados nos ovos fornecem uma grande quantidade de energia (ácidos graxos saturados e monoinsaturados) e ácidos graxos polinsaturados para a síntese de membranas e outros componentes, até que a alimentação exógena se estabeleça (Ozkizilcik *et al.*, 1996).

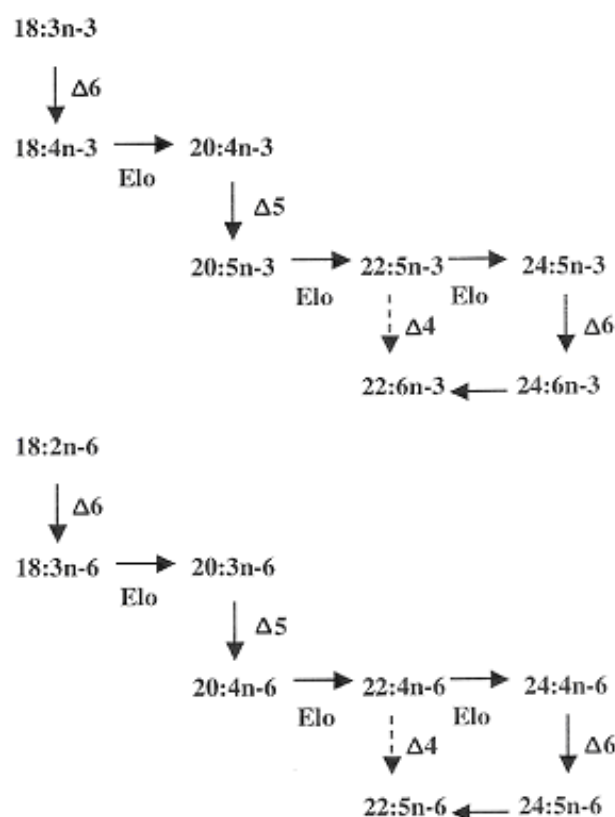
Os lipídeos, além de atuarem como fonte de energia, como os ácidos graxos dos triacilgliceróis, que são catabolizados para prover energia metabólica para o desenvolvimento do ovo e da larva (Bromage, 1995), ainda atuam como fonte de ácidos graxos essenciais, ou, como transportadores de certos nutrientes não lipídicos e de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K)(Sargent, 1995).

Os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA – Highly unsaturated fatty acids) como o ácido docosahexanóico (DHA C22:6n3), ácido eicosapentanóico (EPA C20:5n3) e ácido araquidônico (ARA C20:4n6)

constituem a maioria dos componentes estruturais durante a organogênese, como as membranas das células (musculares, cerebrais e retina) e são precursores da atividade fisiológica de moléculas como os eicosanóides (Abi-Ayad *et al.*, 2004). Os principais ácidos graxos (AG) componentes da bicamada lipídica das membranas celulares são o C16:0, C18:1n9, C20:5n3 e o C22:6n3, conferindo à membrana sua fluidez (Sargent *et al.*, 2002).

Além de atuarem nas bicamadas lipídicas, alguns ainda possuem outras atividades mais específicas como o C20:4n6 que atua como precursor dos eicosanóides, que são moléculas com ação parácrina, atuando na síntese das prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos, que irão por sua vez atuar em diversas funções como, coagulação sanguínea, respostas imunes, funções neurais, respostas inflamatórias, funções renais, etc. (Sargent *et al.*, 2002). Outro AG muito importante é o C22:6n3 (DHA) que possui funções extremamente importantes na formação dos tecidos neurais e retina, sendo este, um dos AG mais abundantes nos ovos e larvas de peixes (Sargent *et al.*, 2002).

As larvas de peixes de água doce possuem a habilidade de converter os ácidos graxos de cadeias mais curtas como os de cadeia de 18 carbonos (C18) como o linoléico (C18:2n6) em AG de cadeia longa como os AG C22 e C24, através da alongação e desaturação das cadeias carbônicas, característica essa não observada com tanta frequência para os peixes de água salgada (Sargent *et al.*, 2002). Os peixes dulciaquícolas contêm em seu tecido hepático as enzimas desaturases  $\Delta 4$ ,  $\Delta 5$  e  $\Delta 6$ , e o funcionamento dessas 3 enzimas, em conjunto com as enzimas de alongação permite a formação de DHA a partir de C18:3n-3 fornecido na dieta. Da mesma forma, a atuação desse sistema de enzimas resulta na formação de ARA, a partir do precursor C18:3n6, fornecido na dieta (Henderson & Tocher, 1987). Assim como o ARA, o DHA e o EPA, também estão presentes em maior quantidade nos fosfolipídeos, evidenciando a principal função estrutural desses ácidos graxos nos ovos em desenvolvimento.



**Esquema 1.** Vias da síntese de HUFA a partir de ácidos graxos essenciais com C<sub>18</sub> da família n<sub>3</sub> (figura superior) e n<sub>6</sub> (figura inferior). As setas na vertical indicam dessaturases e na horizontal elongases e “shortening”. (Fonte: Zheng *et al.*, 2004).

O perfil dos PUFAs do ovo pode ser afetado pela composição da vitelogenina que está intimamente associada à dieta materna e à vitelogênese, que serão determinantes durante a fase de alimentação endógena das larvas, além de também dependerem de fatores metabólicos, os quais diferem entre as espécies (Speake *et al.*, 2002). Segundo Hemming & Buddington (1988), as alterações metabólicas, como a composição química do embrião, ovo e da larva, podem indicar as futuras necessidades nutricionais que essas larvas vão requerer durante sua vida e ao longo do seu desenvolvimento.

Os lipídeos e as proteínas são extremamente importantes para fornecimento de energia metabólica e estrutural e, conforme dito anteriormente, os lipídeos constituem a principal fonte de energia metabólica devido a sua grande capacidade de armazenar energia. Os lipídeos são provenientes de três

principais fontes: dieta, quando passam pelos processos digestivos e bioquímicos para futura absorção e metabolismo celular através da  $\beta$ -oxidação mitocondrial; fontes endógenas, quando são processados no fígado e transportados pelo sangue, e os lipídeos provenientes dos diferentes locais de armazenamento (Sheridan, 1994 & Sargent, *et al.*, 2002).

Para se entender melhor os processos nutricionais das larvas, além de se conhecer os processos bioquímicos supracitados, é preciso um conhecimento específico sobre suas enzimas digestivas e como elas atuam ao longo do processo ontogenético. De uma forma geral os padrões das enzimas digestivas refletem o hábito alimentar dos animais (herbívoro, onívoro, detritívoro e carnívoro) e reflete sua capacidade digestiva (Smith, 1980), sendo assim a partir do perfil das enzimas digestivas é possível fazer um prognóstico sobre a habilidade das espécies em usar os diferentes nutrientes.

O uso dos nutrientes na dieta reflete na concentração de substratos de muitos compartimentos corporais, o que pode alterar o perfil metabólico da larva, e com isso, pode-se usar informações sobre o metabolismo dos animais como ferramenta viável para analisar a relação entre os processos bioquímicos digestivos e os seus efeitos nos organismos (Lundstedt, 2003).

Ao final da reabsorção do saco vitelínico as larvas de peixes devem estar aptas a procurar e assimilar os alimentos, (Chakrabarti *et al.*, 2006), embora, nas primeiras alimentações o trato digestório da maioria das espécies de peixes ainda não seja completamente funcional, mas já contém enzimas relacionadas ao metabolismo (digestão, absorção e assimilação) de moléculas como proteínas, lipídeos, embora a atividade enzimática seja relativamente baixa em comparação com os adultos (Kolkovski, 2001).

Alguns autores afirmam que esta baixa atividade enzimática pode ser suprida através de alimentos vivos consumidos pelas larvas (Dabrowski, 1984; Kolkovski, 2001), como tem sido sugerido em diversos trabalhos, nos quais os animais ingeridos pelas larvas, contidos no zooplâncton (copépodes, cladóceros, rotíferos), auxiliam sua própria digestão “doando” suas enzimas digestivas sofrendo então autólise, e em alguns casos, zimogênese, na qual o animal ingerido induz o aumento da produção de tripsina, processo esse que ocorre em algumas espécies de peixes (Kolkovski, 2001). Alguns outros autores contradizem esta afirmação como Kurokawa *et al.*, (1998), Cahu &

Zambonino-Infante (1995) que afirmam que as enzimas provenientes do alimento vivo, não são representativas no processo digestório das larvas de peixes, deixando esse curioso processo ainda incompreendido.

Estudos relacionados às enzimas digestivas enfatizando os mecanismos, e o melhor uso dos nutrientes são essencialmente importantes para aperfeiçoar os processos alimentares das larvas de peixes (Suárez *et al.*, 1995). Com isso, são necessários estudos relacionados às atividades enzimáticas do sistema digestório de larvas e juvenis (Kolkovski, 2001), uma vez que o sistema digestório das larvas é morfológicamente e fisiologicamente diferente dos adultos (Ozkizilcik *et al.*, 1996), que são o foco da maioria dos trabalhos.

Além dos estudos metabólicos supracitados, estudos relacionados a morfologia digestória das larvas de peixes ainda são muito incipientes, e se tornam mais escassos ainda quando tratamos das espécies tropicais. Durante essa fase ocorrem intensas alterações morfológicas, como mudanças nos tecidos, órgãos e sistemas (Sanchez-Amaya *et al.*, 2007). As informações acerca do surgimento das principais estruturas através de estudos histológicos fornecem importantes informações para se entender os processos digestórios das larvas de peixes (Yang *et al.*, 2010).

Adicionalmente, o conhecimento do surgimento dos principais órgãos digestórios, bem como, o conhecimento de suas características morfofuncionais são imprescindíveis para elaboração de protocolos alimentares específicos para esta fase da vida dos animais. Ademais, diversos estudos têm sido elaborados para obtenção de um crescimento ótimo das larvas de peixes em cativeiro (Segner *et al.*, 1993; Yúfera *et al.*, 2000; Zambonino-Infante & Cahu, 2001).

Sabendo-se que o conhecimento de tais exigências nutricionais é escasso nas larvas de espécies de peixes tropicais, o presente projeto analisou parte da mobilização de tais recursos energéticos e estruturais, que estão diretamente associados às necessidades nutricionais ao longo do processo ontogenético das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*, Linnaeus 1766), e do híbrido com *Pseudoplatystoma corruscans*, com a finalidade de se entender tais necessidades, conhecendo melhor as exigências nutricionais dos

cacharas e dos híbridos, visto que nesta fase a taxa de sobrevivência desses animais é extremamente baixa (Baldisserotto & Gomes, 2005).

### **1.1. Espécie modelo – Cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum* Linnaeus 1766 Pimelodidae, Siluriformes) e híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*)**

As espécies utilizadas para o presente trabalho e para a obtenção do híbrido, eleitas para o presente projeto, pertencem a Família Pimelodidae, que, compreende mais de 300 espécies, distribuídas por cerca de 50 a 60 gêneros, apresentando ampla distribuição geográfica pelo continente americano (Reis *et al.*, 2004). A família Pimelodidae pertence à Ordem Siluriformes que são os chamados peixes de couro, que têm por principal característica, ausência de escamas pelo corpo, com pele espessa ou coberto, parcial ou totalmente, com placas ósseas (Burgess, 1989).

O gênero *Pseudoplatystoma* possui 3 espécies: *P. corruscans* (Spix & Agassiz, 1829) espécie nativa das Bacias dos rios São Francisco e Paraná, onde é conhecida popularmente por pintado ou surubim, *P. reticulatum* (Linnaeus 1766) espécie distribuída pelas Bacias dos rios Amazonas e Paraná, popularmente conhecida por cachara e o *P. tigrinum* (Valenciennes 1840), com distribuição pelas Bacias dos rios Amazonas, popularmente conhecida por pirambucu ou surubim (Baldisserotto & Gomes, 2005). A distribuição do gênero *Pseudoplatystoma* é extremamente ampla e inclui as maiores bacias neotropicais da América do Sul, como, Paraná, Amazônica, Orinoco, São Francisco, Magdalena, Rupununi, Essequibo e Suriname. Os principais habitats incluem os rios mais largos, lagos, canais, florestas e planícies alagadas, etc (Reid, 1983; Burgess, 1989).

Há muito tempo considera-se apenas a existência de 3 espécies no gênero *Pseudoplatystoma*, porém Buitrago-Suarez & Burr (2007), aplicaram uma nova classificação para o gênero. Os autores afirmam que a diversidade do gênero é subestimada e que a classificação e sistemática é muito pouco conhecida. Os autores relatam que parte desse desconhecimento se deve a sua variação geográfica de morfologia, coloração e pela ausência de estudos com dados diagnósticos dos táxons que delimitem fronteiras entre as diferentes

espécies e populações (Buitrago-Suarez & Burr, 2007). Além disso, não são encontrados trabalhos ou revisões taxonômicas que cheguem a um consenso do número de espécies do gênero que defina o número exato de espécies pertencentes ao gênero. Um exemplo clássico é a utilização da espécie cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) para definir todas as populações que possuam listras e se encontram nas maiores bacias neotropicais, mesmo sabendo que todas essas populações diferem em sua morfologia, pigmentação e anatomia (Buitrago-Suarez & Burr, 2007).

Buitrago-Suarez & Burr (2007) sugerem que a larga distribuição das espécies do gênero *Pseudoplatystoma*, aliado ao isolamento de algumas bacias principais da América do Sul levaram as populações a uma possível diversidade críptica, embora exista alta homogeneidade morfológica entre estas. Sabe-se também que inúmeros processos geomorfológicos transformaram as principais bacias Sulamericanas durante o Mioceno e o Plioceno possibilitando a ocorrência de vicariância, porém possibilitando um segundo contato entre os grupos através das cabeceiras dos rios que permitiu uma compreensão dos padrões dos caracteres morfológicos e anatômicos do gênero *Pseudoplatystoma* (Buitrago-Suarez & Burr, 2007).

A nova divisão do gênero *Pseudoplatystoma* totaliza 8 espécies utilizando caracteres morfológicos segundo Buitrago-Suarez & Burr (2007) e classificam *P. punctifer* e *P. tigrinum* como simpátricas da Bacia Amazônica, *P. metaense* e *P. orinocense* simpátricas da Bacia do rio Orinoco, *P. corruscans* e *P. reticulatum* parcialmente simpátricas da bacia do rio Paraná, e por fim o *P. magadalenium* restrita a bacia do rio Magdalena e o *P. fasciatum*, ao rio da Guiana.

O problema em se identificar espécies irmãs ou crípticas com caracteres morfológicos é que esses podem esconder o conhecimento dos processos evolutivos e ecológicos gerando consequências negativas como; a subestimação da riqueza do gênero, a superestimação da potencial dispersão, falhas na interpretação dos dados e processos ecológicos e paleoecológicos (Rocha-Olivares *et al.*, 2001). Na tentativa de suportar esta nova classificação Torrico *et al.*, (2009) utilizaram caracteres moleculares e filogenéticos para confirmar a classificação do gênero *Pseudoplatystoma* proposta por Buitrago-Suarez & Burr, (2007). As análises moleculares apresentaram alguns

resultados similares às análises morfológicas de Buitrago-Suarez & Burr (2007). Torrico *et al.*, (2009) afirmam que após as análises moleculares muitos dados coincidem com as modificações geológicas que deram origem a estas bacias, onde hoje ocorrem as diferentes espécies que permanecem divididas em três grandes grupos geográficos do gênero *Pseudoplatystoma*: Magdalena, Paraná e Amazônia, e estes dados se encaixam perfeitamente com as datas de surgimento dessas bacias durante o Mioceno há mais ou menos entre 11,8 e 10 milhões de anos atrás (Hoorn *et al.*, 1995). Além disso, alguns autores evidenciam que a diferenciação do *P. corruscans* é consistente com a divisão das bacias do Paraná-Paraguai da Amazônia que ocorreu no baixo Mioceno, e também é indício de vicariância das espécies do Orinoco (*P. orinocoense* & *P. metaense*) há cerca de 8 milhões de anos atrás. Há cerca de 15 a 5 milhões de anos atrás uma seqüência de incursões marinhas ocorreram, e estes eventos podem ter promovido especiação alopátrica na regiões mais elevadas como Brasil e Guiana e os Andes. Este evento vicariante pode ter dado origem às diferenciações do *P. tigrinum* e suas linhagens irmãs (*P. fasciatum*, *P. punctifer*, *P. reticulatum*), pois, os dados de sua distribuição e idade são complementares a este cenário. Alguns autores relatam que a ampla distribuição da espécie *P. reticulatum* que ocorre tanto na bacia amazônica quanto na bacia do Paraná, se explica devido aos eventos de conexões entre as bacias através das cabeceiras dos rios e rotas de dispersão que comunicam as bacias Guianas, Orinoco, Amazônica e Paraná (Montoya-Burgos, 2003; Hubert & Renno, 2006; Hubert *et al.*, 2009), fato esse comprovado para outras espécies de peixes (Hubert *et al.*, 2009).

Conectando os caracteres morfológicos, moleculares e os principais eventos geológicos, podemos afirmar que as espécies utilizadas para obtenção do híbrido são espécies diferentes e vão contra ao conceito biológico de espécie proposto por Theodosius Dobzhansky e Ernst Mayr que afirma que as espécies são grupos de populações naturais que se inter cruzando, estão reprodutivamente isolados de outros grupos, portanto, os animais híbridos embora obtidos a partir de espécies diferentes originam descendentes férteis. Contudo, segundo Senhorini (*comunicação pessoal*) os híbridos só apresentam fertilidade até a 4<sup>a</sup> geração, sendo a partir deste ponto indivíduos estéreis.



As espécies utilizadas no presente trabalho são de acordo com a classificação de Buitrago-Suarez & Burr (2007) chamada de cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* e pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*.

Os animais escolhidos para o presente projeto, bem como as matrizes escolhidas para a reprodução do híbrido são pertencentes à seguinte classificação taxonômica, segundo Pinna (1996):

Super classe: Pisces

Classe: Osteichthyies

Subclasse: Actinopterygii

Ordem: Siluriformes

Subordem: Siluroidae

Família: Pimelodidae

Gênero: *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1862)

Espécie: *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829)

Espécie: *Pseudoplatystoma reticulatum* (Linnaeus, 1766)

Todas as espécies do gênero *Pseudoplatystoma* são reofilicas, realizando migrações reprodutivas ao longo dos rios que culminam no processo de desova. Porém, a desova não ocorre espontaneamente em condições de cativeiro e a reprodução deve ser induzida com hormônios exógenos (Rezende *et al.*, 1995).

O pintado e o cachara são duas das espécies de água doce mais importante do Brasil, em razão da qualidade da sua carne, porte avantajado, além da importância histórica da pesca nas regiões onde ocorre (Miranda & Ribeiro, 1997). Todo este recurso é explorado intensamente pela pesca extrativista, levando diversas espécies de peixes com interesse comercial a sobreexploração. Uma alternativa a esta intensa atividade exploratória é a produção desses organismos por meio do cultivo em cativeiro, atividade essa conhecida por piscicultura. Os animais do gênero *Pseudoplatystoma*, por apresentarem características excelentes para o cultivo, conforme dito anteriormente, possuem bom potencial para a piscicultura.

Contudo, estas espécies apresentam problemas durante o cultivo, como: difícil manejo alimentar, altos índices de canibalismo, bem como, pouco

conhecimento na biologia inicial e parâmetros morfofisiológicos durante as fases iniciais de vida (Kubitza, 1995). O desenvolvimento inicial e o regime alimentar nos primeiros dias de vida das larvas de peixes são críticos para a produção de alevinos (Pinto & Castagnoli, 1984). Segundo Geiger (1983) e Gêiser *et al.*, (1985) a larvicultura das espécies de peixes com potencial para a aquicultura constituem um dos principais obstáculos ao desenvolvimento da atividade, sendo a alimentação das larvas considerada um dos principais fatores críticos para sobrevivência e crescimento das mesmas.

Os produtores brasileiros têm realizado muitos cruzamentos interespecíficos, conhecidos por hibridização interespecífica, com a finalidade de obter indivíduos com características comuns de ambas as espécies, como por exemplo, maior crescimento (menor tempo de engorda), resistência (temperatura, patógenos, etc), coloração, fácil manejo, obter populações monosexo, resistência a temperaturas, etc. Esses híbridos vêm sendo cultivados em pisciculturas no lugar das espécies puras. Crepaldi *et al.*, (2008) relata que a produção desses híbridos se deve a seu comportamento mais dócil, de fácil manejo, bem como aprendizado mais rápido durante o treinamento alimentar e taxa de crescimento mais elevada. Carvalho *et al.*, (2008) afirma que no Brasil esses híbridos são cultivados e que estes animais já estão sendo encontrados na natureza, como no rio Paraná, e atribui a ocorrência destes animais no ambiente natural a escapes de pisciculturas. Além disso, o autor relata a preocupação sobre o impacto que os híbridos possam causar nas populações naturais, havendo possibilidade de contaminação genética de diversas formas como introgressão.

Em estudos realizados nos Estados Unidos (Vieira & Pompeu, 2001), a hibridização entre espécies está entre as cinco principais causas de perda de biodiversidade. Alves *et al.*, (2007) afirmam que os estudos relacionados a este tema ainda são incipientes no Brasil, tornando muito difícil avaliar os efeitos da hibridização, seja do ponto de vista ecológico ou produtivo.

Conforme citado anteriormente o grande problema do cultivo de espécies de peixes tropicais, seja para piscicultura de conservação ou comercial, é o processo de larvicultura, e esta afirmação é válida também para o cachara, na produção em larga escala (Miranda & Ribeiro, 1997).

A produção das duas espécies do presente projeto (pintado e cachara) e sua consequente oferta no mercado vem se reduzindo a cada ano, apesar do crescente esforço de pesca. Essa redução vem ocorrendo devido à degradação de seu ambiente nativo, através da construção de barragens e represas, assoreamento dos rios e a intensificação da pesca predatória, sendo cada vez mais acelerado o declínio das populações naturais destas duas espécies (Baldisserotto & Gomes, 2005). Tais impactos incluem o pintado, espécie em questão, na lista de espécies ameaçadas de extinção do Estado de São Paulo (Mello *et al.*, 2009; São Paulo, 2008).

Sabendo-se que as espécies do gênero *Pseudoplatystoma* reproduzem-se entre si e que o cruzamento entre o *P. coruscans* e *P. reticulatum* é comumente produzido por vários produtores (Baldisserotto & Gomes, 2005), é necessário conhecer o desenvolvimento bem como a biologia deste híbrido, uma vez que sua liberação para o ambiente natural já foi relatada (Alves *et al.*, 2007). Com isso temos a introdução de um híbrido em ambientes que estão em equilíbrio, que irão gerar impactos incalculáveis, visto que, as espécies em questão são predadores de hábito noturno (Baldisserotto & Gomes, 2005), que ocasionarão impactos diretos na cadeia alimentar dos rios, além dos possíveis problemas genéticos nas populações naturais.

Os aspectos acima abordados demonstram a necessidade de se conhecer melhor a ontogenia do cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*), bem como do híbrido, investigando alguns pontos de seu metabolismo e sua morfogênese, fornecendo subsídios para a produção e cultivo de larvas e alevinos para manutenção de seu estoque natural bem como seu manejo sustentado.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo Geral**

O objetivo principal do presente trabalho foi investigar as alterações fisiológicas ao longo da ontogenia de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*).

### **2.2. Objetivos Específicos**

Para alcançar o objetivo geral do presente projeto foram traçados alguns objetivos específicos sempre abordando os dois grupos experimentais ao longo da ontogenia, visando investigar:

- a) a composição dos diferentes substratos metabólicos e suas alterações ao longo do processo ontogenético;
- b) a cronologia da atividade das proteases;
- c) a composição de ácidos graxos dos animais e/ou tecidos específicos (fígado, encéfalo e músculo);
- d) o surgimento dos principais órgãos do trato digestório dos animais ao longo do desenvolvimento.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Delineamento Experimental

Todas as coletas foram realizadas na fazenda Peixe-Vivo da empresa Mar e Terra Indústria e Comércio de Pescados S/A (figuras 1A e 1B), localizada no município de Bandeirantes - MS, no período de Janeiro/2008 à Fevereiro/2008.

Conforme dito anteriormente, para a condução do presente projeto foram utilizadas como modelo a espécie surubim-cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*, Linnaeus, 1766) e o híbrido, obtido através do cruzamento de machos da espécie pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*, Spix e Agassiz, 1829) com fêmeas da espécie cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*), totalizando 2 grupos experimentais. Os animais utilizados na reprodução do presente projeto são provenientes do ambiente natural e foram transferidos para o cativeiro (piscicultura) onde foram mantidos em tanques escavados de terra (figura 02A), local onde permaneceram para a reprodução. Os animais possuíam idades variando entre 2 e 3 anos, idade adequada para a reprodução e condução do experimento. Os reprodutores sempre foram alimentados com ração extrusada e peletizada para carnívoros adultos (40% de proteína bruta).

Para a obtenção das larvas dos grupos experimentais foram reproduzidos (indução hormonal a e extrusão dos gametas) machos e fêmeas de 2 grupos: o grupo cachara que foi obtido cruzando-se dois machos cachara puros com duas fêmeas de cachara puras; e o híbrido, obtido através do cruzamento de 2 fêmeas de cachara pura com 2 machos de pintado puros, totalizando 2 grupos experimentais de larvas, com 2 repetições. Para a reprodução dos animais, as fêmeas foram selecionadas por características externas, como maior rigidez e volume de seu abdômen, além do poro urogenital inchado e avermelhado (Baldisserotto & Gomes, 2005). Os machos foram escolhidos de acordo com a fluidez e a coloração de seu sêmen.

As matrizes selecionadas foram transferidas para o laboratório e acomodadas em tanques de 5.000 litros até que os animais se encontrassem prontos para a desova e espermição (figuras 02B e 02C), que foram induzidas por hipofiseção. Após a desova por extrusão (figura 02D), os oócitos foram

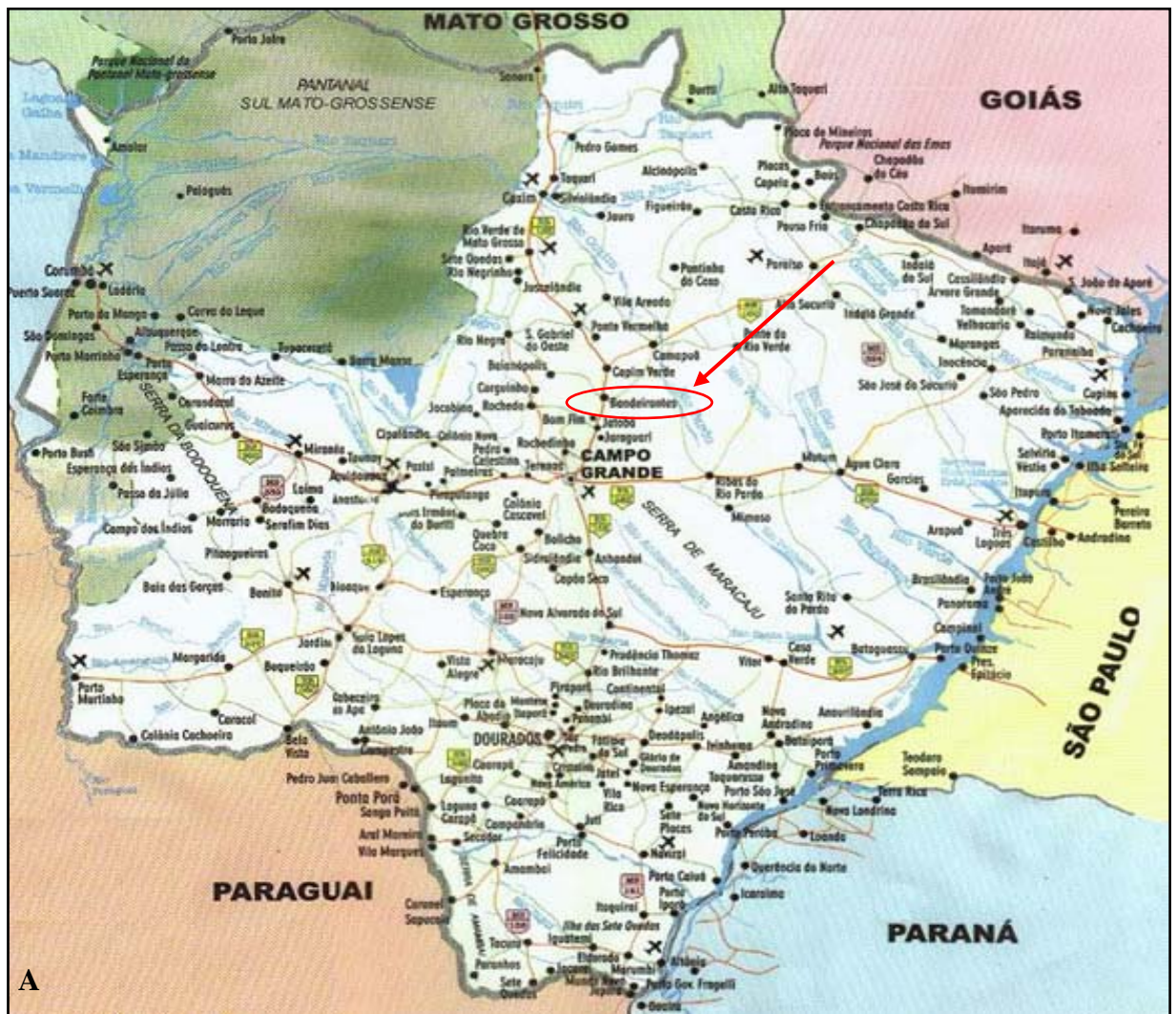
fertilizados com o sêmen (figura 02E, 03A e 03B) e transferidos para incubadoras cônicas de 200 litros (figura 03C) até o momento da eclosão (figura 03D). Posteriormente as larvas foram retiradas por sifonação e conduzidas a tanques circulares com volume de 1000 litros (figura 03E) e no laboratório (figura 03F).

Nos dez primeiros dias após a eclosão as larvas de ambos os grupos foram alimentadas com *Artemia* sp. e, entre o décimo e vigésimo dia foram alimentadas com componentes diversos do zooplâncton (cladóceros, copépodes e rotíferos). Ambos os grupos foram alimentados segundo o protocolo alimentar rotineiro da piscicultura que consistia em 8 alimentações a cada 24 horas (4 alimentações durante o dia e 4 alimentações durante a noite).

Após os 20 primeiros dias as larvas passaram por um treinamento no qual foram alimentadas com ração até o 45º dia após sua eclosão. Esse treinamento consiste na transição da alimentação dos animais de um alimento vivo, para uma ração úmida (moída e misturada com coração de boi) e em seguida, uma ração seca (comercial). Tal procedimento em relação à alimentação é rotineiro para a espécie. Além disso, uma alimentação equiparada entre os grupos permite inferir que a alimentação não foi um fator determinante caso ocorresse alguma diferença entre os grupos experimentais, embora os grupos possam variar entre si quanto a fatores relacionados à própria dinâmica no processo alimentar (captura, ingestão e absorção), na qual cada espécie ou híbrido pode responder de uma forma diferente. Contudo, a alimentação foi fornecida sempre qualitativa e quantitativamente igual aos dois grupos experimentais, anulando assim uma possível variável ao longo dos dias experimentais. Adicionalmente, foram medidos diariamente parâmetros como a temperatura e oxigênio dissolvido na água.

**Figura 01. A)** Mapa do estado do estado de Mato Grosso do Sul, evidenciando município de Bandeirantes (Círculo e Seta vermelha). **B)** Vista aérea da fazenda Mar e Terra Indústria e Comércio de Pescados S/A, localizada no município de Bandeirantes, MS, Brasil.

Figura 01



A

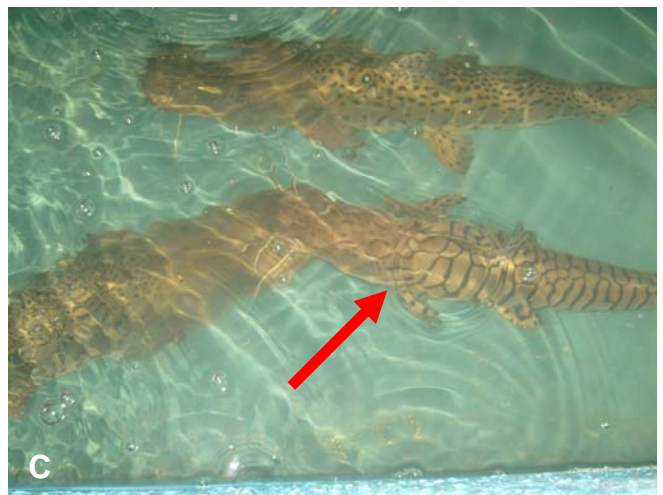


B



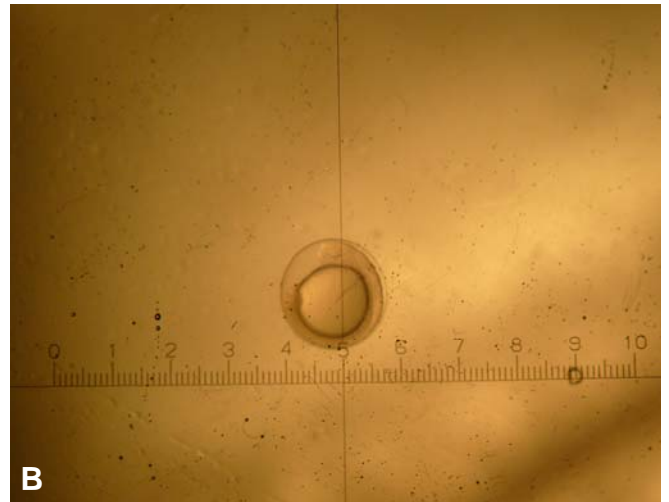
**Figura 02. A)** Vista do tanque onde foram mantidos os reprodutores durante o período em que estavam no cativeiro. **B)** Reprodutor macho de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) mantido em tanque para indução hormonal e reprodução. **C)** Reprodutora fêmea de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) mantido em tanque para indução hormonal e reprodução **D)** Extrusão manual a seco dos oócitos de fêmea de cachara para posterior fertilização. **E)** Fertilização a seco dos oócitos com sêmen que foi previamente extrusado de macho de pintado.

Figura 02



**Figura 03.** **A)** Processo de fertilização e hidratação dos ovos de cachara. **B)** Larva de cachara com 8 horas após a fertilização. **C)** Vista geral do laboratório de larvicultura, com as incubadoras de 200 litros, nas quais foram mantidas as larvas de ambos os grupos até eclosão. **D)** Larva de cachara com 2 DAF. **E)** Vista geral do galpão de larvicultura, evidenciando as caixas (1000 Litros) onde foram mantidas as larvas de ambos os grupos ao longo do experimento. **F)** Vista externa do laboratório de larvicultura.

Figura 03



### 3.2. Coletas das amostras

As coletas foram sempre realizadas pela manhã antes da primeira alimentação para evitar contaminação das amostras com alimento vivo (artêmia, zooplâncton, etc), uma vez que durante grande parte do experimento os animais foram alimentados com alimento vivo.

Como a ontogenia é um processo extremamente rápido e inclui processos acelerados, as coletas foram divididas em quatro etapas, para que o desenvolvimento fosse acompanhado nas fases chave do processo ontogenético. Durante a primeira etapa foram realizadas 6 coletas, sendo a 1ª antes da fertilização (somente os oócitos), a 2ª até a 6ª coletas ocorreram com intervalo de 8 horas até o momento da reabsorção do saco vitelínico (observação macroscópica externa) (aproximadamente 48 horas após a fertilização) (dias 1 e 2 após a fertilização) (figuras 04A, 04B, 04C, 04D, 04E, 04F, 05A, 05B, 05C, 05D, 05E e 05F).

Na 2ª etapa as coletas foram realizadas em intervalos de 24 horas, ou seja, foi realizada uma coleta por dia, a partir do 2º dia após a eclosão, ou 3º dia após a fertilização, totalizando 8 coletas (dias 3 até 10 após a fertilização) (figuras 06A, 06B, 06C, 06D, 06E, 06F, 07A, 07B, 07C, 07D, 07E, 07F, 08A, 08B, 08C, 08D, 08E e 08F ).

Na 3ª etapa as coletas foram feitas a cada 5 dias com início no 10º dia após a fertilização e com término no 25º dia após a fertilização, totalizando 3 coletas (dias 10 até 25 após a fertilização) (figuras 09A, 09B, 09C, 09D, 09E e 09F ).

Na 4ª e última etapa as coletas foram realizadas com intervalos de 7 dias que se iniciou no final da 3ª etapa e foi finalizada no 45º dia após a eclosão totalizando 3 coletas (dias 25 até 45 após a fertilização).

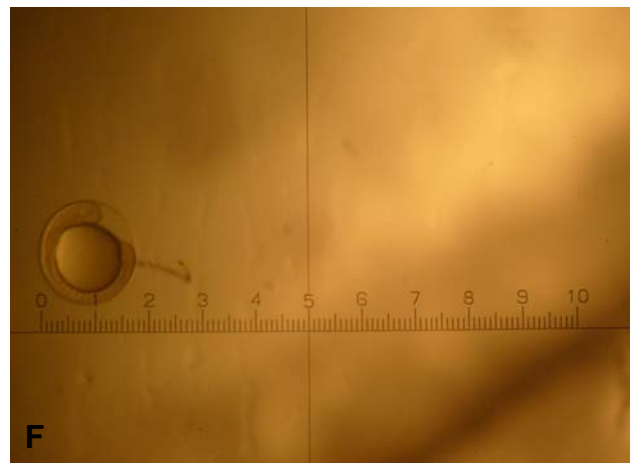
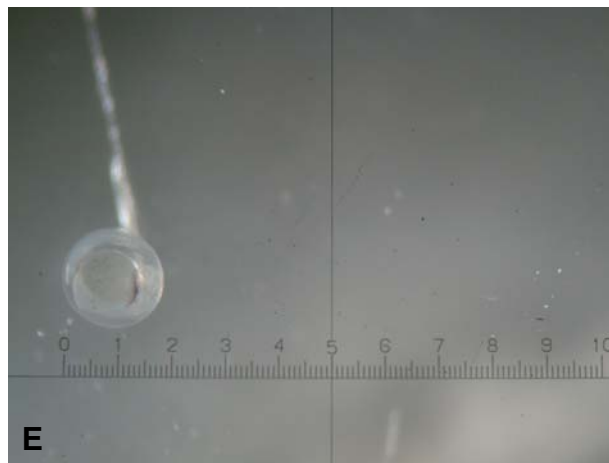
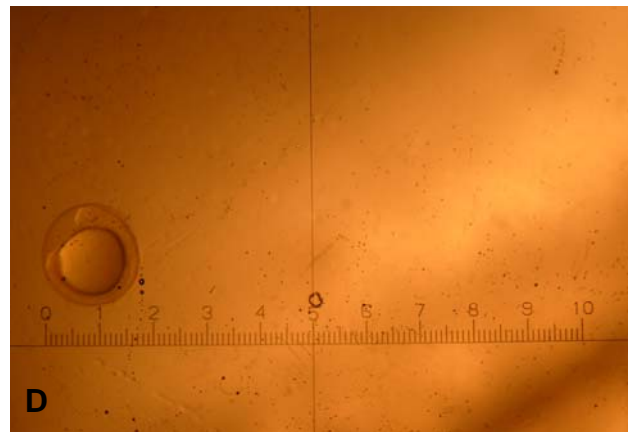
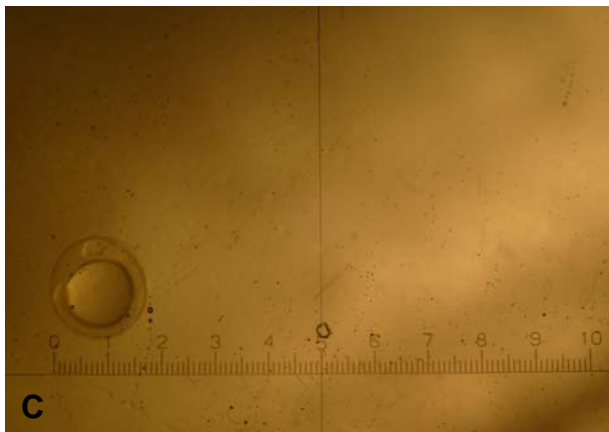
Ao longo de todas as coletas alguns animais amostrados e analisados sob estereomicroscópio (Leica – modelo S6D) e medidos com ocular milimétrica com auxílio de um sistema computadorizado de captura de imagens (Leica DFC 295, *Leica Application Suíte Professional* – LAS – 3.6) (figuras 04 a 09). O diâmetro da boca foi medido com auxílio de ocular milimétrica ao longo dos 10 primeiros dias de coleta e os resultados estão em anexo (tabela 01).

Durante a 4<sup>a</sup> etapa as coletas foram realizadas da seguinte forma: para as coletas dos tecidos, os animais foram mantidos por 5 minutos em água com gelo (figura 10A), e quando apresentavam movimentos lentos de natação, foram sacrificados por secção da medula espinhal. Para a coleta dos tecidos, foi feita uma incisão ântero-posterior na região abdominal dos animais com o auxílio de uma tesoura cirúrgica, para que os órgãos de interesse fossem removidos. Para análise de proteínas totais, lipídeos totais e perfil de ácidos graxos foram retiradas amostras do fígado, musculatura dorsal e encéfalo (figura 10B). Para as análises enzimáticas foram retiradas amostras do estômago e intestino (figura 10C).

Os animais (larvas inteiras) e/ou tecidos coletados foram imediatamente acondicionados em tubos criogênicos e congelados em nitrogênio líquido até o processamento, sendo que todas as amostras foram coletadas em duplicatas.

**Figura 04.** **A)** Oócito de cachara antes da fertilização. **B)** Oócito de híbrido antes da fertilização. **C)** Larva com 8 horas após a fertilização (HAF). **D)** Larva de híbrido com 8 HAF. **E)** Larva de cachara com 16 HAF. **F)** Larva de híbrido com 16 HAF.

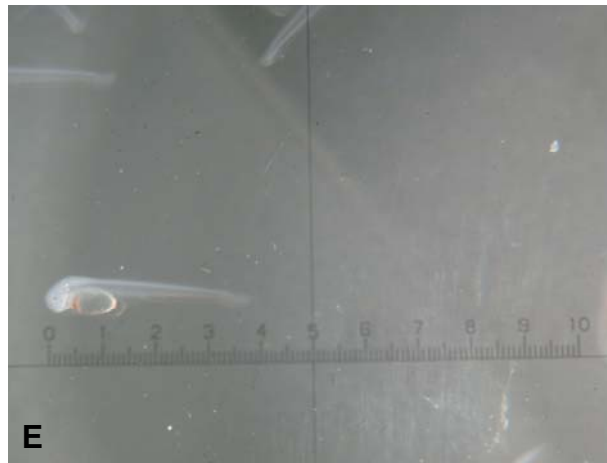
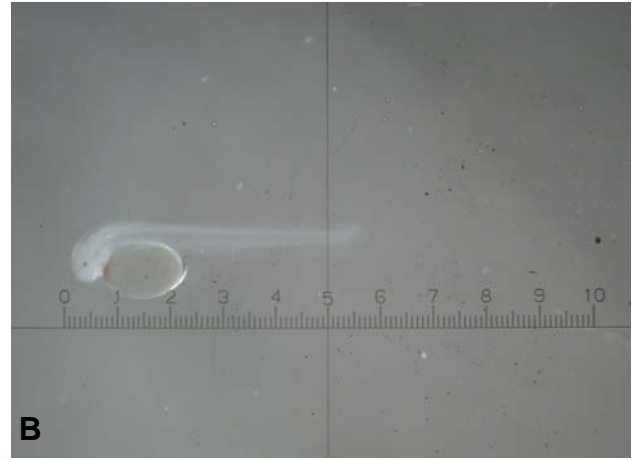
Figura 04





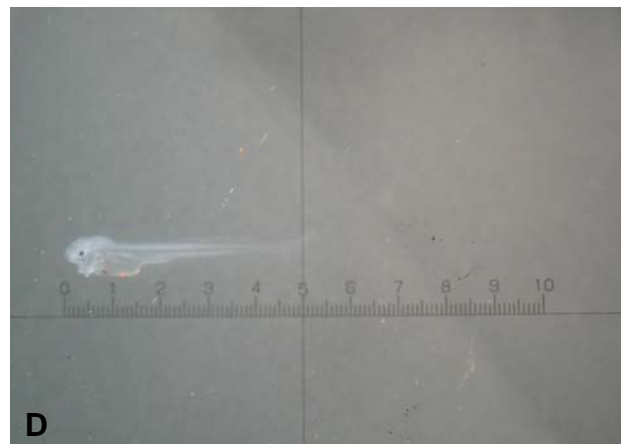
**Figura 05. A)** Larva de cachara com 24 HAF. **B)** Larva de híbrido com 24HAF. **C)** Larva de cachara com 32 HAF. **D)** Larva de híbrido com 32 HAF. **E)** Larva de cachara com 40 HAF. **F)** Larva de híbrido com 40 HAF.

Figura 05



**Figura 06. A)** Larva de cachara com 2 dias após a fertilização (DAF). **B)** Larva de híbrido com 2 DAF. **C)** Larva de cachara com 3 DAF. **D)** Larva de híbrido com 3 DAF. **E)** Larva de cachara com 4 DAF. **F)** Larva de híbrido com 4 DAF.

Figura 06



**Figura 07. A)** Larva de cachara com 5 dias após a fertilização (DAF). **B)** Larva de híbrido com 5 DAF. **C)** Larva de cachara com 6 DAF. **D)** Larva de híbrido com 6 DAF. **E)** Larva de cachara com 7 DAF. **F)** Larva de híbrido com 7 DAF.

Figura 07



**Figura 08. A)** Larva de cachara com 8 dias após a fertilização (DAF). **B)** Larva de híbrido com 8 DAF. **C)** Larva de cachara com 9 DAF. **D)** Larva de híbrido com 9 DAF. **E)** Larva de cachara com 10 DAF. **F)** Larva de híbrido com 10 DAF.

Figura 08





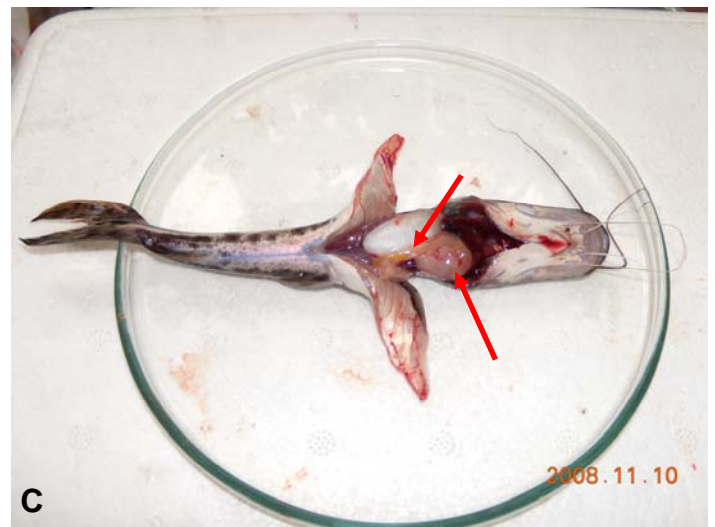
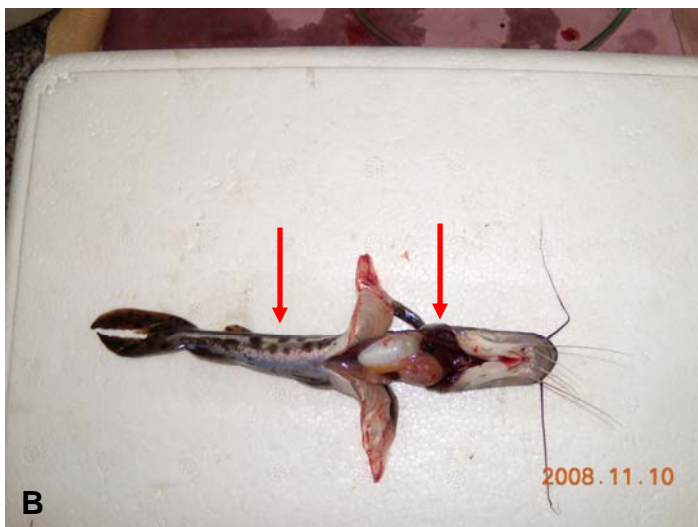
**Figura 09. A)** Larva de cachara com 15 dias após a fertilização (DAF). **B)** Larva de híbrido com 15 DAF. **C)** Larva de cachara com 20 DAF. **D)** Larva de híbrido com 20 HAF. **E)** Larva de cachara com 25 DAF. **F)** Larva de híbrido com 25 DAF.

Figura 09



**Figura 10.** **A)** Espécime de cachara sendo dessensibilizado com gelo para redução do metabolismo para sacrifício dos animais. **B)** Alevino de cachara sacrificado para coleta dos tecidos, setas vermelhas evidenciando (da esquerda para a direita), a região dorsal, de onde, foi retirada amostra da musculatura e o fígado. **C)** Alevino de cachara sacrificado para a coleta dos tecidos, com as setas vermelhas evidenciando o intestino e estômago respectivamente (da esquerda para a direita).

Figura 10



### **3.3. Análises bioquímicas**

#### **3.3.1. Proteína total**

A concentração de proteínas totais foi determinada pelo método colorimétrico de Lowry *et al.*, (1951) após precipitação e solubilização das proteínas dos tecidos segundo Milligan & Girard (1993). As amostras das larvas foram diluídas 50x e as amostras de tecidos (fígado e músculo) foram diluídas 20x. A análise da concentração de proteínas foi calculada em espectrofotômetro (Molecular Devices, CA, USA) a um comprimento de onda de 660 nm com base em curva padrão de albumina sérica bovina (*Bovine Serum Albumine*, Sigma Diagnostics) as concentrações foram expressas em miligramas de proteína/ gramas de tecido.

#### **3.3.2. Lipídeos Totais**

Os lipídeos totais foram extraídos com clorofórmio: metanol: água (2:1:0,5) de acordo com o método de Folch *et al.*, (1957) e os teores desses lipídeos totais teciduais determinados pelo método colorimétrico de Frings *et al.*, (1972), utilizando-se como padrão óleo de fígado de bacalhau (*Cod liver oil methyl esters*, Sigma Diagnostics) em espectrofotômetro (Molecular Devices, CA, USA) a um comprimento de onda de 540nm. Os lipídeos totais foram expressos em miligramas de lipídeos/gramas de tecido.

#### **3.3.3. Perfil de ácidos graxos**

Para a obtenção do perfil de ácidos graxos as larvas tiveram seus lipídeos totais extraídos pelo método acima e em seguida o extrato total foi submetido a uma atmosfera de N<sub>2</sub> para evaporação do solvente sem oxidação dos ácidos graxos. Em seguida, o extrato contendo as diferentes classes de lipídeos foi separado em lipídeos polares (fosfolipídeos) e neutros (triglicérides) por cromatografia de coluna utilizando sílica ativada (Yang, 1995). Os extratos de lipídeos polares (fosfolipídeos) e neutros (triglicérides) foram metilados com cloreto de acetila para a formação dos metil ésteres

(Christie, 2003). Os metil ésteres foram analisados em cromatografia gasosa (GC – Varian modelo 3900), acoplada a um ionizador de chama (FID) e o perfil de ácidos graxos foi determinado com o cálculo de tempo de retenção, utilizando-se um padrão de éster de metil conhecido (FAME) (Supelco, 37 components – Sigma – Aldrich).

### 3.4. Análises enzimáticas

Para a obtenção dos tecidos para análises enzimáticas, foi feita uma incisão no sentido ântero-posterior na região abdominal dos animais para retirada do intestino e do estômago que foram posteriormente armazenados em freezer -80°C até o processamento experimental. Os tecidos foram amostrados e pesados sob superfície gelada e cerca de 200 µg de tecido foram utilizados para 2 mL de tampão de homogeneização 0.2M Tris/0.01M fosfato. A extração foi feita sob gelo com auxílio de um pistilo e homogeneizador mecânico tipo Potter-Elvehjem a 1000 rpm/minuto durante 1 minuto. O extrato foi centrifugado e o sobrenadante foi utilizado como a fonte de enzimas.

As enzimas tripsina e quimiotripsina foram extraídas e analisadas pelo método de Hummel (1959). Para os ensaios da atividade de tripsina foi utilizado substrato 1,04 mM de TAME ( $\alpha$ -p- Toluenesulphonyl-L-arginine methyl ester hydrochloride) em solução tampão de 0,01M  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /0,2M Tris/HCl, pH 8,1. Uma alíquota ajustada de homogeneizado foi utilizada como fonte enzimática. A temperatura de reação foi de 25°C e a densidade óptica era registrada a 247 nm após 60 segundos de reação. A atividade específica da enzima foi expressa em µmol de arginina por min (U) por mg de proteína e por unidade de larva.

Para a determinação da atividade específica de quimiotripsina utilizou-se substrato 1 mM de BTEE (N-Benzoyl-L-tyrosine ethyl ester) em metanol 2:3 (v:v). O ensaio foi realizado em tampão 0,1 M  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /0,1M Tris/HCl, pH 7,8 a 25°C, por 30 segundos a 256nm. A atividade enzimática específica foi definida como a quantidade de enzima necessária para a formação de 1 nmol de tirosina por min (mU), expressa em proteína (µm/mg prot) e por unidade de larva.

Para a atividade das proteases inespecíficas foi testada previamente uma curva de pH para todas as fases do desenvolvimento com a finalidade de verificar quais pHs seriam ensaiados para determinação da atividade das proteases não específicas. Após a análise da curva foram selecionados os pHs de maior atividade que foram 2,0 e 8,0. O tampão utilizado foi 0,2 M glicina/HCl (pH2,0) e tampão 0,1M Tris/HCl (pH8,0). A mistura continha 500 µl de tampão específico, caseína 1% (500 µl) como substrato e alíquota ajustada como fonte de enzimas. Após 60 minutos de incubação a 25°C a reação era paralisada com 500 µl TCA a 15% (ácido tricloroacético), posteriormente mantida em gelo por cerca de 30 minutos e o precipitado era retirado após centrifugação a 14.400 x g por 10 minutos e posterior leitura do sobrenadante a 280 nm. Todas as análises foram realizadas em duplicatas utilizando branco de enzima (contendo água destilada no lugar da enzima) e passaram por todos os processos de reação. A unidade de atividade enzimática específica foi expressa como a quantidade de enzima necessária para formar 1 µg de tirosina por minuto (U), expressos por unidade por miligrama de proteína (U/mg prot) e por unidade por unidade de larva (U/unidade de larva).

### **3.5. Análises histológicas**

As amostras coletadas foram fixadas em solução de Bouin acético (75% de ácido pícrico, 20% de formol e 5% de ácido acético glacial) por 24 horas. Após esse período as amostras foram lavadas em água corrente, para retirada do excesso de fixador no material biológico e foram armazenadas em álcool 70% até o processamento do material. As amostras fixadas foram processadas segundo as técnicas rotineiras de histologia, como, desidratação em álcool, diafanização em xilol, inclusão em *paraplast*, corte em micrótomo a 5 µm (longitudinal) e posterior coloração com Hematoxilina e Eosina e Azul de Toluidina e Fucsina. As amostras foram analisadas sob microscópio óptico (Leica DM 1000) e as fotos foram capturadas com auxílio de uma câmera digital (Leica DFC 295) acoplada ao microscópio, utilizando um sistema computadorizado de captura de imagens (*Leica Application Suite Professional - LAS, V. 3.6.*).

### **3.6. Análises dos resultados - Análises Estatísticas**

Os valores de cada parâmetro foram expressos como média  $\pm$  erro padrão e comparados ao longo do tempo de desenvolvimento. Além disso, cada fase do desenvolvimento foi comparada entre os grupos experimentais. Para as referidas comparações, foi utilizado o teste de Análise de Variância (one-way ANOVA) seguida pelo teste Student Newman-Keuls do programa *Sigma Stat* versão 3.1.



## **4. Resultados**

Os resultados apresentados abaixo são relativos aos dois grupos experimentais investigados. Os valores dos dados referentes às análises metabólicas (proteínas totais, lipídeos totais e perfil de ácidos graxos) e análises bioquímicas (enzimas não específicas e específicas) serão apresentados na forma de gráfico ao longo do texto e na forma de tabela ao final em anexos.

### **4.1.1. Morfologia do trato digestório**

No presente trabalho não serão descritas todas as características próprias de todos os órgãos, mas apenas as características gerais dos órgãos e o momento em que os mesmos surgem ao longo do processo ontogenético. Serão abordados somente os principais pontos da organogênese, como o surgimento dos principais órgãos do sistema digestório, embora em todos os tempos de coleta tenha sido fixado tecido para análise histológica.

As larvas de ambos os grupos experimentais eclodiram com cerca de 24 horas após o momento da fertilização, que foi considerado para todas as análises o momento exato da eclosão dos animais.

De uma forma geral o trato digestório das larvas de cachara e do híbrido apresentam-se com a morfologia típica do trato digestório da maior parte dos peixes teleósteos, consistindo em boca, esôfago, estômago e intestino.

### **4.1.2. Boca**

A abertura da boca das larvas de cachara e do híbrido foi verificada no 3º DAF e no momento da abertura, a boca foi classificada macroscopicamente como não sendo funcional, pois a maxila inferior apresentava-se muito ventral em relação à maxila superior, não permitindo a captura de presas pelas larvas (figura 11A e 11B). A posição da boca encontra-se na região anterior da cabeça em posição terminal, e só foi considerada funcional no 4º DAF, dia em que foi possível observar a região abdominal saliente, possivelmente repleta de alimento (figura 06E e 06F – seta vermelha). No 3º DAF a boca apresentou

diâmetro de 150  $\mu\text{m}$ , no 4º DAF apresentou diâmetro de 300  $\mu\text{m}$ , no 5º DAF apresentou 450  $\mu\text{m}$ , no 6º DAF apresentou 550  $\mu\text{m}$ , no 7º DAF apresentou 750  $\mu\text{m}$ , no 8º DAF apresentou 800, no 9º DAF apresentou 950 e no 10º DAF 1,1 mm de diâmetro (tabela 01).

#### **4.1.3. Vitelo e Saco Vitelínico**

O vitelo presente no saco vitelínico de ambos os grupos experimentais foi encontrado do 1º até o 5º DAF (figuras 12A, B, C, D, E, F, 13A e C) na região abdominal próximo à região do fígado dos animais. A partir dessa fase, não foram encontrados mais resquícios do saco vitelínico nos animais. Obviamente que o volume observado durante as primeiras horas após a fertilização foi se reduzindo de forma a atingir macroscopicamente (observação visual) sua exaustão no 4º DAF (figura 06E e 06F), fato que foi investigado através de análises histológicas e verificada exaustão no 5º DAF (13E e 13F), conforme dito anteriormente.

#### **4.1.4. Esôfago**

O esôfago de cachara e do híbrido foi observado a partir do 3º DAF (figura 13A e 13B) e constitui-se de um órgão curto, conectando a parte posterior da cavidade oral a bolsa intestinal inicialmente e após o 4º DAF unindo esta região ao estômago.

#### **4.1.5. Estômago**

O estômago do cachara e do híbrido foi verificado a partir do 4º DAF (figuras 13C, D, E, 15A e B), sendo inicialmente um tubo curto e torna-se arredondado com camada muscular maior a partir do 10º DAF.

#### **4.1.6. Bolsa Intestinal e Intestino**

A bolsa intestinal dos animais de ambos os grupos foi encontrada a partir do 3º DAF (figuras 13A, B, C, D, E, F e 14A, B, C e D). Essa estrutura é

formada por uma camada delgada que apresenta a luz amplamente arredondada. O intestino (segmento proximal) foi encontrado a partir do 3º DAF (figura 13A, B) de ambos os grupos e apresenta epitélio prismático simples em toda sua extensão. A partir do 7º DAF foram encontradas as células calciformes em ambos os grupos (figuras 14 E e F). Após a comparação morfológica entre os grupos experimentais verificamos que do ponto de vista morfológico, as larvas de cachara e de híbridos não apresentaram nenhuma diferença relevante. Ambos os grupos apresentaram organogênese muito similar com todos os órgãos analisados apresentando surgimento simultâneo.

## **4.2. Análises Metabólicas**

### **4.2.1. Proteínas Totais**

As concentrações de proteínas e lipídeos totais serão apresentadas ao longo do texto com gráficos e ao final em forma de tabelas em anexo. Os gráficos que serão apresentados no decorrer dos resultados abordarão de forma comparativa os dois grupos experimentais e as diferenças apresentadas pelas letras somente representarão as diferenças entre os grupos. As tabelas que serão apresentadas em anexo contêm as diferenças que ocorreram entre os grupos e as diferenças que ocorreram dentro do mesmo grupo ao longo do período de desenvolvimento dos animais.

Para a análise mais didática dos resultados os grupos foram divididos em etapas ao longo do tempo de desenvolvimento dos animais. A separação foi realizada de acordo com alguns aspectos macroscópicos do desenvolvimento. Sendo assim os grupos foram divididos em 5 subgrupos que são, conforme descrito anteriormente nos métodos: Fase I, coletas 0, 1 e 2 (oócito e ovo fertilizado – 1º dia após fertilização), Fase II, coletas 3, 4 e 5 (larva com saco vitelínico – 2º dia após fertilização), Fase III, coletas 6 a 10 (larva – 2º até 6º dia após fertilização), Fase IV, coletas 11 a 17 (larvas e alevinos – 7º até 25º dia após fertilização) e, por fim, Fase V, coletas de tecidos (alevinos – 32º à 45º dias após a fertilização).

As concentrações de proteínas totais solúveis (tabela 02) na primeira fase (figura 16A) sugerem valores mais elevados para o grupo cachara em

relação ao grupo híbrido com uma redução na concentração durante as primeiras 16 HAF (horas após a fertilização) para o grupo cachara, valores que partiram de  $65,50 \pm 19,09$  reduzindo-se até  $27,40 \pm 1,59$  mg/g. Já o grupo híbrido manteve sua concentração praticamente constante nas primeiras 16 HAF. No entanto, apesar da tendência descrita, nessa fase não foi encontrada nenhuma diferença significativa entre os grupos e nem ao longo do tempo (tabela 02). No grupo híbrido as concentrações protéicas se mantiveram praticamente constantes, indicando que este grupo não utilizou as proteínas para metabolismo durante essas primeiras horas do desenvolvimento (figura 16A).

No período compreendido entre 24 e 40 HAF (figura 16B), os animais do grupo cachara mantêm a concentração protéica no mesmo patamar com valores  $68,38 \pm 7,65$  mg/g nas primeiras 24 HAF, se mantendo até as 40 HAF ( $67,37 \pm 10,77$  mg/g). Em contrapartida, o grupo híbrido apresentou uma tendência à elevação da concentração de proteínas com 24 HAF ( $58,82 \pm 13,61$  mg/g) em relação às 32 ( $78,47 \pm 22,80$  mg/g) e 40 HAF ( $80,62 \pm 2,48$  mg/g), que assim como o primeiro estágio não apresentou diferença significativa.

Na figura 16C, ambos os grupos apresentaram uma queda na concentração protéica do 2º DAF (dia após a fertilização) em relação aos dias seguintes. Do 3º DAF em diante, o grupo cachara apresenta uma elevação até o 5º DAF, porém apresenta uma nova queda no 6º DAF. O mesmo perfil se observa no grupo híbrido, que com exceção a última queda no 6º DAF o perfil protéico se manteve praticamente inalterado. Vale ressaltar que a queda apresentada do 2º para o 3º DAF que ocorre para ambos os grupos foi estatisticamente significativa ( $p=0,004$ ), indicando um alto consumo deste substrato nesse momento do desenvolvimento. Em seguida (do 3º para o 4º DAF) a concentração de proteínas totais se eleva indicando uma maior deposição deste substrato nos dias seguintes.

Na etapa final analisada, entre o 7º e 25º DAF, a concentração de proteínas para o grupo cachara se manteve praticamente constante sem diferenças significativas (figura 16D). O grupo híbrido apresenta pequenas flutuações na concentração protéica, mas também não foram verificadas

diferenças significativas ao longo do tempo e nem entre os grupos que de uma forma geral apresentaram um perfil protéico muito semelhante (tabela 02).

As concentrações de proteínas totais no fígado e no músculo praticamente mantiveram seu padrão para ambos os grupos, que quando comparados não apresentaram diferença significativa nem entre os grupos e nem ao longo das coletas (figuras 17 A e B; tabela 02).

#### **4.2.2. Lipídeos Totais**

Podemos observar inicialmente (figura 18A), que para ambos os grupos ocorre uma tendência à queda na concentração dos lipídeos totais das primeiras 8 e 16 HAF em relação a hora 0 (momento antes da fertilização – somente oócitos), embora essa queda não se confirme em uma diferença estatística (tabela 03).

Na figura 18B e tabela 03, podemos observar no grupo cachara, uma tendência à queda na concentração dos lipídeos nas 40 HAF em relação às 32 HAF sugerindo um consumo metabólico lipídico por parte desses animais, o que não ocorre no grupo híbrido que mantém sua concentração de lipídeos totais no mesmo patamar. Em nenhum dos períodos foi encontrada diferença estatística, nem entre os grupos e nem ao longo do tempo.

Na figura 18C, podemos observar que não houve diferença significativa entre os grupos, apesar de uma tendência à elevação da concentração de lipídeos totais do 4º para o 5º dia após a fertilização no grupo cachara, enquanto houve uma queda na concentração do grupo híbrido indicando consumo do substrato no mesmo período. Após o 4º DAF, o grupo cachara apresentou uma elevação da concentração lipídica, e os híbridos apresentaram manutenção de seus estoques lipídicos, embora as concentrações do grupo cachara fossem mais elevadas durante esse período. Novamente, este perfil deve ser considerado apenas como tendência, pois não foram observadas diferenças significativas. O mesmo pode ser relatado para a etapa de 7 a 25 DAF (figura 18D, tabela 03).

Nas figuras 19A, B e C e tabela 03, podemos observar que, ambos os grupos apresentaram concentrações similares de lipídeos no fígado, encéfalo e

músculo, sem apresentar diferenças estatísticas entre si ou ao longo do desenvolvimento.

### **4.3. Perfil de Ácidos Graxos**

#### **4.3.1. Fração Neutra**

Os ácidos graxos foram separados nas suas frações neutra e polar que nos permite identificar os principais ácidos graxos que compõem os triglicerídeos, que são direcionados ao armazenamento de energia e os ácidos graxos que compõem os fosfolipídeos que são ácidos graxos estruturais. Os resultados dos ácidos graxos, assim como as concentrações protéicas e lipídicas serão apresentadas ao longo do texto com gráficos e ao final em tabelas nos anexos.

Será abordada inicialmente a fração neutra dos ácidos graxos que corresponde aos triglicerídeos. Conforme dito na metodologia os resultados também serão apresentados nas quatro divisões propostas para as diferentes fases do desenvolvimento dos animais.

Durante as primeiras 16 horas do desenvolvimento (figura 20A e tabela 04) observamos em ambos os grupos que o perfil dos ácidos graxos saturados (do inglês saturated fatty acids – SFA) se mantém com altas porcentagens ( $\pm$  45 %), sendo os ácidos graxos 16:0 e 18:0 responsáveis por essa elevada porcentagem.

Os ácidos graxos monoinsaturados (do inglês: monounsaturated fatty acids – MUFA) do grupo cachara apresentaram uma elevação dos valores após 16 horas após a fertilização em relação aos animais coletados com 0 e 8 horas após a fertilização ( $p < 0,005$ ) enquanto as porcentagens do grupo híbrido se mantiveram no mesmo patamar. O ácido graxo com maior valor e responsável pela diferença foi o 18:1n9 (figura 20B e tabela 04). Os PUFA apresentaram valores similares nesse período com ácido graxo 18:2n6 como o principal PUFA (gráfico 20C e tabela 04). Durante esse período a porcentagem de PUFA n6 foram sempre mais elevadas que os PUFA n3 (tabela 4).

Na tabela 05, observou-se um aumento dos SFA nos animais do grupo cachara, das 24 HAF para as 32 HAF com diferença significativa ( $p < 0,005$ ),

com o 18:0 se elevando ( $p < 0,005$ ), e o 16:0 com maiores valores percentuais. Em contrapartida os MUFA neste mesmo grupo apresentaram uma queda significativa nesse mesmo período ( $p < 0,042$ ), sendo o 18:1n11 e 18:1n9 ( $p < 0,045$ ), representando essa queda no grupo dos cacharas, sendo este último o ácido graxo com maiores valores percentuais (tabela 05). O grupo híbrido apresentou valores similares também durante este período. Os PUFA praticamente mantiveram seus valores percentuais em ambos os grupos, com o ácido graxo 18:2n6 apresentando os maiores valores para ambos os grupos. Durante essa fase os n6 se sobrepõem aos n3 (tabela 05). Nas figuras 21A, B e C pode-se observar que os SFA, MUFA e PUFA da fração neutra não variaram entre os grupos cachara e híbrido, entre 24 e 40 horas após a fertilização.

Do 2º DAF para o 3º DAF (tabela 06) ocorre uma queda significativa no perfil dos SFA dos híbridos e embora os cacharas apresentem uma tendência, essa não se confirmou em diferença significativa. Após essa queda os percentuais permanecem em um patamar sem diferenças significativas até o 6º dia. Os ácidos graxos responsáveis por tal queda são 15:0, 16:0 e 17:0 apresentando diferenças significativas ao longo do tempo nos híbridos. Nos MUFAs, ambos os grupos apresentam porcentagens maiores do 3º em relação ao 2º DAF, com diferença significativa no 16:1 e 18:1n11, os ácidos graxos que geraram esse aumento (tabela 06), que se manteve até o 5º DAF e depois sua porcentagem declinou significativamente no 6º DAF, queda essa representada agora pelo 16:1, 17:1 e 18:1n11 (tabela 06). Os PUFA também se elevaram significativamente durante esse período no grupo cachara permanecendo nessa faixa percentual até o 6º DAF. No grupo híbrido também ocorre aumento significativo do 3º para o 4º DAF e em seguida sua porcentagem se reduz do 5º para o 6º DAF, sendo os ácidos graxos, 20:4n6 e 20:5n3 responsáveis pelas mudanças. Os PUFA n6 permanecem com os maiores percentuais em relação aos n3 também nessa fase (tabela 06). Nas figuras 22A, B e C e tabela 06, fica demonstrado que ocorrem variações pontuais nos 3º e 5º DAF na porcentagem de SFA, MUFAs da fração neutra. Nos SFAs sugere-se que os cacharas possuam um maior percentual, e apenas uma diferença significativa é observada no 5º DAF. Em contrapartida os MUFAs dos híbridos apresentam

um possível percentual mais elevado, com apenas duas diferenças significativas no 3º e 5º DAF.

Na tabela 07 podemos observar uma queda no percentual dos SFA a partir do 10º DAF nos híbridos, e apresentando o 16:0 maior queda percentual. Os MUFA se reduzem também nesse período com valores estatisticamente diferentes somente nos cacharas (tabela 07). O ácido graxo com maior queda foi 16:1 para ambos os grupos, 17:1 para os cacharas e 18:1n9 para os híbridos (tabela 07). Os PUFAs, em contrapartida aos SFA e MUFA, apresentaram elevações percentuais do 7º para o 8º DAF, com valores significativamente diferentes para ambos grupos, que tiveram como principal variação, a porcentagem do ácido graxo 18:3n3. Os valores de SFA, MUFA e PUFA apresentaram flutuações em seus percentuais entre os dias 7 e 25 do desenvolvimento e pela primeira vez ao longo do desenvolvimento das larvas de ambos os grupos a porcentagem de ácidos graxos n3 foi maior que a porcentagem de n6, o que ocorreu a partir do 8º DAF, justificado pelo aumento percentual considerável dos PUFA n3 a partir desse dia. Nas figuras 23A, B e C os dados evidenciam poucas variações na fração neutra entre os grupos. Os MUFAs foram mais elevados no cachara aos 7 DAF e por outro lado os PUFAs da fração neutra foram mais elevados nos híbridos aos 9 DAF .

Na figura 24A e tabela 08, podemos verificar o perfil de ácidos graxos do fígado ao longo das 3 coletas realizadas nesse período que incluiu os dias 32, 39 e 45 DAF. O perfil dos SFA do fígado (tabela 08) se elevou no grupo cachara com 45 DAF, apresentando diferenças significativas em relação aos dias anteriores, e nos híbridos se elevou com 39 DAF, momento no qual ambos grupos também apresentaram diferenças (figura 24A), com os híbridos apresentando maior porcentagem de SFA com 39 DAF e, aos 45 DAF, a situação se inverteu, e os animais do grupo cachara apresentaram maior porcentagem de SFA na fração neutra do fígado quando comparados aos híbridos. Os MUFAs (tabela 08) do grupo cachara apresentaram uma queda significativa no 45º DAF, causada pelo 18:1n9, enquanto os híbridos apresentaram somente diferenças quando comparado com os cacharas no 39º DAF, momento em que a porcentagem de MUFAs da fração neutra hepática dos cacharas foi mais elevada que dos híbridos (figura 23B). Os PUFAs (tabela 08) da fração neutra do fígado não apresentaram diferenças significativas entre



os grupos nessa fase (figura 24C) e neste tecido também foi verificado maior perfil dos PUFA n6 em relação aos n3 (tabela 08).

Em relação ao encéfalo (tabela 09) podemos observar que o perfil de SFA e PUFA apresentaram as maiores porcentagens e quando analisados isoladamente não diferiram ao longo do desenvolvimento e nem entre os grupos (figuras 25A e C). Já os MUFAs (tabela 09) de ambos os grupos apresentaram diferenças significativas, sendo que a porcentagem destes ácidos graxos diminuiu nos encéfalos dos cacharas e híbridos no 39º DAF e na coleta seguinte manteve o mesmo padrão. Destaca-se aqui que aos 39 DAF a concentração de MUFAs na fração neutra do encéfalo de híbridos foi mais elevada que dos cacharas (figura 25B). Os PUFA foram muito similares entre os grupos ao longo das coletas. Em contrapartida ao perfil de n6 e n3 do fígado, o encéfalo apresentou altas porcentagens de ácidos graxos n3 em relação aos n6 (tabela 09).

O músculo apresentou perfil similar SFA ao longo do desenvolvimento com apenas uma diferença significativa no 39º DAF (figura 26A e tabela 10), quando os híbridos apresentaram porcentagens inferiores aos cacharas, sendo o 16:0 e 18:0 os ácidos graxos com maiores valores percentuais. O perfil dos MUFA foi bastante similar ao longo do desenvolvimento, sem diferenças estatísticas entre os grupos (figura 26B). O perfil dos PUFA também não apresentou diferença significativa ao longo do desenvolvimento (tabela 10). O perfil de n3 e n6 do músculo segue o padrão obtido no fígado com maior porcentagem dos PUFA n6 em relação aos n3.

#### **4.3.2. Fração Polar**

Agora serão abordados os valores referentes à fração polar (fosfolípidos) das larvas de ambos os grupos, que corresponde aos ácidos graxos de membrana (estruturais).

Durante a fase de ovo fertilizado (figuras 27A, B e C) observamos um padrão com alta similaridade entre os grupos em relação às 3 classes de ácidos graxos (SFA, MUFA e PUFA) da fração polar. Os principais ácidos graxos saturados foram o 16:0 e 18:0, MUFA foram 18:1n9 e 18:1n11,

enquanto o PUFA com maior percentual foi o 22:6n3 e permanecendo os n3 com percentuais mais elevados que os n6 (tabela 11).

Ainda com relação a fase de ovo fertilizado (figura 27A, B e C) o perfil de ambos grupos não apresentou nenhuma diferença significativa para nenhuma das classes de ácidos graxos, sempre com o perfil muito similar entre os dois grupos, porém com uma diferença em relação ao que foi visto até agora, uma vez que a porcentagem de ácidos graxos PUFA n3 é maior em relação aos n6 somente nas primeiras 8 HAF, e nas 16<sup>o</sup> HAF os maiores percentuais são de n6 para ambos os grupos.

Com relação aos animais recém eclodidos (24 HAF) (tabela 12, figuras 28 A, B e C) podemos verificar um padrão similar ao descrito para as primeiras 16 horas do desenvolvimento. Entretanto nas 24 HAF (momento da eclosão) a porcentagem de SFA nos animais do grupo híbrido é mais elevada que nos animais do grupo cachara (tabela 12, figura 28A), permanecendo assim como nos SFA anteriores, com uma predominância do 16:0 e 18:0 como principais SFA, do MUFA, o 18:1n9, e do PUFA, o 22:6n3, 20:4n6, 18:2n6 e 20:3n6. E de uma forma geral os PUFA n6 apresentaram porcentagens mais elevadas em relação aos n3 (tabela 12).

No período compreendido entre 2 e 6 DAF não foram encontradas diferenças na porcentagem de SFA ao longo do desenvolvimento (tabela 13).. Os MUFAs se elevaram do 2<sup>o</sup> para o 3<sup>o</sup> DAF nos dois grupos, e em seguida decaíram novamente, sendo diferentes estatisticamente (tabela 13). A elevação foi devida às variações ocorridas no 16:1, 17:1 e 18:1n11. Além disso, no 4<sup>o</sup> DAF os animais do grupo híbrido apresentaram maior porcentagem de MUFA que os cacharas (figura 29 B). Os PUFAs (tabela 13) apresentaram um perfil inverso aos MUFAs, diminuindo aos 3 DAF nos híbridos e retornando posteriormente aos valores iniciais. Já nos cacharas, entre o 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> DAF houve um incremento na porcentagem de PUFAs, que se manteve até o 6<sup>o</sup> DAF. Os principais ácidos graxos que sofreram alterações foram o 22:6n3 e o 20:3n6. A relação n3/n6 variou em torno de 1,0 durante essa fase (tabela 13). Os PUFAs não apresentaram variações entre os 2 grupos neste período (figura 29C).

O perfil de SFA e PUFAs não variou entre o 7<sup>o</sup> e 25<sup>o</sup> DAF (tabela 14). Já os MUFAs sofreram uma redução gradual entre o 7<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> DAF nos cacharas, não se alterando nos híbridos. A comparação do perfil de ácidos graxos entre

os grupos experimentais mostra uma maior porcentagem de PUFAs na fração polar dos híbridos aos 25 DAF em relação aos cacharas (figura 30 C), sem diferenças entre os SFA (figura 30 A) e MUFAs (figura 30 B) entre os grupos. Nessa fase, os PUFAs corresponderam à maior porcentagem de ácidos graxos na fração polar, sendo que os n3 estiveram presentes em maior porcentagem em relação aos n6 (tabela 14).

No tecido hepático dos alevinos não foram detectadas diferenças na porcentagem de SFA ao longo do desenvolvimento (tabela 15) e apenas os animais do grupo cachara apresentaram variações na porcentagem de MUFA que diminuíram entre o 32 e 39 DAF e de PUFAs que se elevaram gradativamente entre 32 e 45 DAF também nos cacharas (tabela 15). Comparando-se os diferentes grupos (figuras 31 A, B e C) não foram encontradas diferenças significativas.

Com relação ao encéfalo dos juvenis de ambos os grupos não foi observada nenhuma diferença significativa para nenhuma das classes de ácidos graxos, com os percentuais variando e se alternando, e a porcentagem de n3 permanecendo superior aos n6 no tecido encefálico desses animais (figuras 32A, B, C e tabela 16).

E por fim os valores percentuais de SFA, MUFA e PUFA do músculo também não variaram ao longo do tempo (tabela 17), porém apresentaram uma variação significativa nos MUFA no dia 32 após a fertilização, quando os animais do grupo cachara apresentaram maiores porcentagens destes ácidos graxos em relação aos híbridos (figura 33B). A porcentagem de SFA e PUFAs foi mantida constante entre os dois grupos (figura 33A e C). Vale ressaltar que os PUFA também foram os que apresentaram maiores porcentagens durante essa fase, no tecido muscular desses animais, o que se esperava uma vez que a quantidade de PUFA na fração polar era um resultado previsto pelas características estruturais que esta classe de ácidos graxos possui (tabela 17).

#### 4.4. Enzimas Digestórias

Foi detectada hidrólise de quatro proteases, sendo a protease inespecífica em dois diferentes pHs (conforme descrito na metodologia), e as outras duas a tripsina e quimiotripsina.

Os resultados das enzimas digestórias serão discutidos de duas diferentes formas. Inicialmente os resultados serão apresentados expressando a atividade enzimática dividida pela concentração de proteína contida no tecido analisado. Esta forma é a mais utilizada para se expressar a atividade de enzimas digestórias. Quando analisamos larvas, a forma mais correta de se expressar a atividade é por unidade de indivíduos, forma esta que será apresentada posteriormente.

O principal problema em se expressar a atividade enzimática das larvas pela concentração de proteínas teciduais está no fato de que com o avanço da ontogênese os animais tendem a elevar sua concentração de proteínas nos tecidos, e com isso, podem influenciar a atividade enzimática, mascarando a atividade. Mesmo que a concentração das proteínas não esteja aumentando, as concentrações podem apresentar flutuações, que poderiam, como dito anteriormente mascarar a verdadeira atividade específica.

Os dados de massa corpórea utilizados no presente trabalho foram obtidos com larvas que seriam utilizadas para as análises histológicas, ou seja, os dados não se referem a massa corpórea dos indivíduos no momento da coleta. Com isso, podem ter ocorrido dois problemas metodológicos com os dados que serão apresentados: inicialmente as larvas que passaram pelos métodos rotineiros de histologia (fixação em Bouin acético e manutenção em álcool 70%), podem ter se desidratado. Outro problema encontrado foi que não foi possível obter essas informações a partir das larvas que estavam congeladas, pois quando estas foram descongeladas apresentaram lises teciduais, tornando difícil a identificação de quantos indivíduos estavam nas amostras pesadas. Por isso, optou-se por utilizar as larvas armazenadas para as análises histológicas, mesmo correndo risco de sofrer alguma alteração de sua massa. Entretanto, durante a obtenção da massa corpórea foram adotados

os mesmos procedimentos visando minimizar o erro metodológico, buscando uma padronização dos dados de massa.

Inicialmente serão abordados os resultados da atividade enzimática que foram expressos por miligrama de proteína e em seguida os dados de atividade expressos por unidade de larva.

#### **4.4.1. Protease Inespecífica**

A hidrólise ácida (pH 2,0) da protease inespecífica apresentou para ambas espécies os menores valores ao longo da ontogênese em relação às outras enzimas. Os valores obtidos para as larvas de cachara e híbridos foram muito próximos de zero até o sétimo dia após a fertilização e somente apresentou valores mais elevados a partir do décimo dia após a fertilização (figuras 34A, B e C). Durante esse período nenhuma diferença significativa foi observada. Apenas no décimo dia após a fertilização os grupos diferiram entre si (figura 34D) A atividade para ambos os grupos apresentaram o mesmo padrão ao longo dos 25 primeiros DAF, com pequenas flutuações.

No estômago a hidrólise ácida da protease inespecífica apresentou os maiores valores, com os grupos apresentando potencial hidrolítico similar. Apenas uma diferença significativa foi observada no 45° DAF, embora os valores aparentemente estivessem no mesmo patamar (figura 35A).

No intestino a hidrólise ácida atingiu valores extremamente baixos, sem diferença significativa, resultado esse esperado uma vez que a hidrólise ácida é esperada sempre no estômago e não na região intestinal (figura 35B).

Mesmo com a atividade enzimática expressa por unidade de larva, os valores apresentados para a protease inespecífica no pH ácido foram muito baixos e em alguns casos foram abaixo de zero (figura 36A). Nas horas seguintes as larvas de cachara e híbridas apresentaram uma tendência de elevação nos seus valores até as 40 HAF (figura 36B). Do 2° até o 6° DAF as larvas de cachara elevaram sua atividade enzimática, e embora tenham apresentado uma queda significativa para zero do 3° para o 4°, os valores voltam a se elevar no 5° DAF, permanecendo neste patamar (figura 36C). No mesmo período o grupo híbrido apresentou atividade somente nos dias 2 e 6 após a fertilização, resultado intrigante apresentado pelo grupo (figura 36C). É

importante ressaltar que os valores encontrados são extremamente baixos e muito próximos de zero, que permite afirmar que são quase inexpressivos.

Do 7º ao 9º DAF, os valores continuam bem próximos de zero, porém a partir do 15º até o 25º DAF as larvas de ambos os grupos apresentaram valores crescentes (figura 36D), que quando aliados aos parâmetros morfológicos se justificam, pois nesse momento o estômago está plenamente ativo.

A hidrólise básica (pH 8,0) foi detectada a partir da fase de oócito fertilizado (figura 37A e B) e permaneceu com valores crescentes até o 6º DAF, sempre com os maiores valores sendo apresentados para o grupo híbrido. Durante esse período a única diferença significativa encontrada foi no 5º DAF (figura 37C). Do 7º DAF em diante os valores da atividade apresentaram uma queda constante até o 25º DAF, embora o grupo híbrido ainda tenha apresentado maiores valores de hidrólise (figura 37D). Durante esse período (figura 37D) foram encontradas três diferenças significativas nos 15º, 20º e 25º DAF.

No estômago foram encontrados valores surpreendentes para a hidrólise básica da protease inespecífica, pois o padrão de hidrólise encontrado foi relativamente alto para um tecido onde a atividade predominante é ácida. Nesse caso, os valores maiores foram apresentados pelo grupo cachara em relação ao grupo híbrido, incluindo diferenças significativas nas três coletas realizadas (32º, 39º e 45º DAF) (figura 38A).

No intestino a atividade proteolítica se mostrou conforme o esperado, pois o tecido analisado apresenta maior atividade proteolítica nesse pH ensaiado. O padrão de atividade também se mostrou similar para ambos os grupos, embora nenhuma diferença significativa tenha sido observada e os valores tenham apresentado flutuações entre os grupos (figura 38B).

Conforme explicitado no início dos resultados, agora serão abordados os resultados da atividade expressos por unidade de larva.

A atividade da protease inespecífica no pH básico expressa por unidade de larva, foi detectada em ambos grupos logo durante a fase de oócito e, segue com valores decrescentes até as 16 HAF (figura 39A). Das 24 HAF em diante, foi detectado perfil similar com valores crescentes até as 40 HAF (figura 39B). A partir desse ponto até o 5º DAF a atividade das larvas dos dois grupos

elevam-se consideravelmente, e no 6º DAF apresentam uma queda acentuada (figura 39C). Desse ponto até o 9º DAF os valores voltam a se elevar para ambos grupos larvais e dessa vez o grupo cachara apresenta queda até o 25º DAF e o grupo híbrido mantém os valores quase no mesmo patamar (figura 39D).

#### 4.4.2. Tripsina

A atividade das enzimas proteolíticas específicas, tripsina e quimiotripsina, foram detectadas já no oócito, e antes da fertilização e com 8HAF o grupo híbrido apresentou atividade significativamente maior que o grupo cachara (figura 40A). Com 32 HAF novamente foi verificada diferença significativa entre os grupos, novamente com o grupo híbrido com atividade mais elevada de tripsina (figura 40B). Embora ocorra essa diferença podemos observar que os grupos apresentam o mesmo padrão de atividade trípica durante essa fase que percorre desde as 24 até as 40 HAF (figura 40B).

Do 2º até o 6º DAF podemos observar variações da atividade proteolítica entre os grupos, alternando valores maiores e menores, apresentando duas diferenças estatísticas entre os grupos nos dias 5 e 6, sendo que os grupos se alteram nos valores máximos nessa fase (figura 40C).

Na figura 40D, também observamos um padrão proteolítico variável, e assim como a figura anterior, ambos os grupos apresentam alternância de valores, sendo que nessa fase ocorreram duas diferenças significativas nos dias 7 e 9 após a fertilização, na primeira o grupo cachara com maior atividade e na segunda o grupo híbrido com maior atividade.

No estômago e intestino a atividade da tripsina foi mais uma vez muito similar, com os valores encontrados muito próximos ao longo dos dias de coleta (32º, 39º e 45º) (figuras 41A e B).

Abordando agora os resultados de atividade trípica expressos por unidade de larva, vale ressaltar que estes apresentaram grande variação de erro padrão em todas as fases do desenvolvimento. Contudo, na atividade de tripsina ao longo dos 25 DAF os valores apresentados por ambos os grupos foram muito baixos, e alternavam-se entre os grupos as maiores atividades (figura 42A, B, C, D).

#### 4.4.3. Quimiotripsina

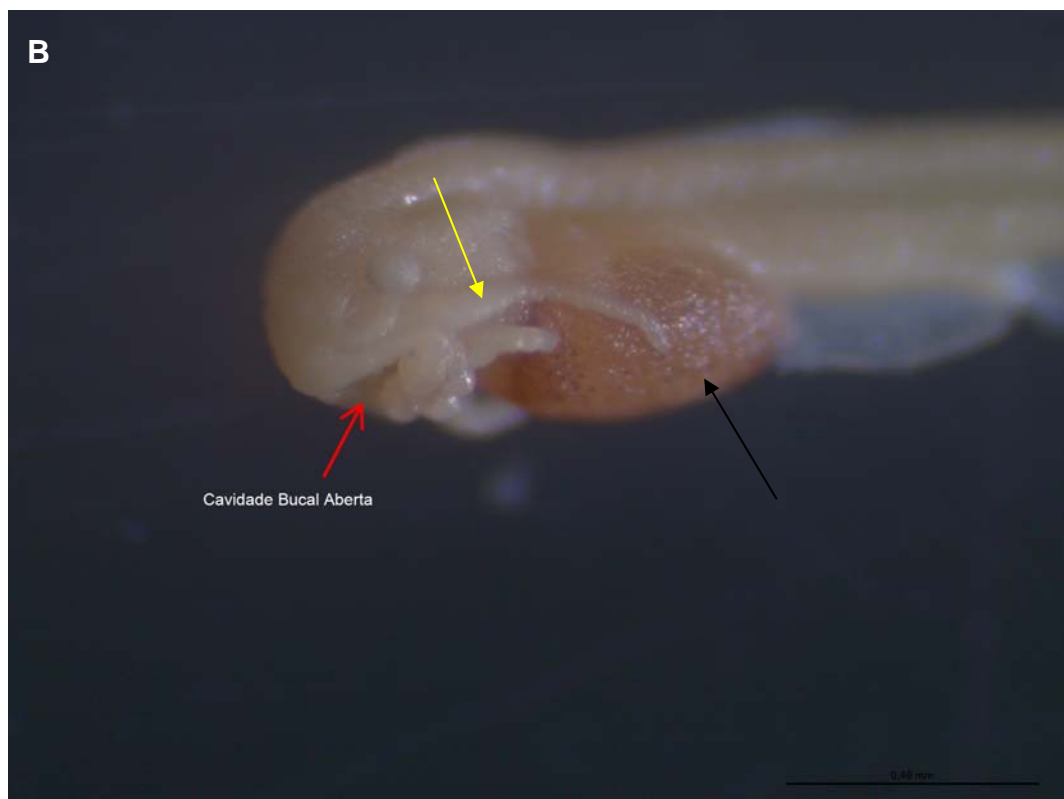
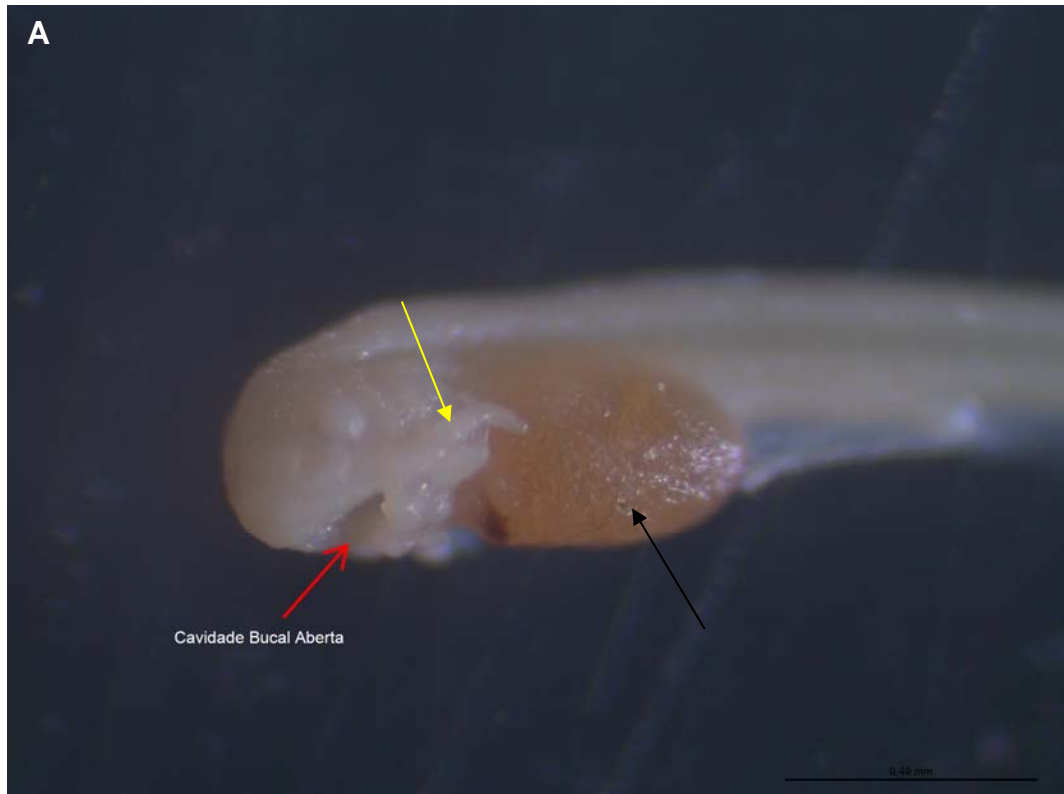
A atividade proteolítica da quimiotripsina, conforme dito anteriormente, apresentou atividade desde a fase de oócito. Durante os 25 primeiros dias (figuras 43A, B, C e D) foram encontradas poucas diferenças significativas e os valores alternaram-se entre os grupos, que de uma forma geral possuem atividade específica da quimiotripsina muito similar. No estômago (figura 44A), o grupo cachara apresentou maior atividade em relação ao grupo híbrido, com diferenças significativas nos três períodos analisados. Já no intestino a atividade foi um pouco menor, e sem nenhuma diferença estatística (figura 44B).

Abordando agora os valores das atividades de quimiotripsina expressas por unidade de larva, as larvas de ambos os grupos não apresentaram diferenças significativas entre os grupos e nem ao longo da ontogênese, e assim como a atividade de tripsina, detectamos valores muito baixos com desvios elevados e com alternância de maiores atividades entre os dois grupos experimentais (figura 45A, B, C e D).



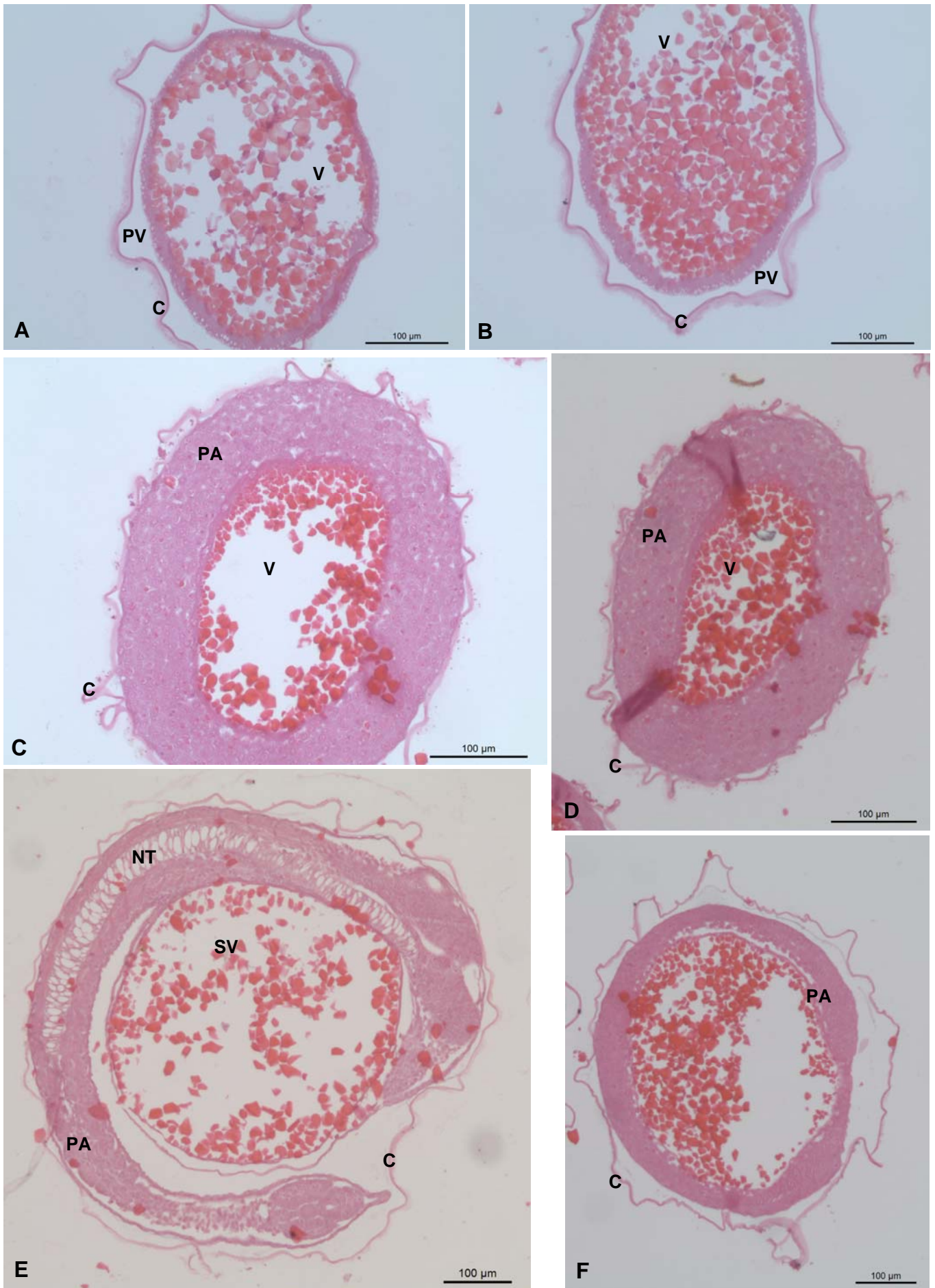
**Figura 11.** Fotos das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Larva de cachara com 3 DAF, evidenciando a abertura de boca (seta vermelha), saco vitelínico (seta preta) e barbilhão (seta amarela). **B)** Larva de híbrido com 3 DAF, evidenciando a abertura de boca (seta vermelha), saco vitelínico (seta preta) e barbilhão (seta amarela).

Figura 11



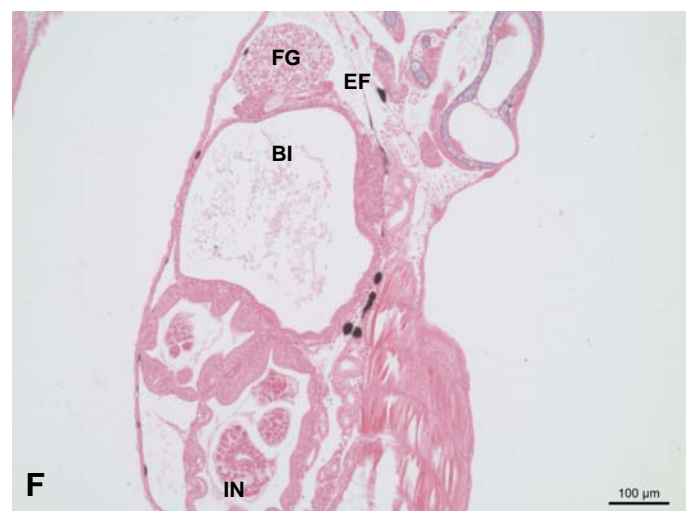
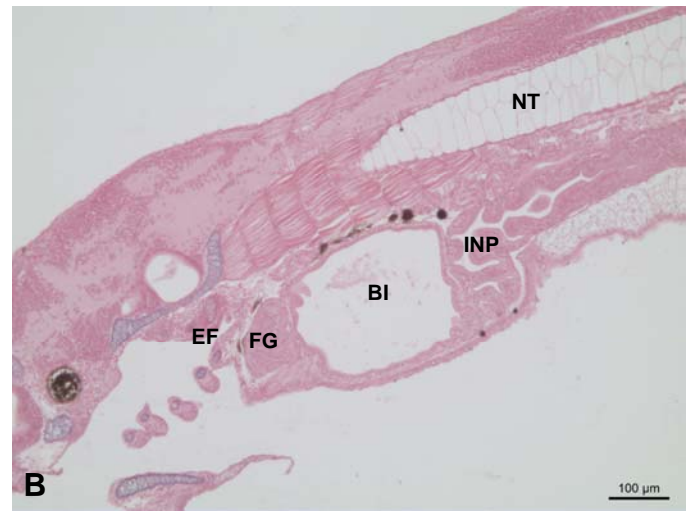
**Figura 12.** Fotomicrografias das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Oócito de larva de cachara evidenciando: Vitelo (V), espaço perivitelínico, córion (C). **B)** Oócito de híbrido evidenciando vitelo (V), espaço perivitelínico (PV), córion (C). **C)** Larva de cachara com 8 HAF (horas após a fertilização) evidenciando a formação do pólo animal (PA), córion (C) e vitelo (V). **D)** Larva de híbrido com 8 HAF (horas após a fertilização) evidenciando formação do polo animal (PA), córion (C) e vitelo (V). **E)** Larva de cachara com 16 horas após a fertilização (HAF), evidenciando formação do pólo animal (PA), formação do saco vitelínico (SV), notocorda (NT), córion (C). **F)** Larva de híbrido com 16 horas após a fertilização (HAF), evidenciando a formação do pólo animal (PA), formação do saco vitelínico (SV), córion (C). Hematoxilina e Eosina (H/E). Cortes longitudinais.

Figura 12

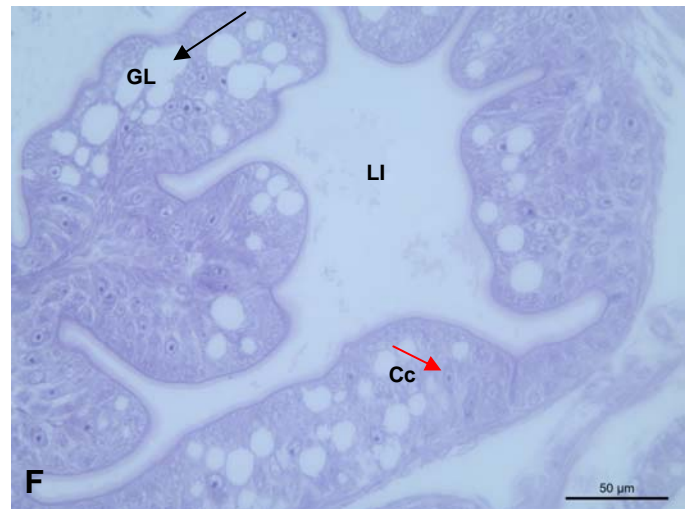
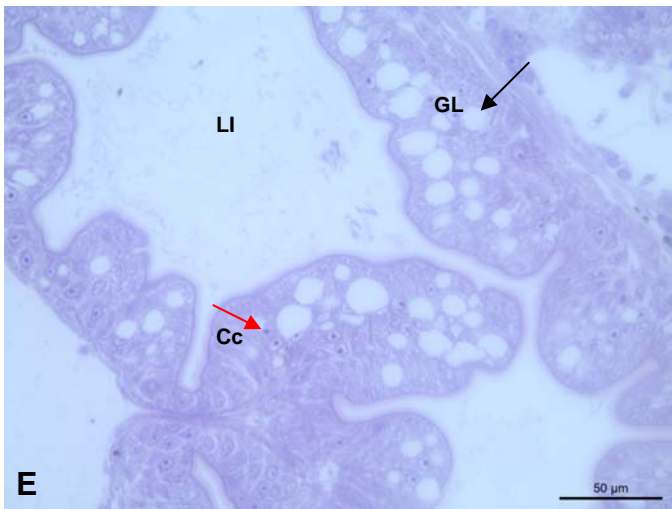
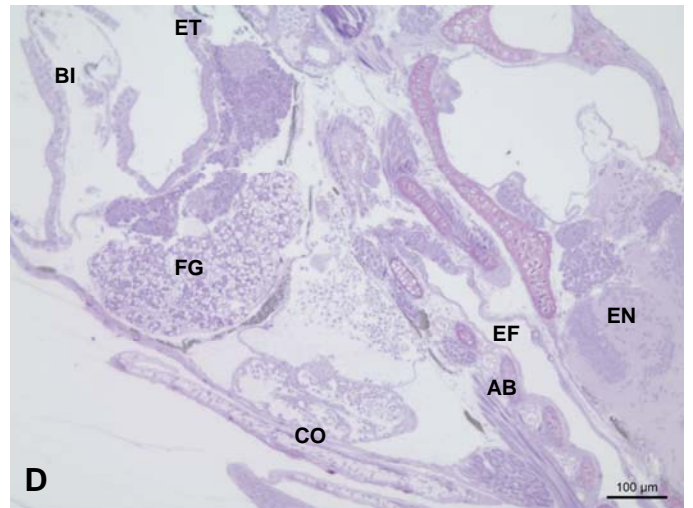
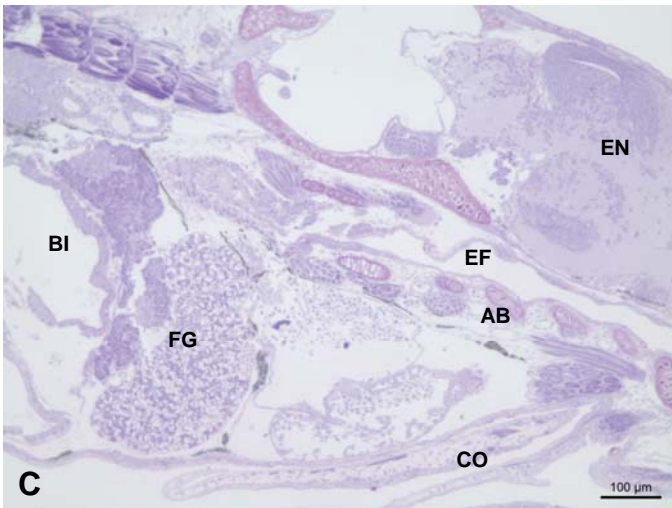
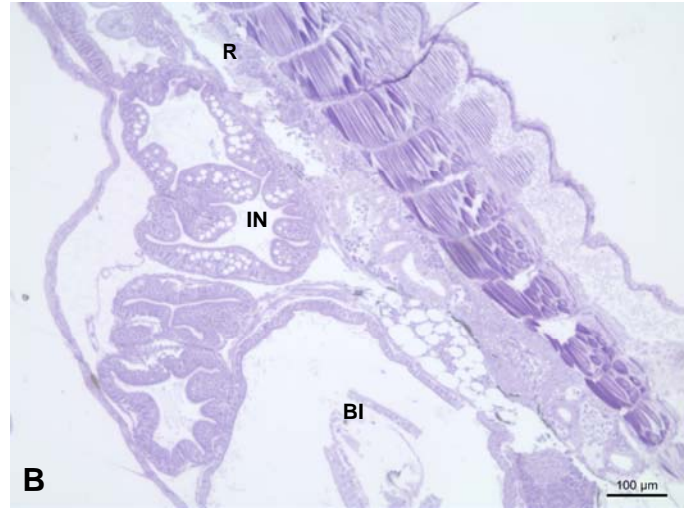
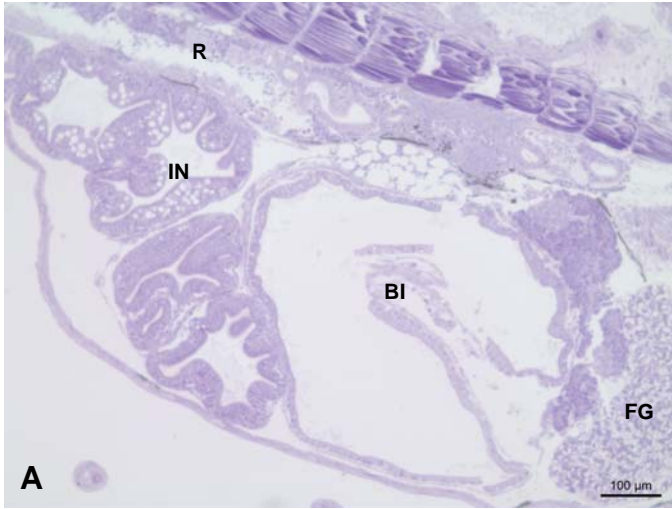


**Figura 13.** Fotomicrografias das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Larva de cachara com 3 DAF (dias após a fertilização) evidenciando surgimento de alguns dos principais órgãos do trato gastrointestinal como: Esôfago (EF), bolsa intestinal (BI), intestino proximal (IP), saco vitelínico (SV), fígado (FG), notocorda (NT). **B)** Larva de híbrido com 3 DAF (dias após a fertilização) evidenciando esôfago (EF), bolsa intestinal (BI), fígado (FG), intestino (IN) e notocorda (NT). **C)** Larva de cachara com 4 DAF (dias após a fertilização) evidenciando, esôfago (EF), estômago (ET), resquícios do saco vitelínico (SV), fígado (FG), bolsa intestinal (BI) e intestino (IN). **D)** Larva de híbrido com 4 DAF (dias após a fertilização) evidenciando esôfago (EF), estômago (ET), bolsa intestinal (BI) e fígado (FG). **E)** Larva de cachara com 5 DAF evidenciando esôfago (EF), fígado (FG), estômago (ET), bolsa intestinal (BI) e intestino (IN). **F)** Larva de híbrido com 5 DAF evidenciando esôfago (EF), fígado (FG), bolsa intestinal (BI) e intestino (IN). Hematoxilina e eosina (H/E). Cortes longitudinais.

Figura 13



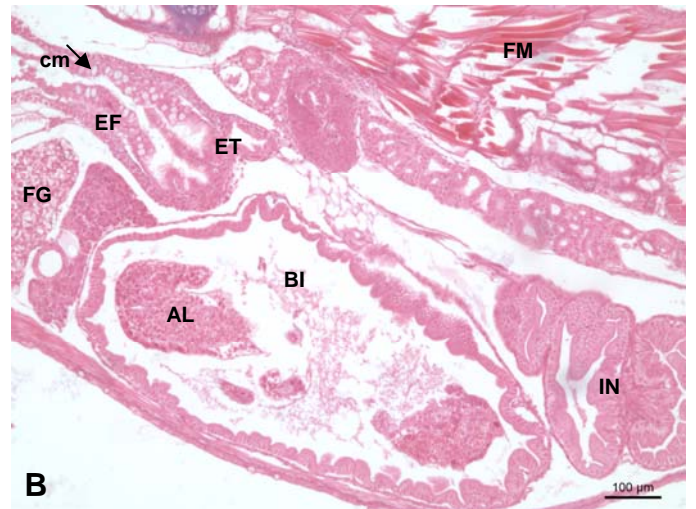
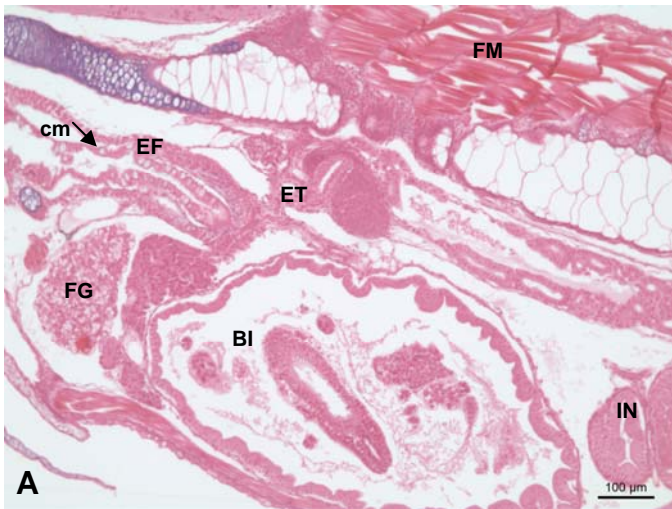
**Figura 14.** Fotomicrografias das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Larva de cachara com 7 DAF (dias após a fertilização) evidenciando fígado (FG), estômago (ET), intestino (IN), região dos rins (R). **B)** Larva de híbrido com 7 DAF evidenciando fígado (FG), estômago (ET), intestino (IN) e região dos rins (R). **C)** Larva de cachara com 7 DAF evidenciando encéfalo (EN), esôfago (EF), arcos branquiais (AB), cavidade opercular (CO) e estômago (ET). **D)** Larva de híbrido com 7 DAF evidenciando encéfalo (EN), esôfago (EF), arcos branquiais (AB), cavidade opercular (CO), fígado (FG) e estômago (ET). **E)** Larva de cachara com 7 DAF, evidenciando luz intestinal (LI), células caliciformes – setas (Cc) e gotas de lipídeos (GL). **F)** Larva de híbrido com 7 DAF, evidenciando luz intestinal (LI), células caliciformes (setas) (Cc) e gotas lipídicas (setas) (GL). Azul de toluidina e fucsina (AF). Cortes longitudinais.





**Figura 15.** Fotomicrografias das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Larva de cachara com 9 DAF (dias após a fertilização) evidenciando esôfago (EF), fígado (FG), células mucosas (cm), estômago (ET), intestino (IN) e fibras musculares (FM). **B)** Larva de híbrido com 9 DAF evidenciando fígado (FG), esôfago (EF), células mucosas (cm), estômago (ET), alimento (AL), intestino (IN) e fibras musculares (FM). Hematoxilina e eosina (H/E). Cortes longitudinais.

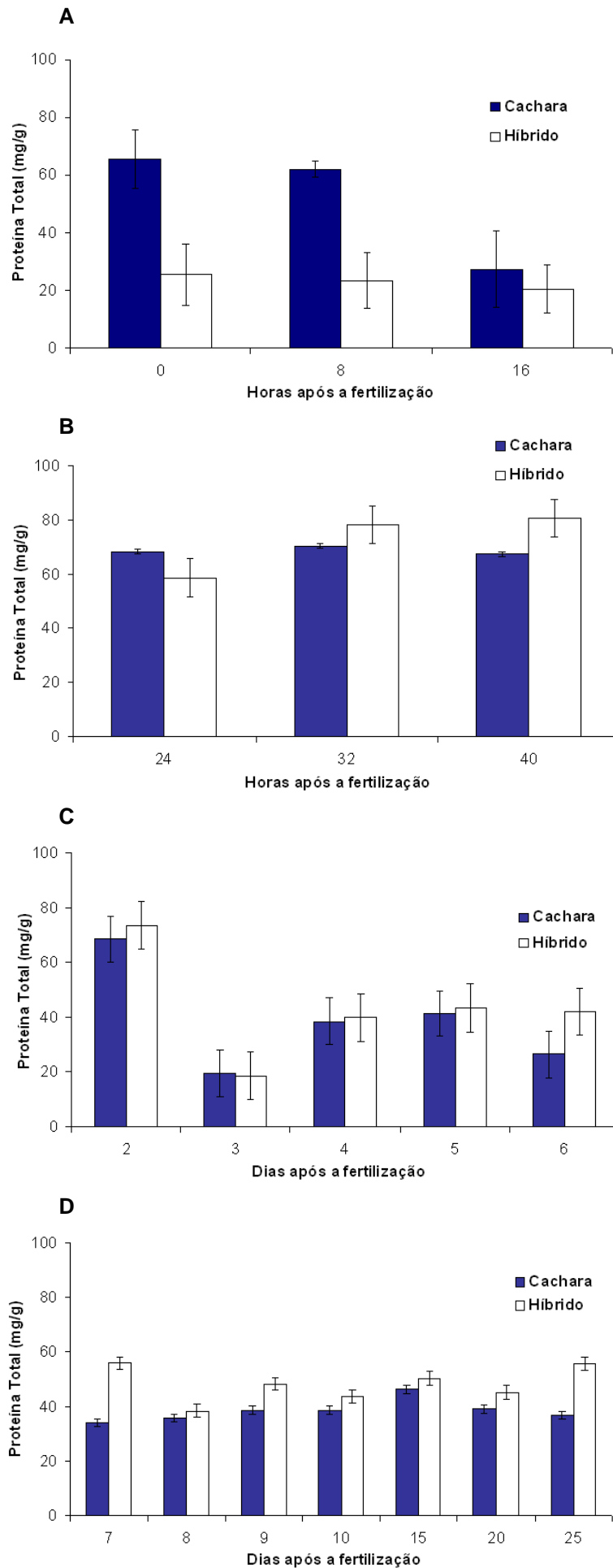
Figura 15



**Figura 16.** Proteínas Totais (miligramas de proteína/grama de tecido) das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Proteínas totais das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Proteínas totais das larvas com 24, 32 e 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Proteínas totais de larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização (DAF). **D)** Proteínas totais de larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização (DAF).

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

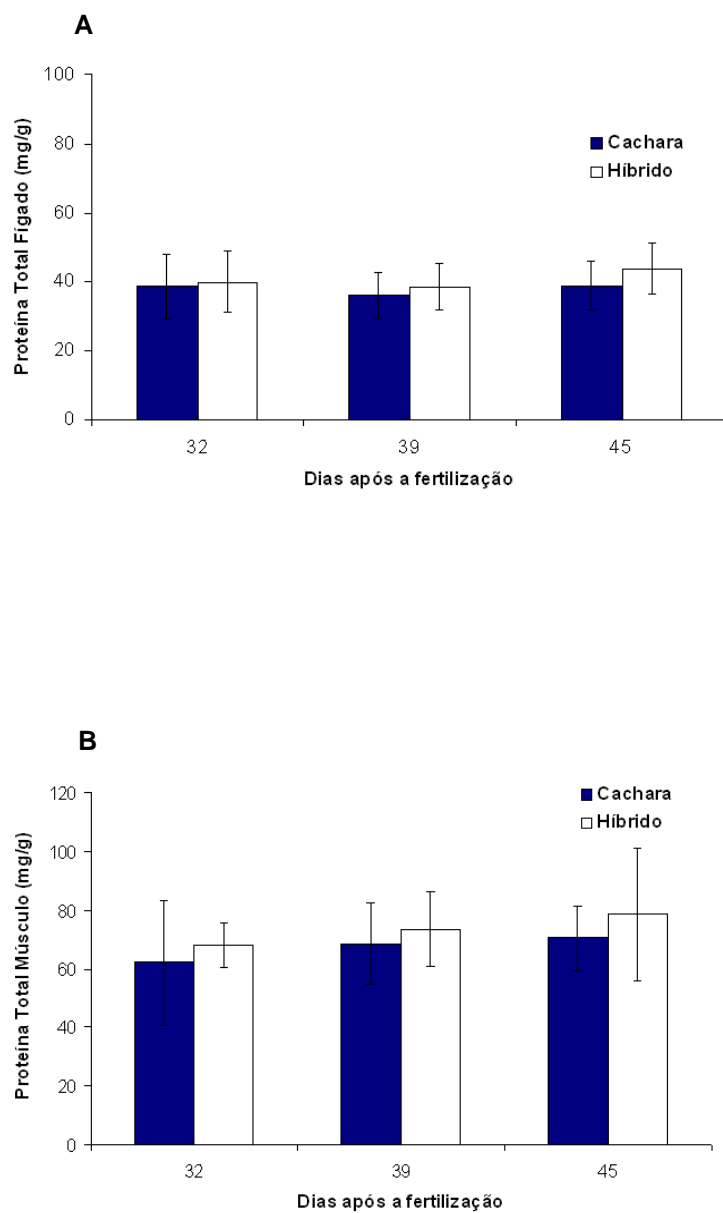
Figura 16



**Figura 17.** Proteínas Totais (miligramas de proteína/grama de tecido) do fígado e músculo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Proteínas totais do fígado dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **B)** Proteínas totais do músculo dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

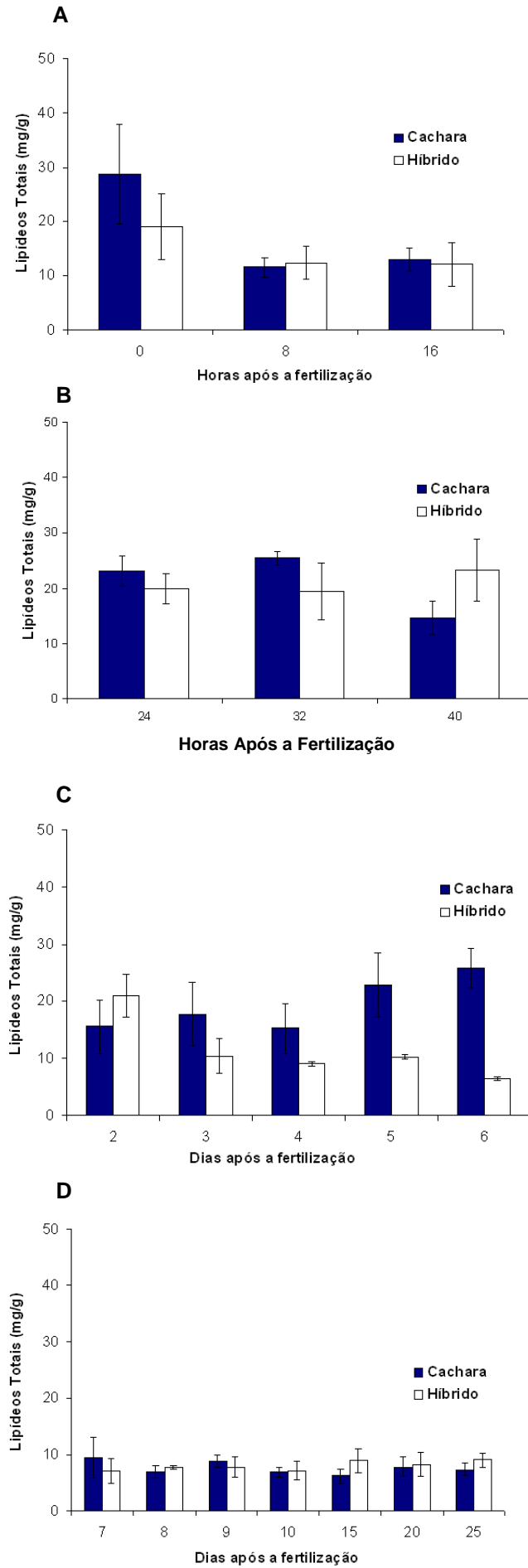
Figura 17



**Figura 18.** Lipídeos Totais (miligramas de lipídeos/ grama de tecido) das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Lipídeos totais das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Lipídeos totais das larvas com 24, 32 e 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Lipídeos totais de larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização (DAF). **D)** Lipídeos totais de larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização (DAF).

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

Figura 18

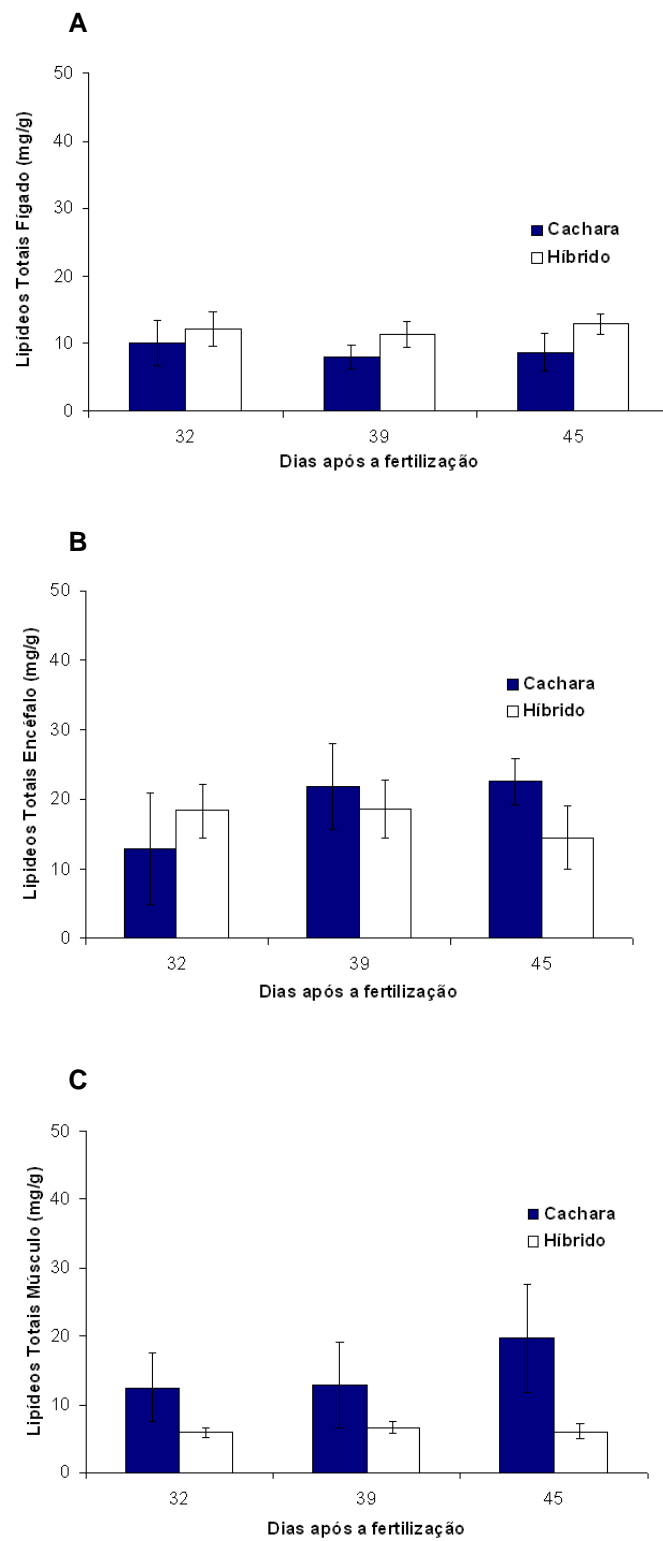




**Figura 19.** Lipídeos Totais (miligramas de lipídeos/ grama de tecido) do fígado, encéfalo e músculo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Lipídeos totais do fígado dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **B)** Lipídeos totais do encéfalo dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **C)** Lipídeos totais do músculo dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

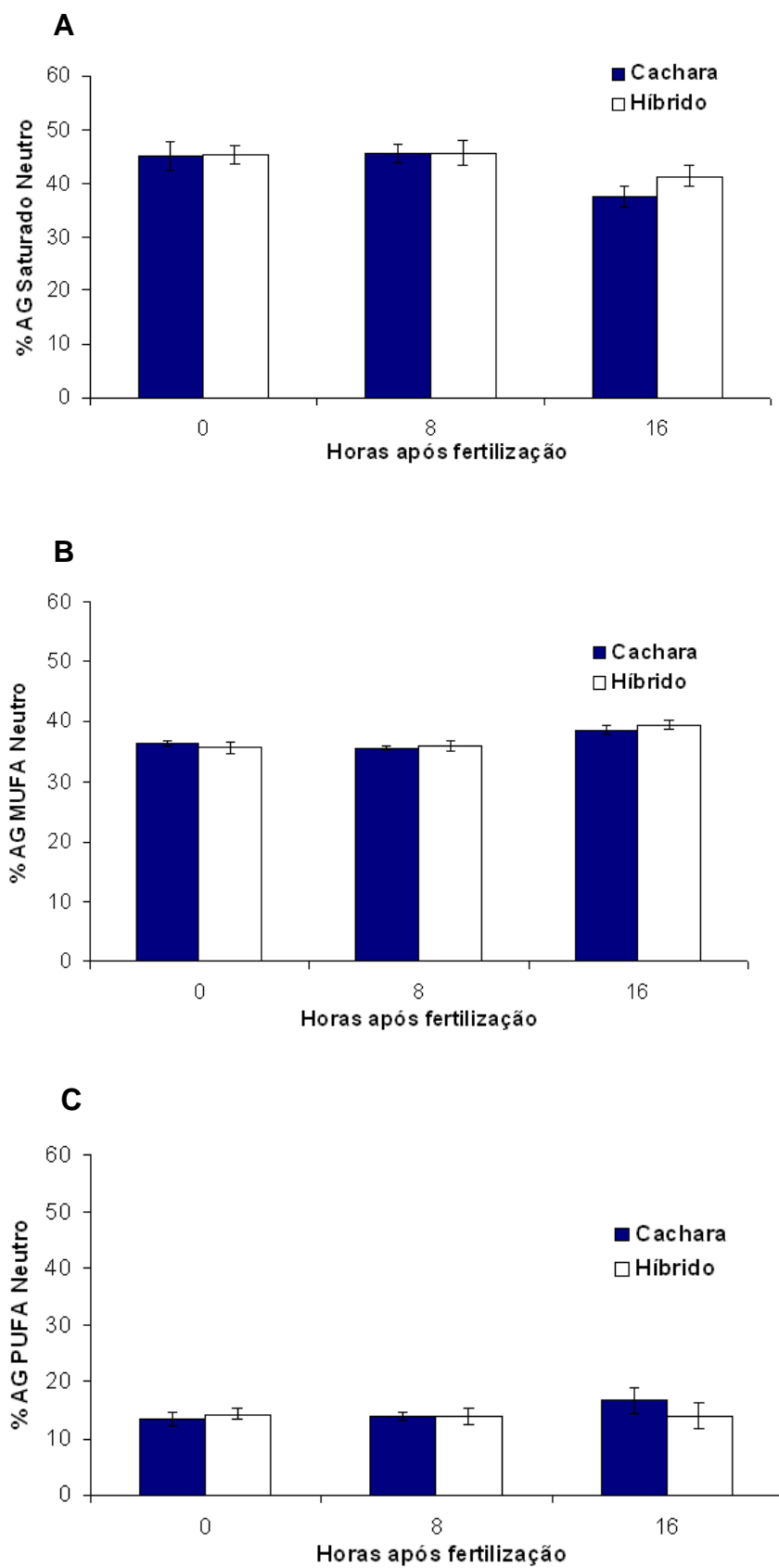
Figura 19



**Figura 20.** Porcentagens de ácidos graxos da fração neutra de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

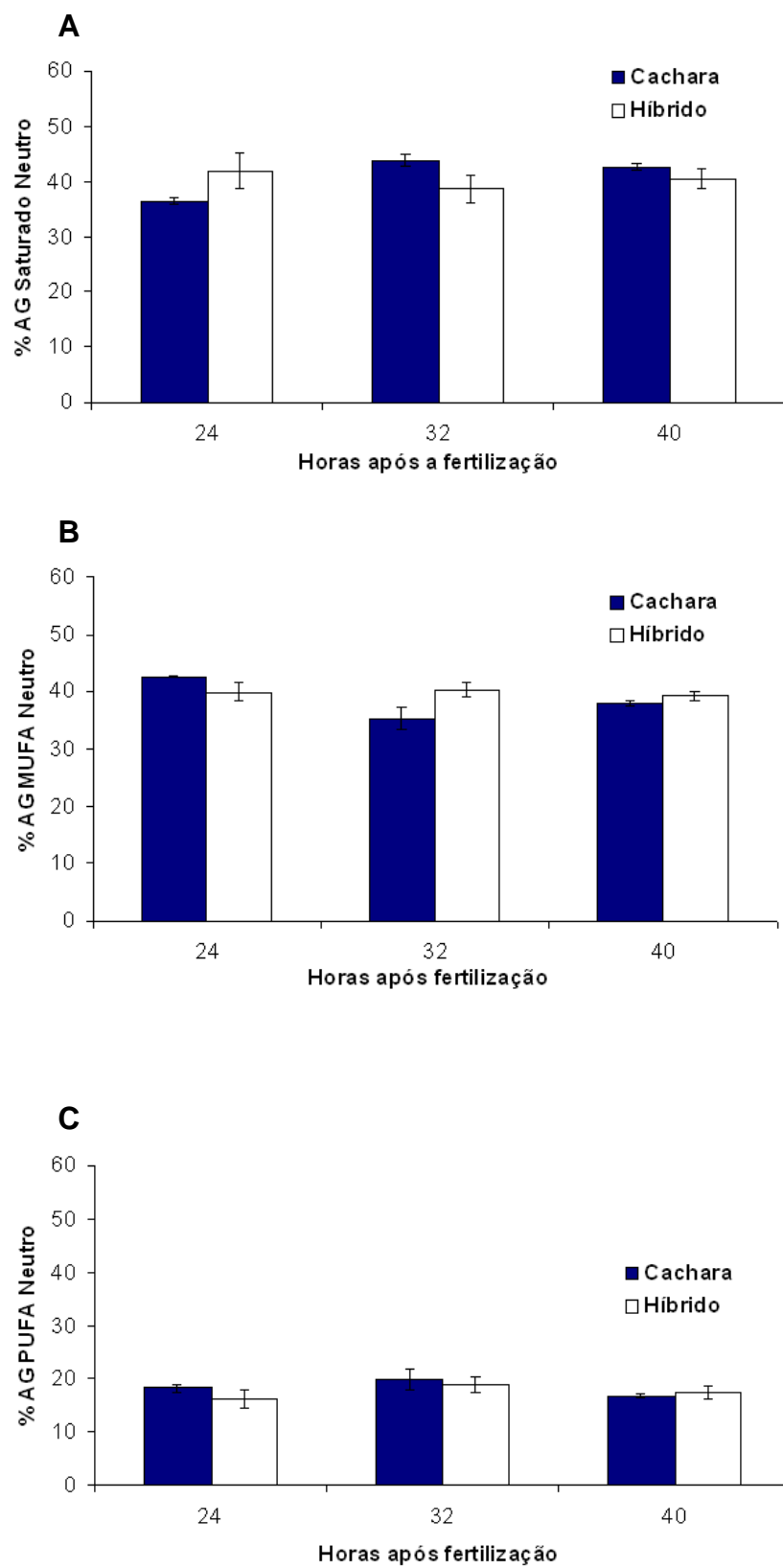
Figura 20



**Figura 21.** Porcentagens de ácidos graxos da fração neutra de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 24, 32 e 40 horas após a fertilização (HAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

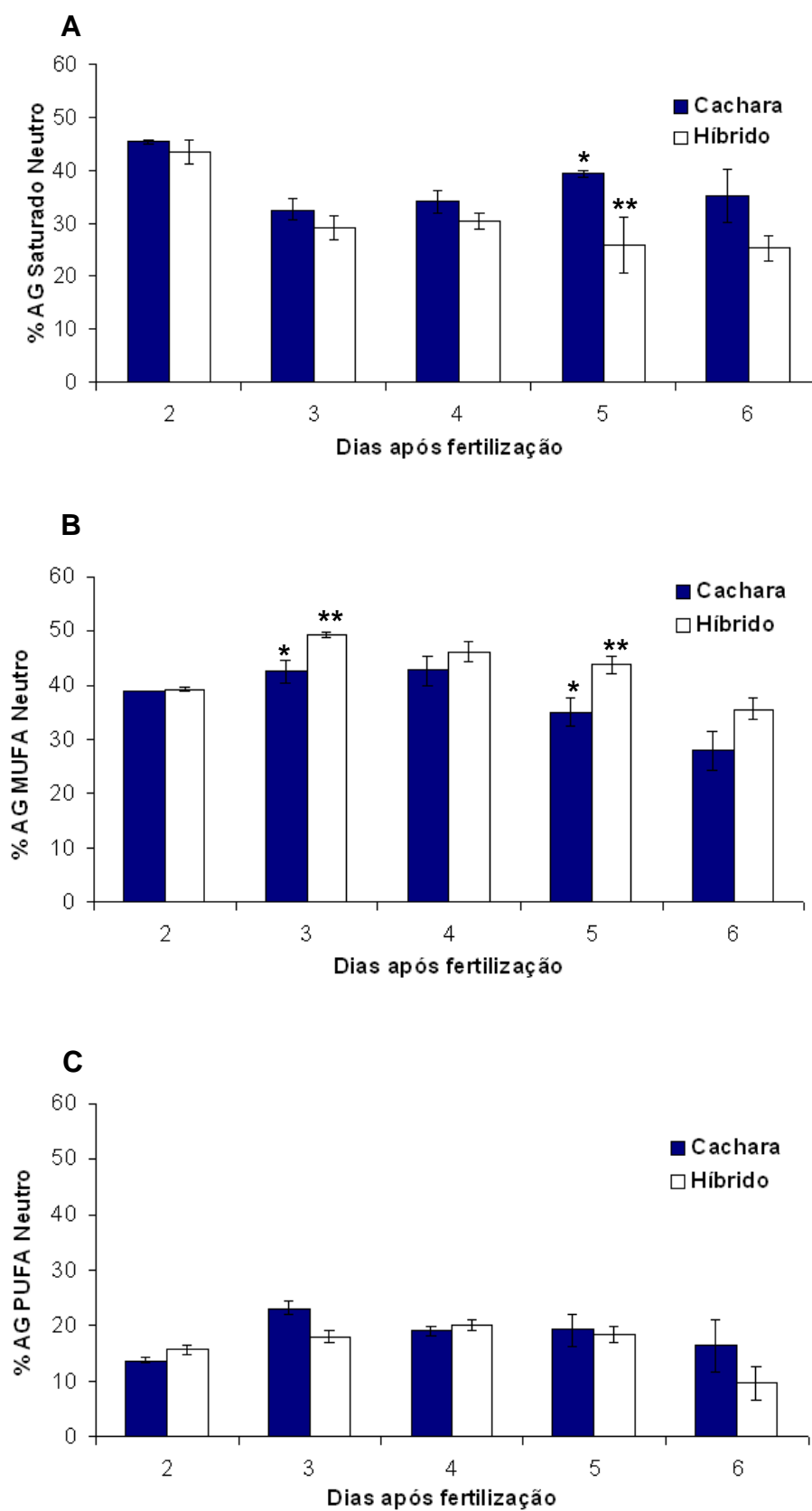
Figura 21



**Figura 22.** Porcentagens de ácidos graxos da fração neutra de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

Figura 22

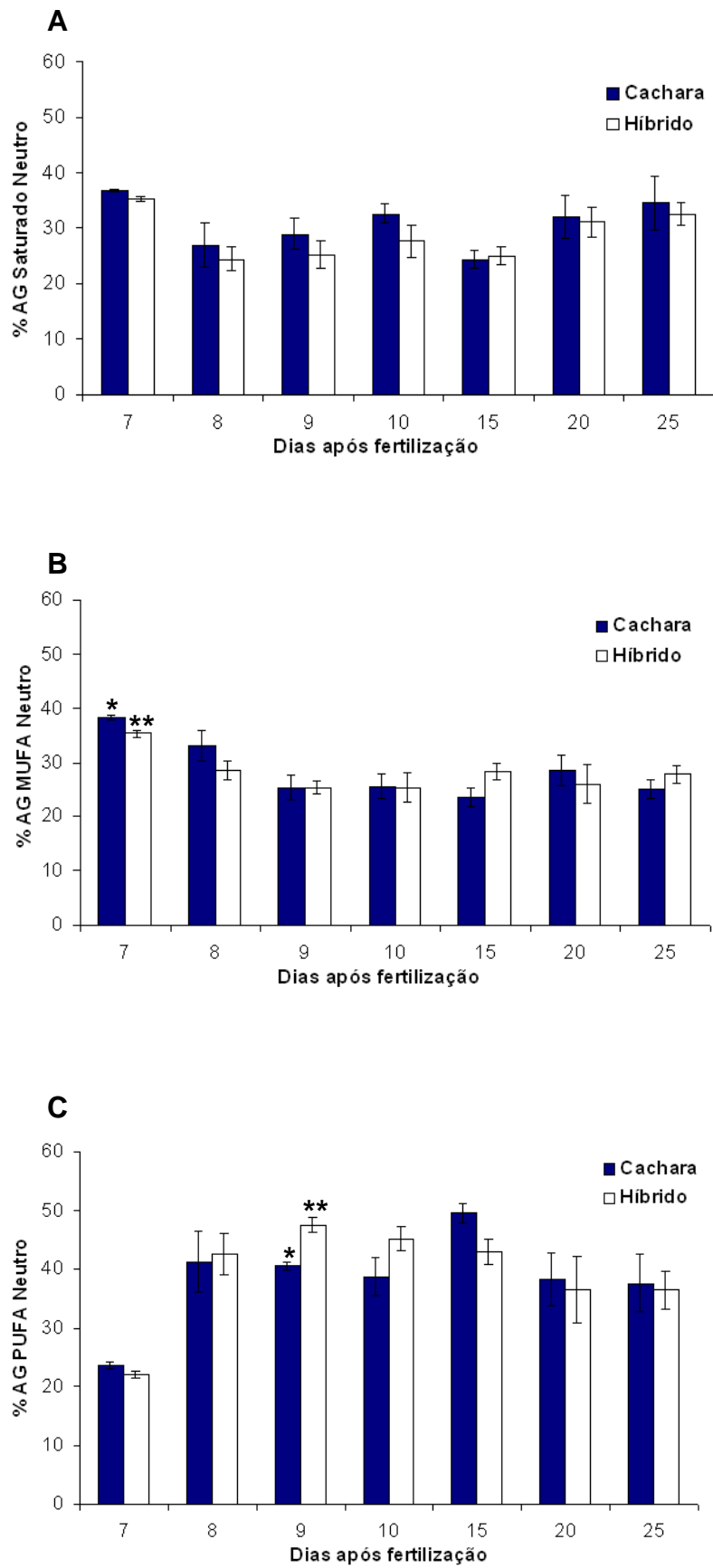




**Figura 23.** Percentagens de ácidos graxos da fração neutra de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização (DAF). **A)** Percentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Percentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Percentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

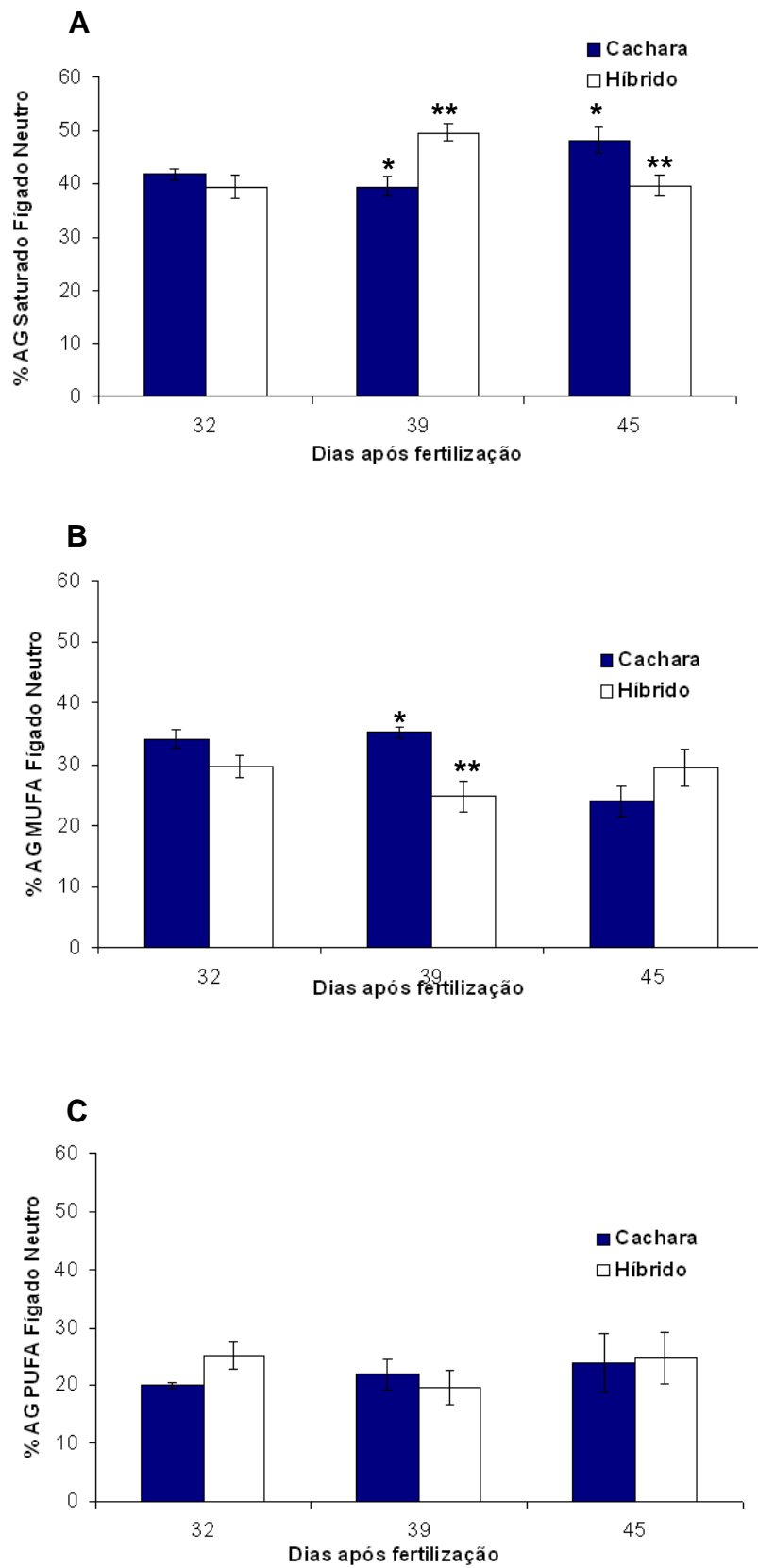
Figura 23



**Figura 24.** Porcentagens de ácidos graxos da fração neutra do fígado de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

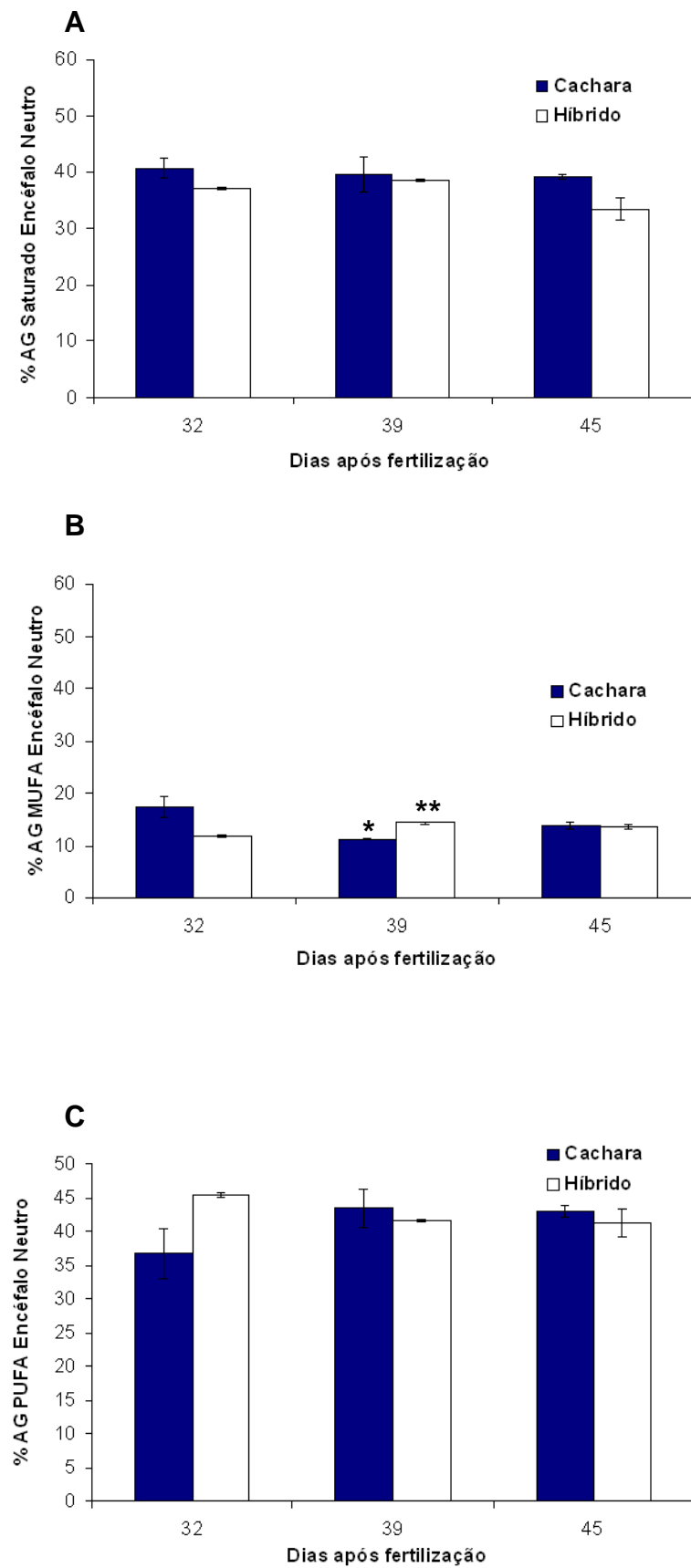
Figura 24



**Figura 25.** Porcentagens de ácidos graxos da fração neutra do encéfalo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

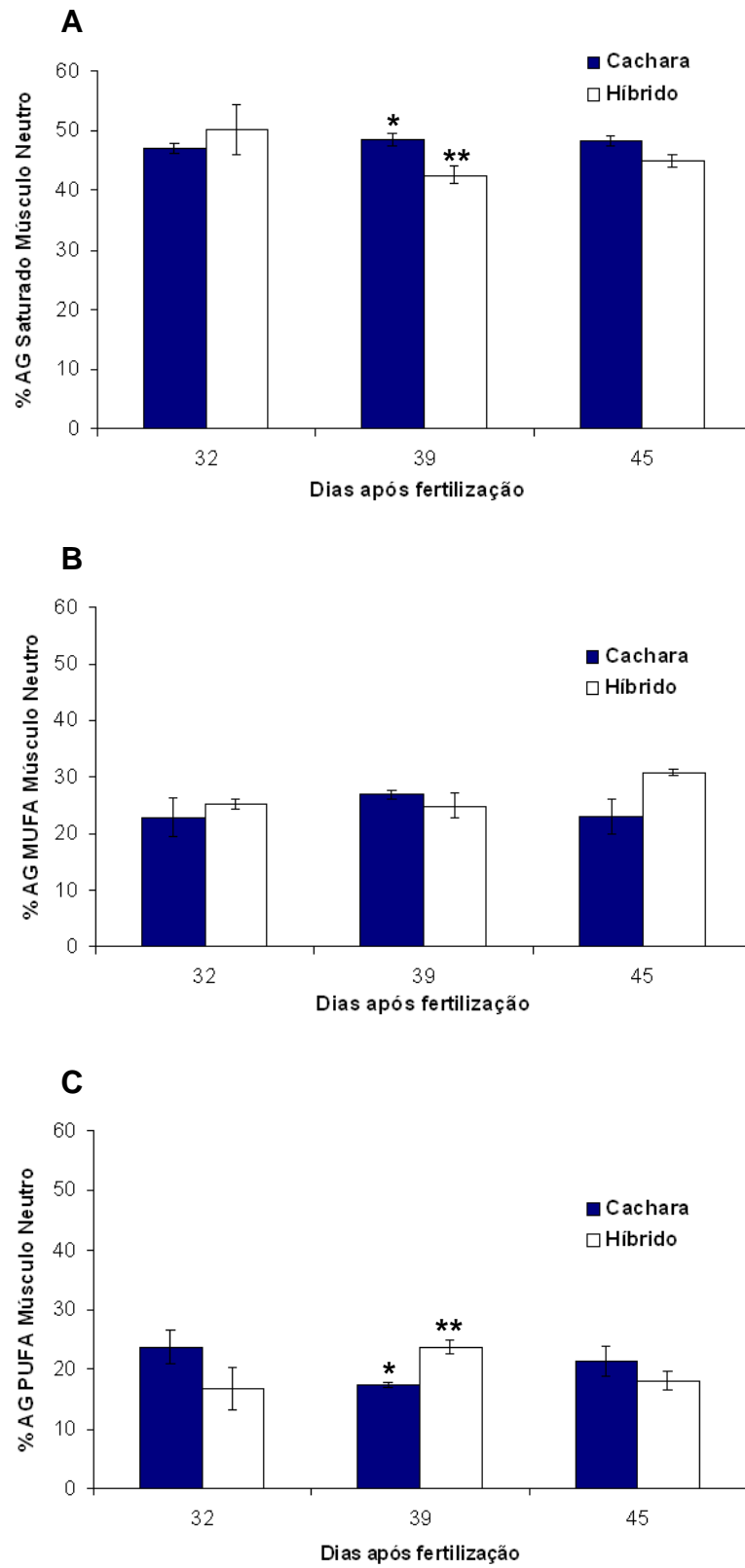
Figura 25



**Figura 26.** Porcentagens de ácidos graxos da fração neutra do músculo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

Figura 26

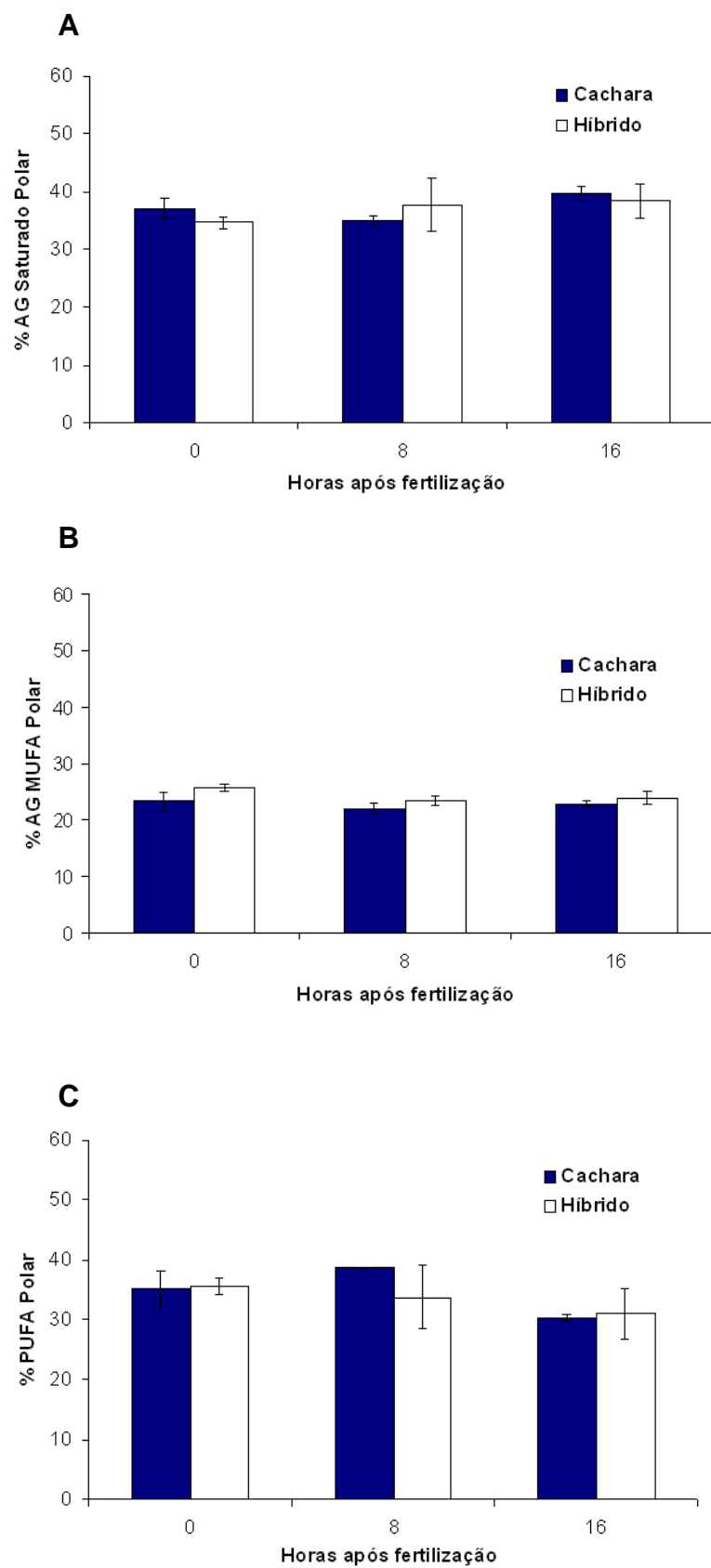




**Figura 27.** Porcentagens de ácidos graxos da fração polar de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

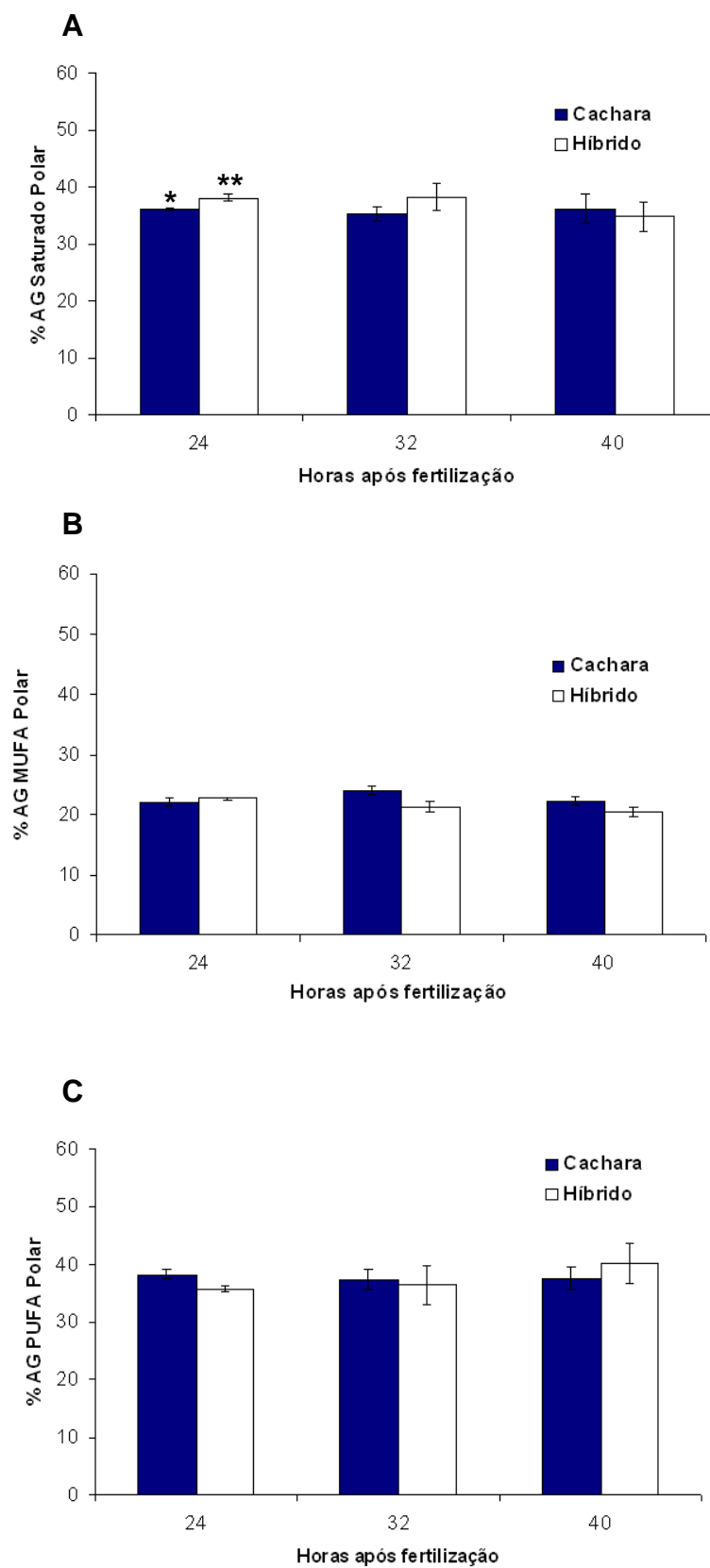
Figura 27



**Figura 28.** Porcentagens de ácidos graxos da fração polar de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 24, 32 e 40 horas após a fertilização (HAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

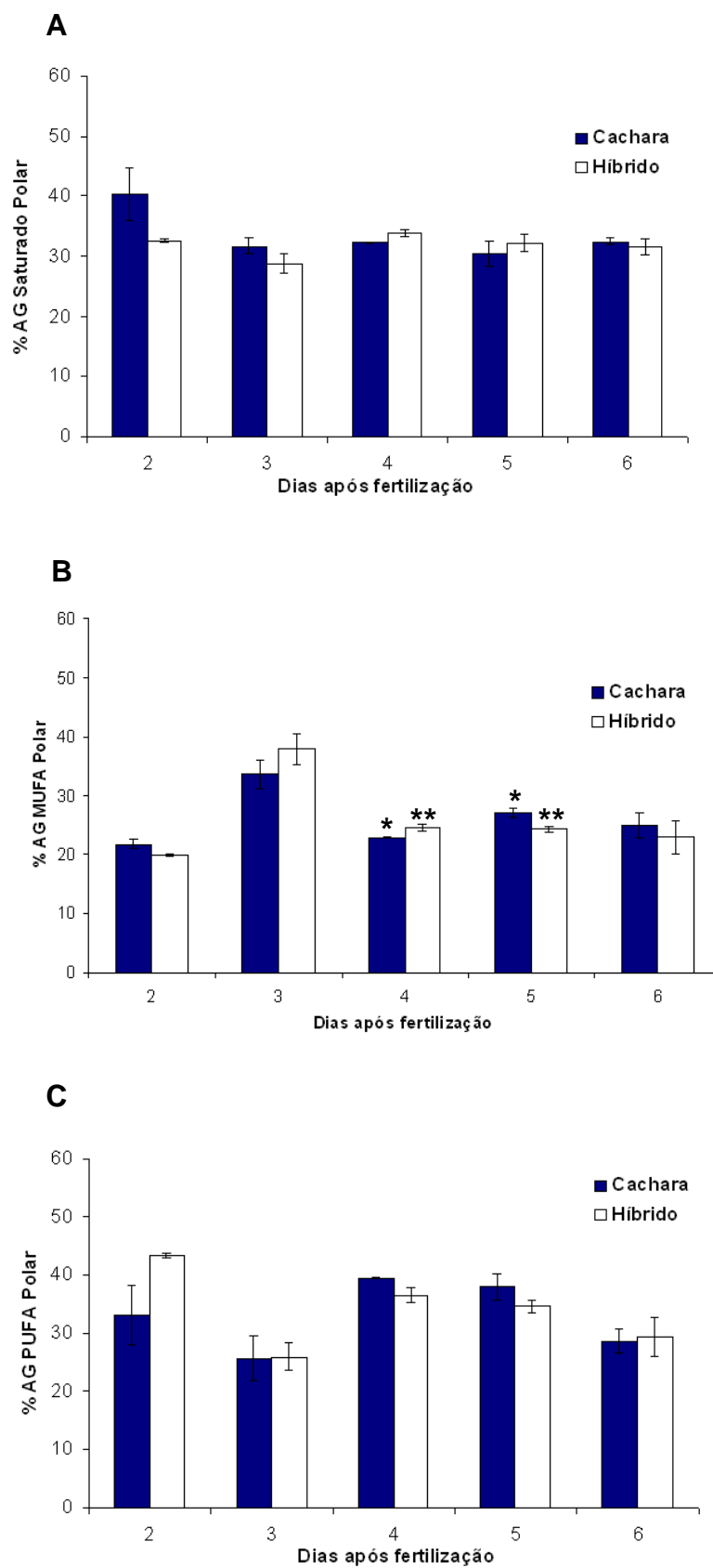
Figura 28



**Figura 29.** Porcentagens de ácidos graxos da fração polar de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

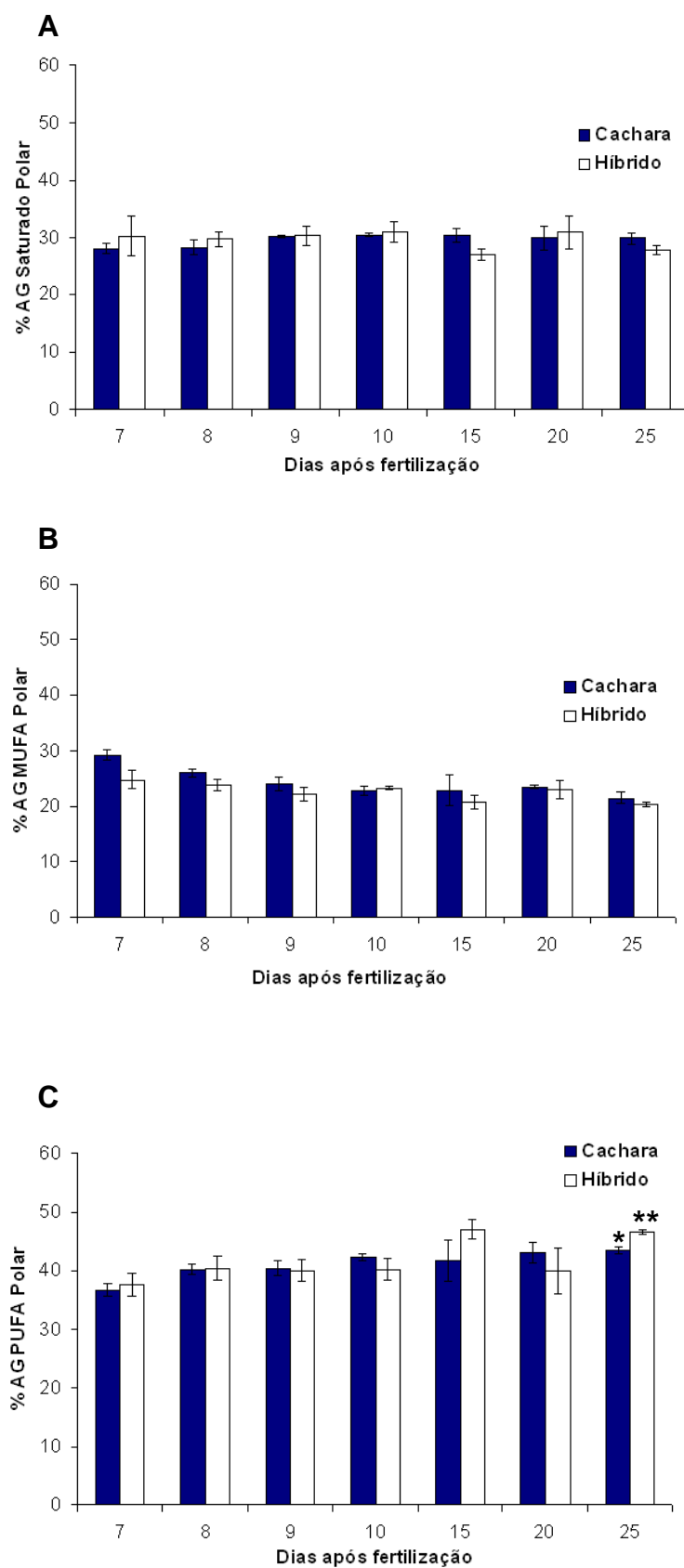
Figura 29



**Figura 30.** Porcentagens de ácidos graxos da fração polar de larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

Figura 30

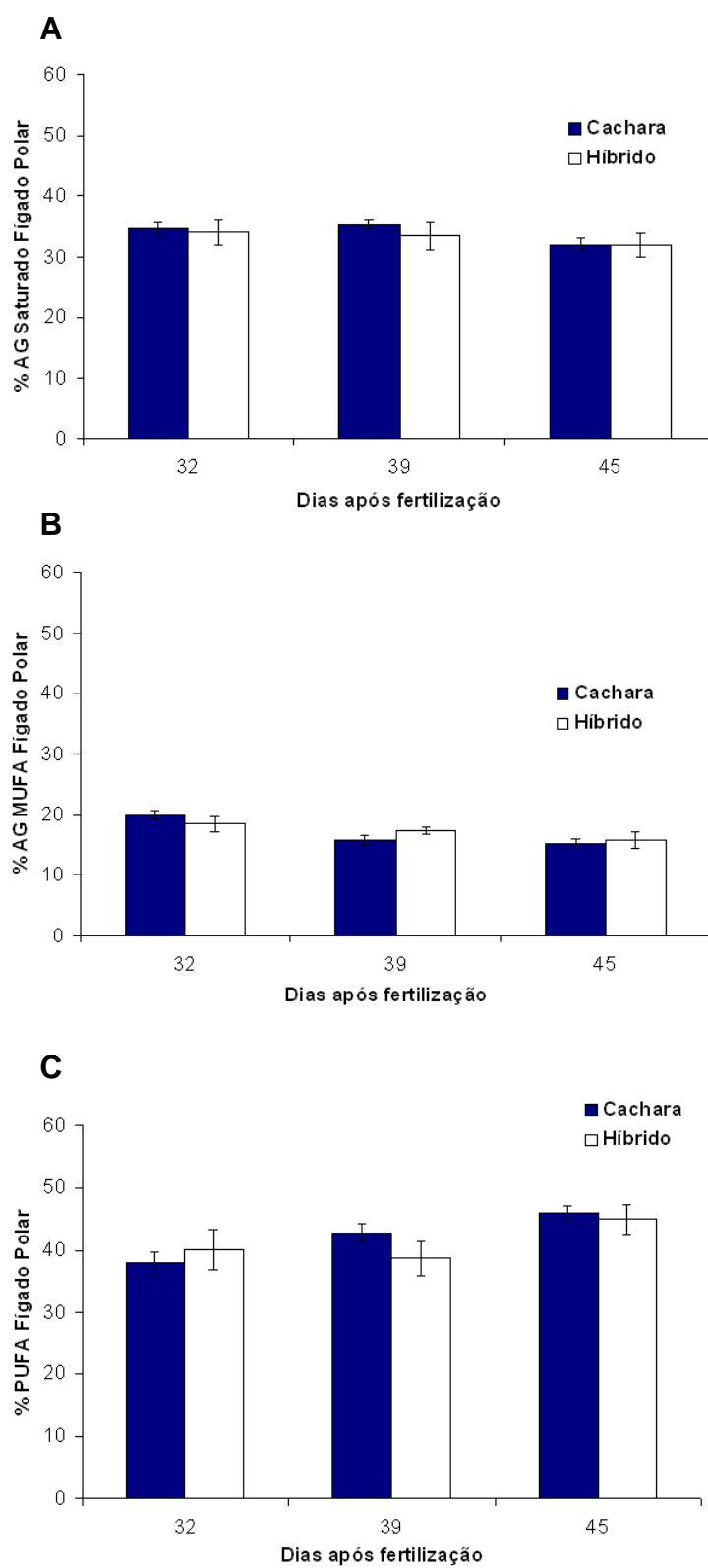




**Figura 31.** Porcentagens de ácidos graxos da fração polar do fígado de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

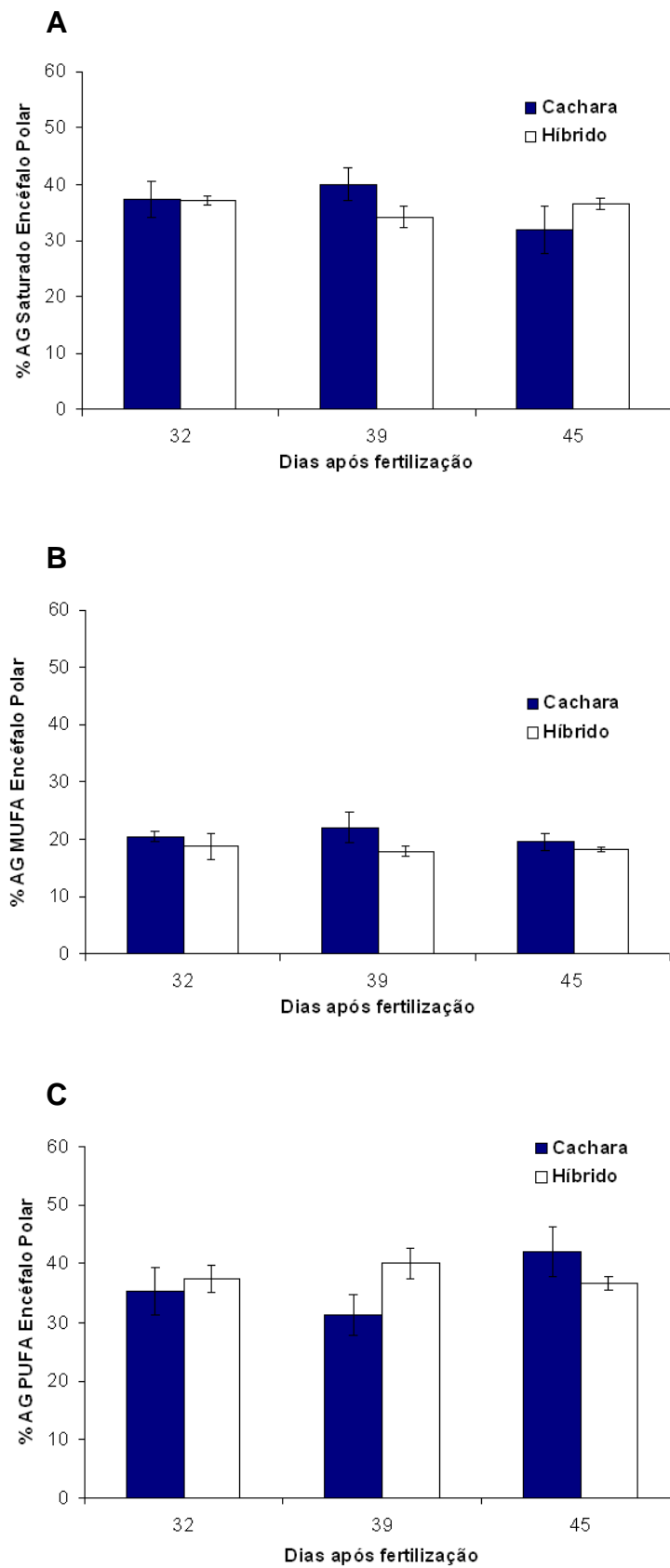
Figura 31



**Figura 32.** Porcentagens de ácidos graxos da fração polar do encéfalo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

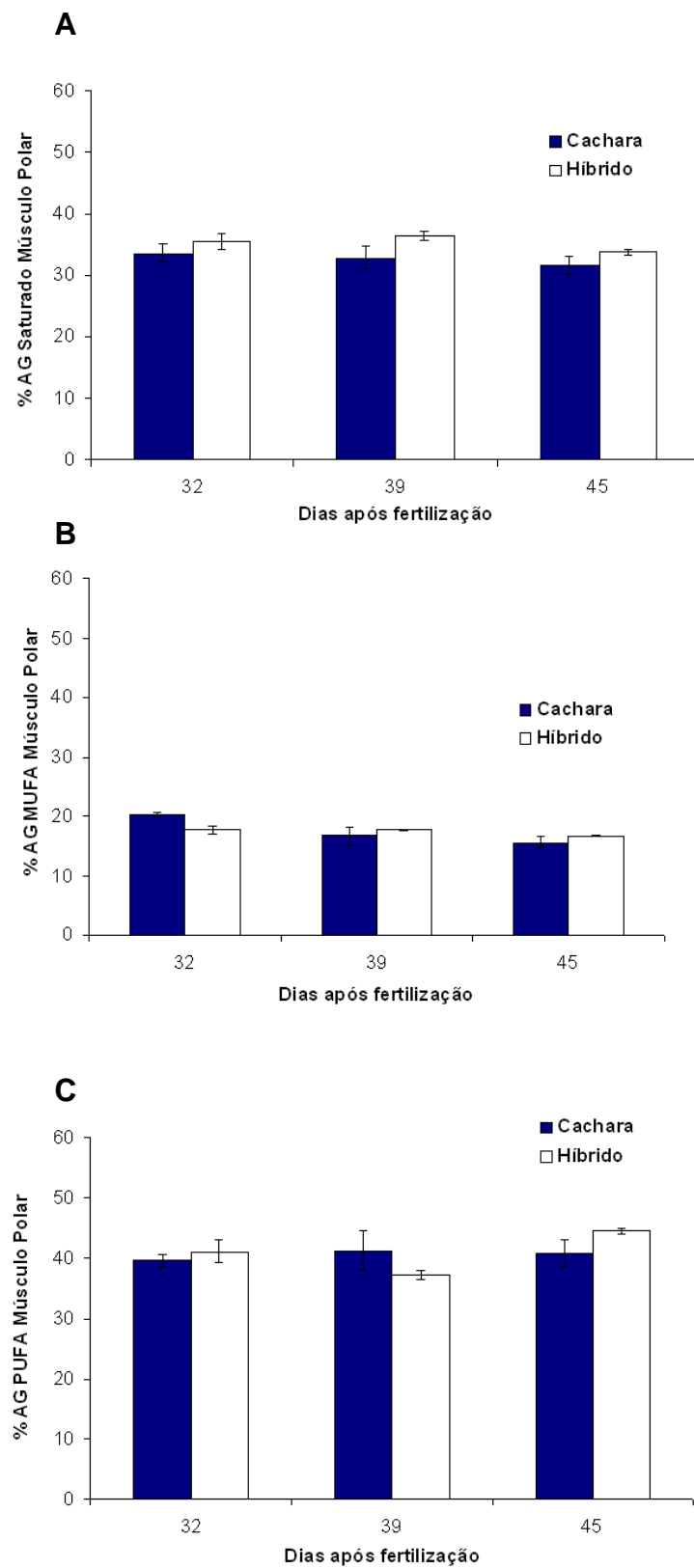
Figura 32



**Figura 33.** Porcentagens de ácidos graxos da fração polar do músculo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*), com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **A)** Porcentagem de ácidos graxos saturados. **B)** Porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados. **C)** Porcentagem de ácidos graxos polinsaturados.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

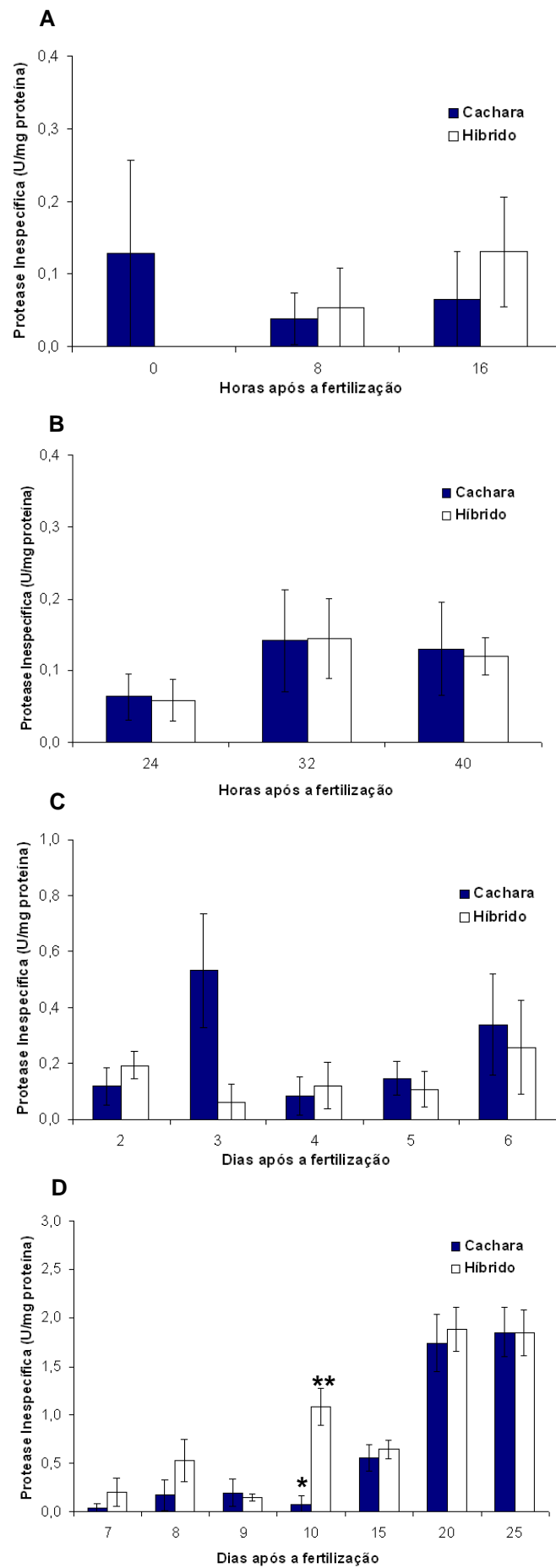
Figura 33



**Figura 34.** Atividade de protease inespecífica em pH 2,0 em larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Atividade enzimática das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Atividade enzimática das larvas com 24, 32, 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Atividade enzimática das larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização. **D)** Atividade enzimática das larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

Figura 34

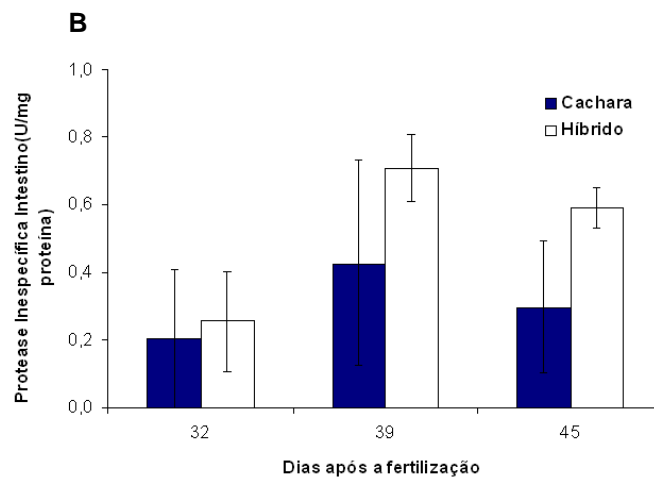
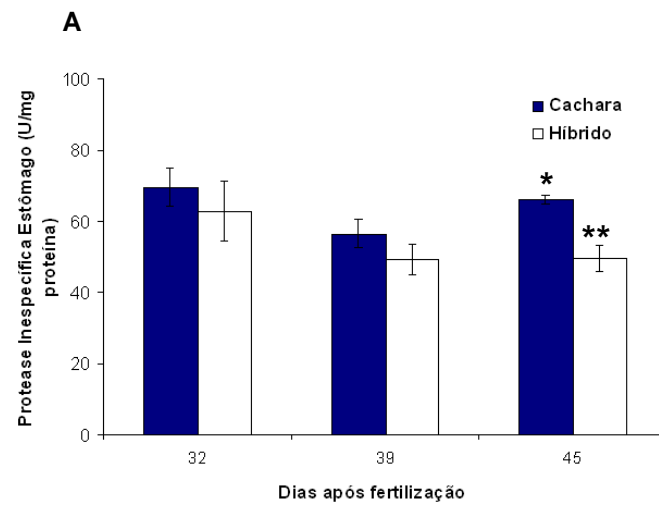




**Figura 35.** Atividade de protease inespecífica em pH 2,0, de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Atividade enzimática do estômago dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **B)** Atividade enzimática do intestino dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

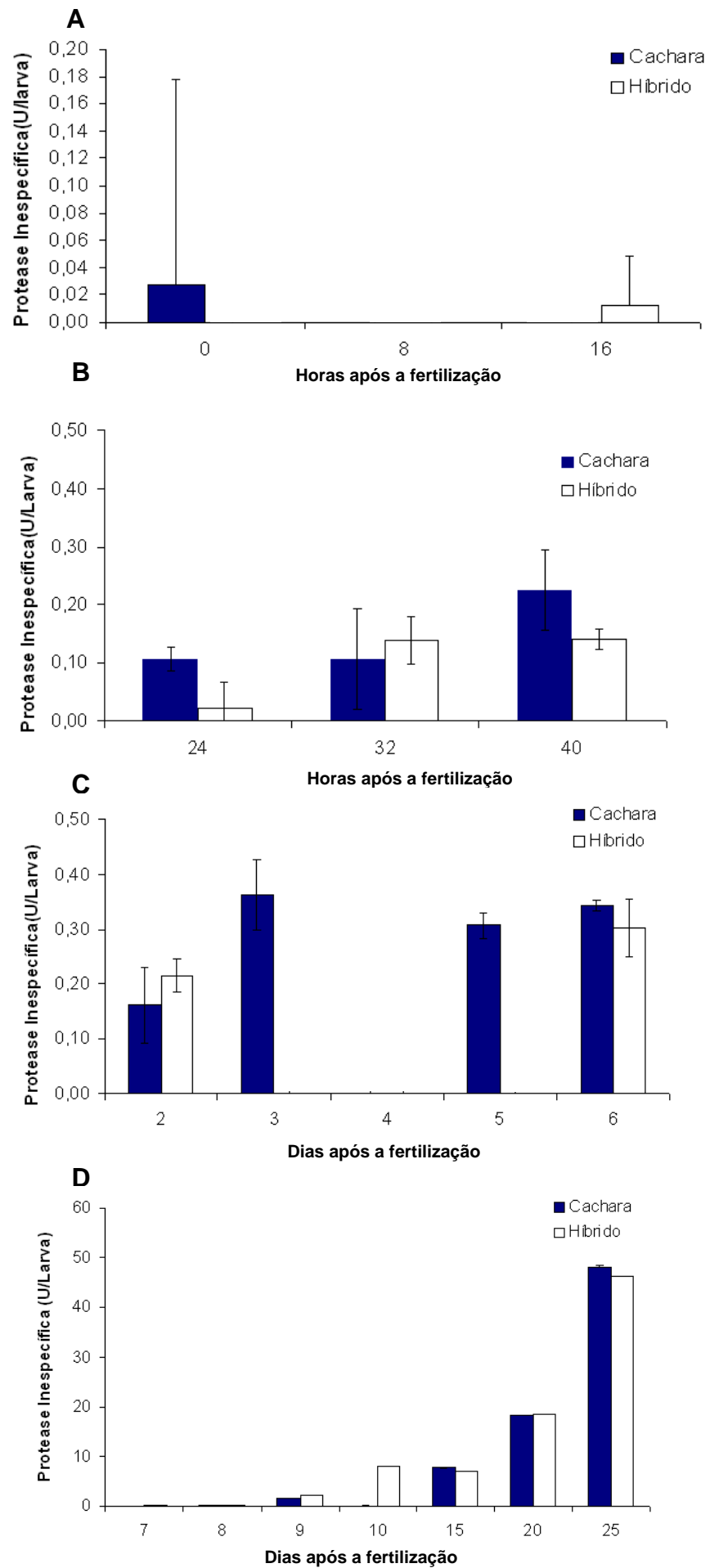
Figura 35



**Figura 36.** Atividade de protease inespecífica em pH 2,0 em larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) expressa por unidade (U) de larva. **A)** Atividade enzimática das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Atividade enzimática das larvas com 24, 32, 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Atividade enzimática das larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização. **D)** Atividade enzimática das larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

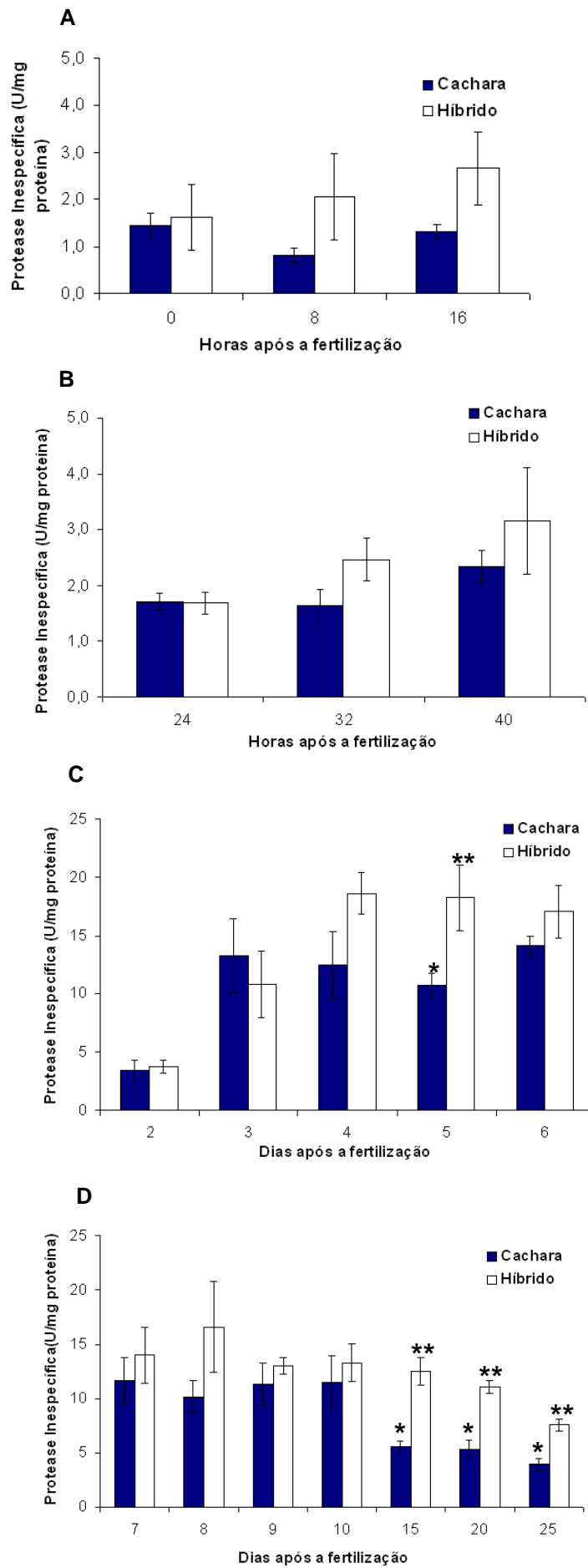
Figura 36



**Figura 37.** Atividade de protease inespecífica em pH 8,0 em larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Atividade enzimática das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Atividade enzimática das larvas com 24, 32, 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Atividade enzimática das larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização. **D)** Atividade enzimática das larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

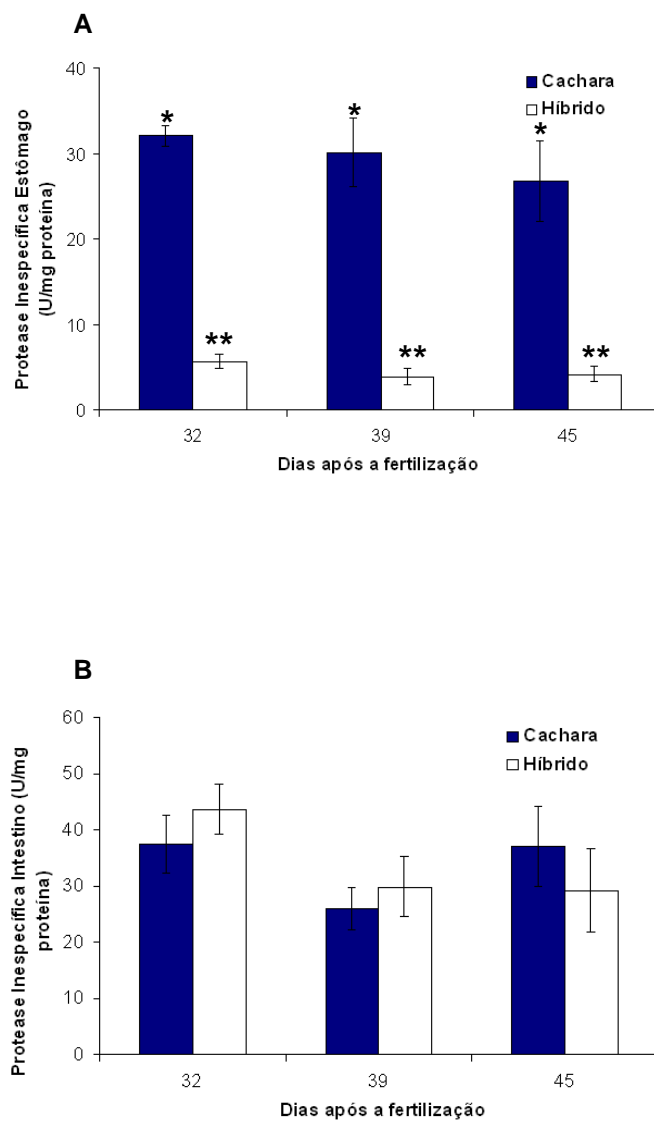
Figura 37



**Figura 38.** Atividade de protease inespecífica em pH 8,0, de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Atividade enzimática do estômago dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **B)** Atividade enzimática do intestino dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento

Figura 38

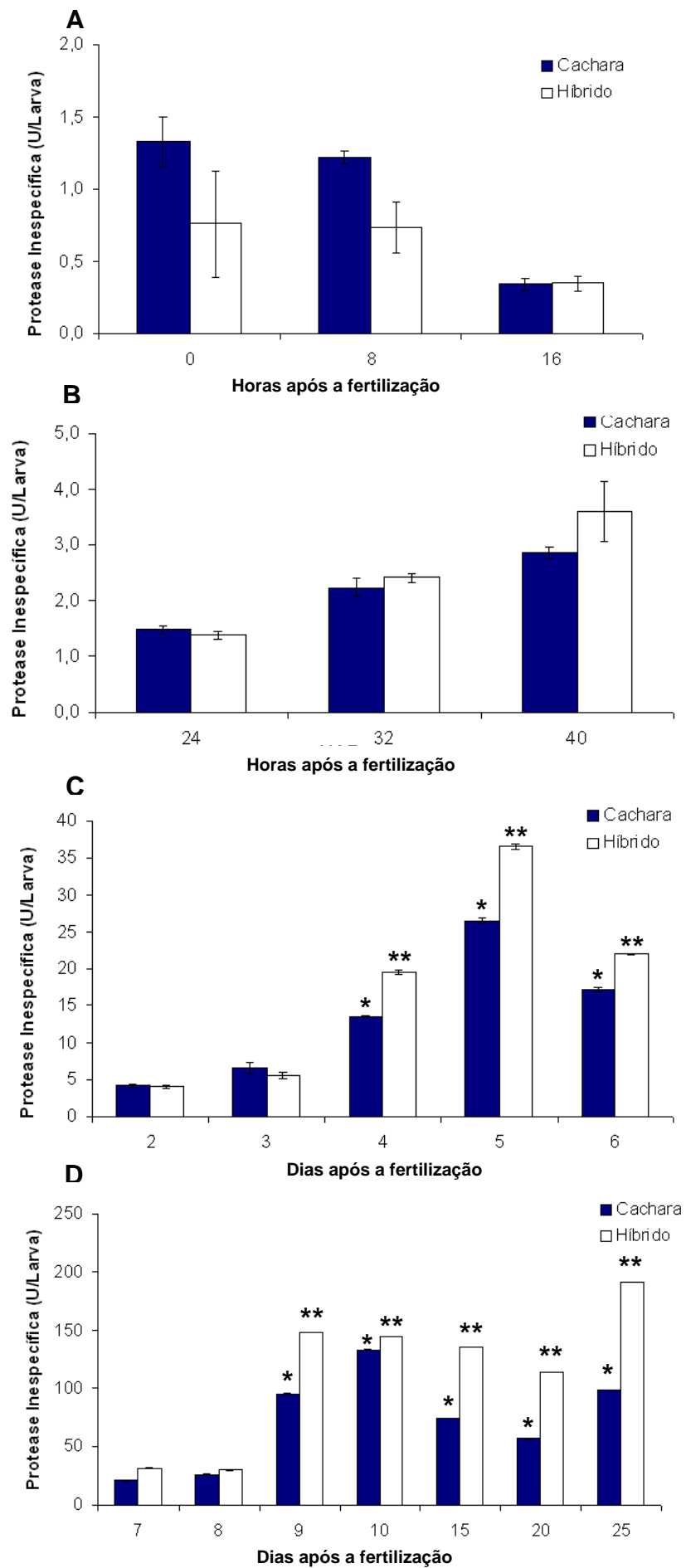




**Figura 39.** Atividade de protease inespecífica em pH 8,0 em larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) expressa por unidade (U) de larva. **A)** Atividade enzimática das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Atividade enzimática das larvas com 24, 32, 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Atividade enzimática das larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização. **D)** Atividade enzimática das larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

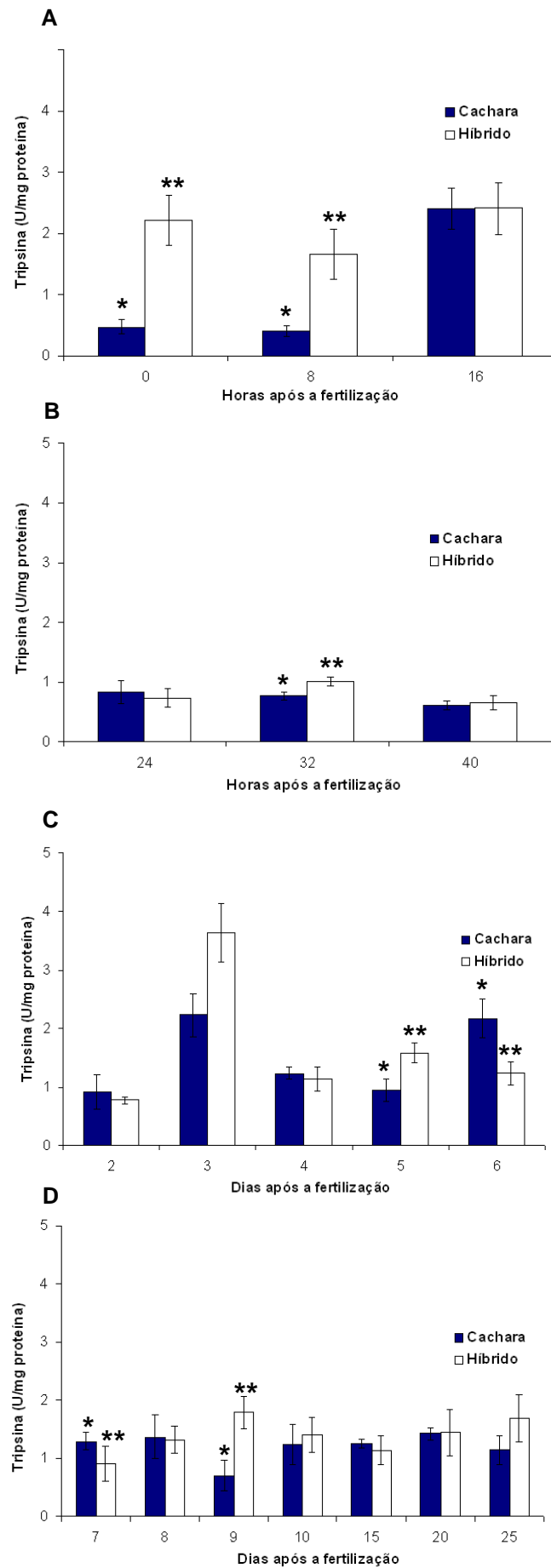
Figura 39



**Figura 40.** Atividade de tripsina em larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Atividade enzimática das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Atividade enzimática das larvas com 24, 32, 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Atividade enzimática das larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização. **D)** Atividade enzimática das larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

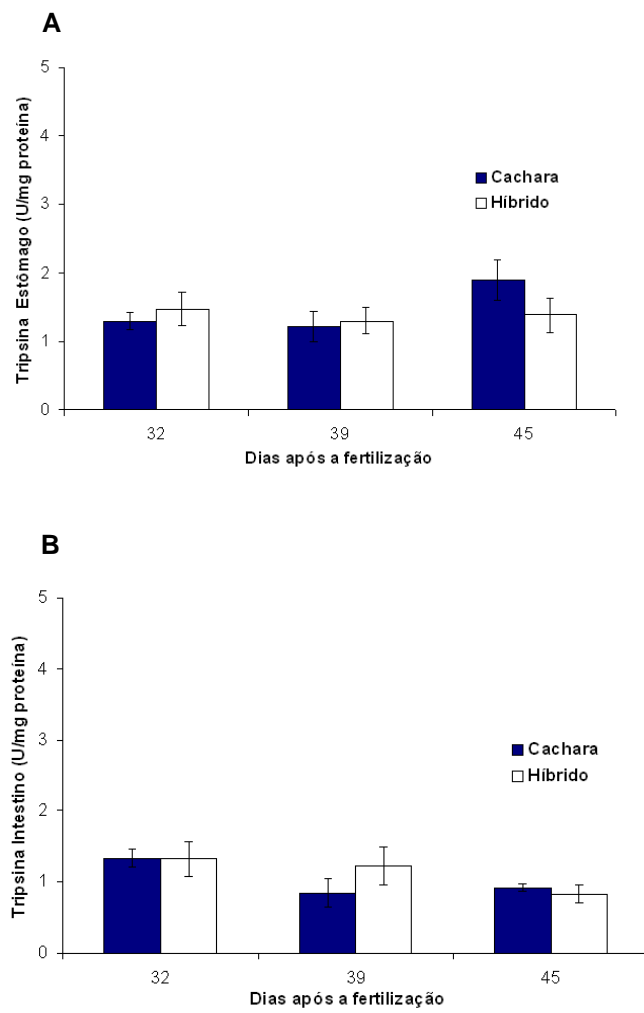
Figura 40



**Figura 41.** Atividade de tripsina do estômago de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Atividade enzimática do estômago dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **B)** Atividade enzimática do intestino dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

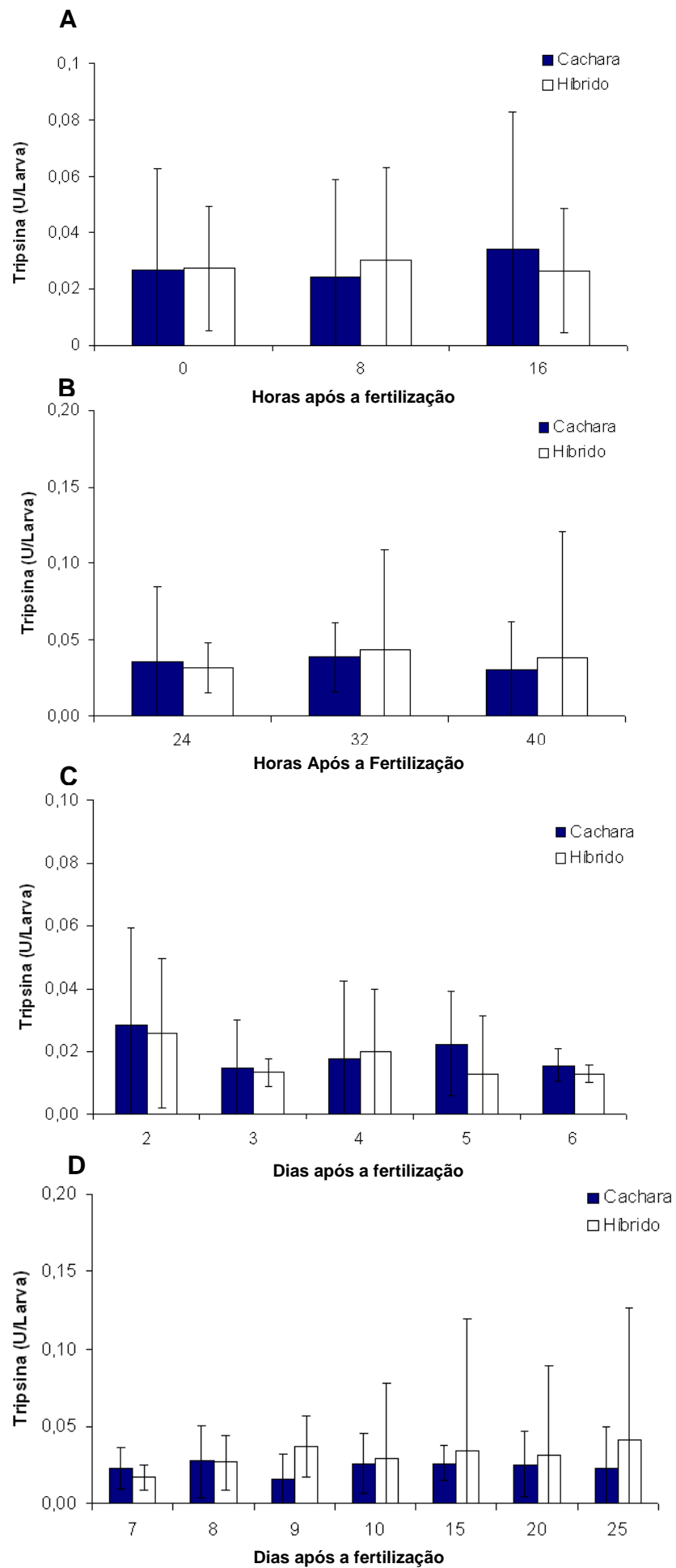
Figura 41



**Figura 42.** Atividade de tripsina em larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) expressa por unidade de larva. **A)** Atividade enzimática das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Atividade enzimática das larvas com 24, 32, 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Atividade enzimática das larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização. **D)** Atividade enzimática das larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

Figura 42

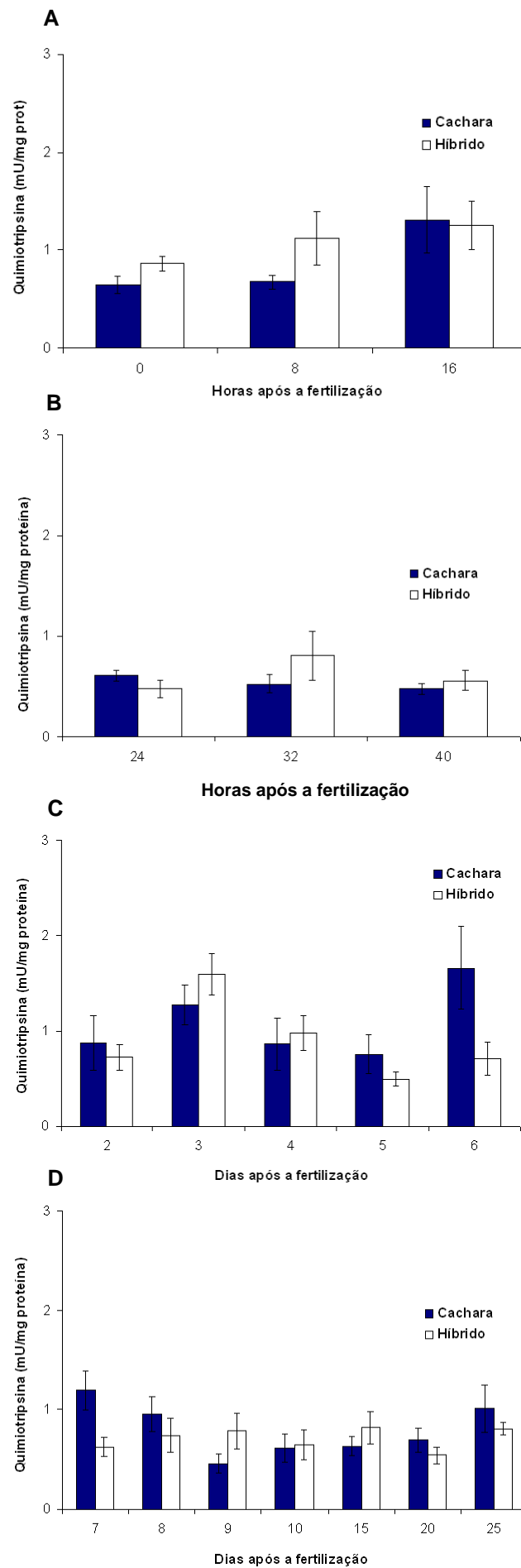




**Figura 43.** Atividade de quimiotripsina em larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Atividade enzimática das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Atividade enzimática das larvas com 24, 32, 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Atividade enzimática das larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização. **D)** Atividade enzimática das larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

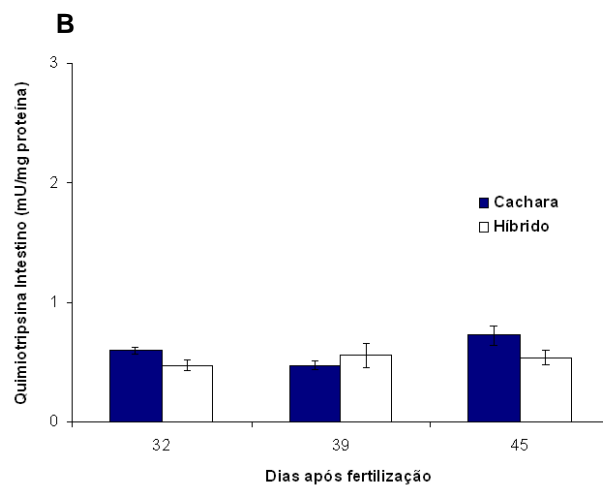
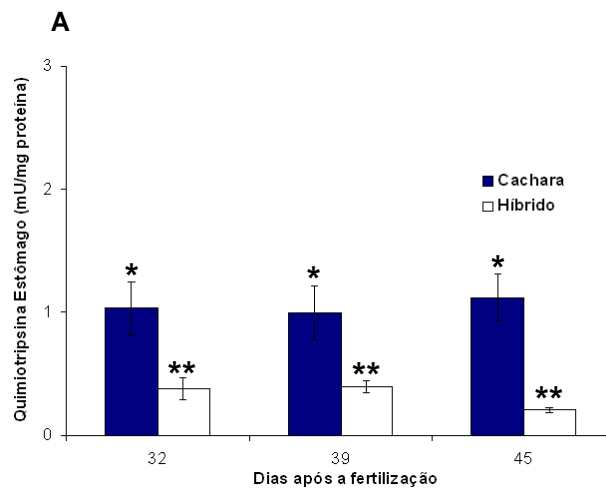
Figura 43



**Figura 44.** Atividade de quimi tripsina do estômago de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*). **A)** Atividade enzimática do estômago dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF). **B)** Atividade enzimática do intestino dos alevinos com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

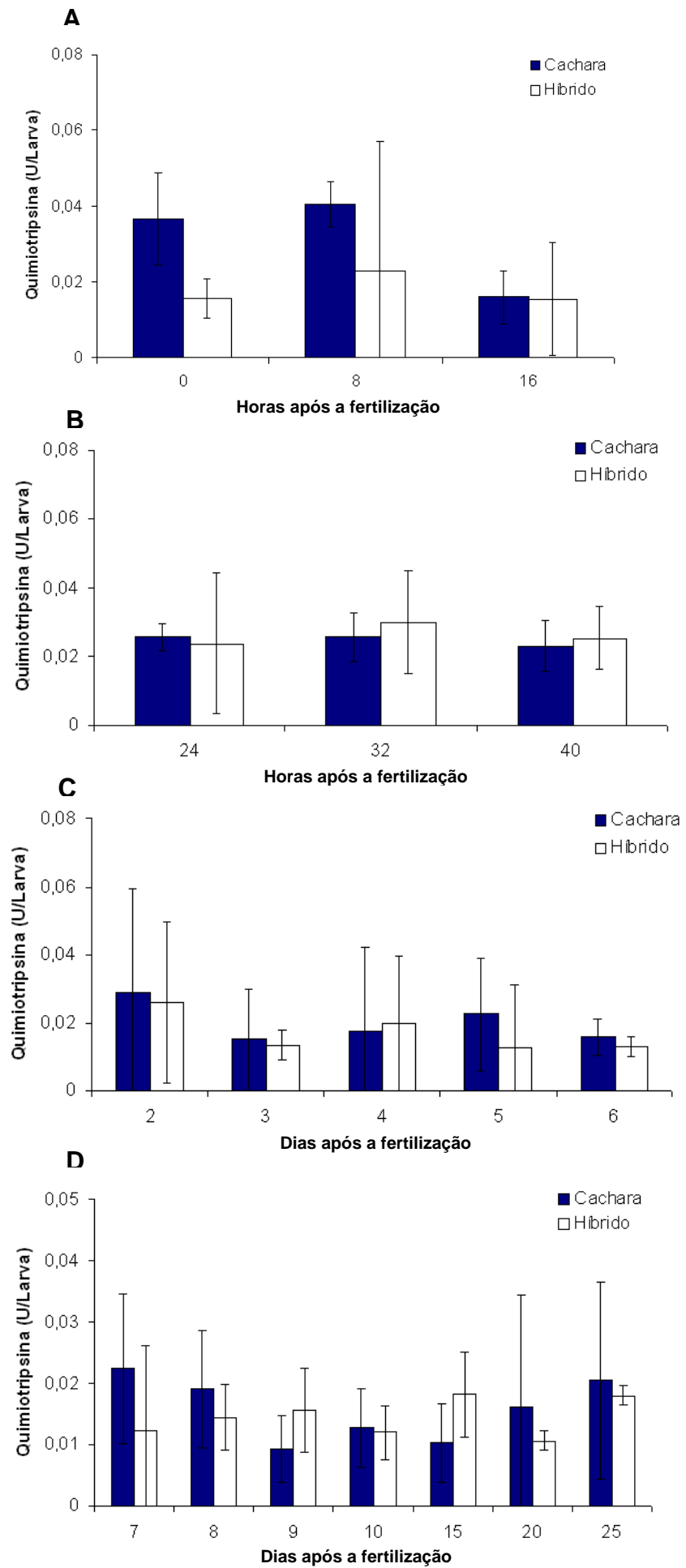
Figura 44



**Figura 45.** Atividade de quimiotripsina em larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) expressa por unidade de larva. **A)** Atividade enzimática das larvas com 0, 8 e 16 horas após a fertilização (HAF). **B)** Atividade enzimática das larvas com 24, 32, 40 horas após a fertilização (HAF). **C)** Atividade enzimática das larvas com 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a fertilização. **D)** Atividade enzimática das larvas com 7, 8, 9, 10, 15, 20 e 25 dias após a fertilização.

\* \*\* - Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos quando comparados durante a mesma fase do desenvolvimento.

Figura 45



## 5. Discussão

Na literatura brasileira, os estudos voltados para a fase larval do desenvolvimento dos peixes tropicais de água doce ainda são muito incipientes, embora as espécies de água salgada venham sendo estudadas nos últimos 20 anos (Kolkovski, 2001). Com o crescente desenvolvimento das atividades econômicas na aquicultura, tem sido cada vez mais importante o estudo e conhecimento de todas as fases da vida dos peixes, com ênfase na fase larval, que é considerada o período mais frágil e conseqüentemente o mais crítico durante a vida dos animais.

O processo larval, bem como as larvas de peixes teleósteos não devem ser consideradas como fase ou organismos primitivos, mas sim como um período transitório no qual a ontogenia e o crescimento induzem mudanças substanciais na estrutura, fisiologia, tamanho e forma corpórea. O mecanismo básico da organogênese e sua fisiologia são determinados em geral pelo histórico de cada espécie, além de inúmeros fatores abióticos e bióticos, como a temperatura da água, disponibilidade e composição de alimento durante os diferentes estágios de vida dos peixes. Todas essas variáveis determinam o desempenho nutricional e fisiológico dos peixes, e com isso, irão determinar sua habilidade de lidar com os futuros desafios ao longo da vida (Hachero-Cruzado *et al.*, 2009).

Em pisciculturas comerciais os organismos híbridos vêm sendo cada vez mais utilizados, devido, principalmente às possibilidades de selecionar linhagens que sejam cada vez mais interessantes em relação à taxa de crescimento, sobrevivência, dentre outros índices zootécnicos. Este é o caso do gênero *Pseudoplatystoma*, cujas características econômicas já foram abordadas neste trabalho e que vem sendo cultivado no país principalmente na forma de híbridos. No entanto, nenhuma investigação havia sido conduzida de forma a descrever e entender a presença de possíveis diferenças morfofisiológicas entre os parentais e híbridos, que pudessem subsidiar os relatos realizados pelos piscicultores sobre melhores índices zootécnicos nos animais híbridos em relação aos parentais.

A proposta inicial do presente projeto continha um grupo experimental adicional, além dos dois grupos que foram investigados. O grupo experimental

retirado pertence à espécie popularmente conhecida por pintado, surubim ou surumi, (*Pseudoplatystoma corruscans* Spix & Agassiz, 1829), que é um Siluriforme de grande porte, pertencente à família Pimelodidae, sendo ainda uma espécie congênica do cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*).

Conforme explicitado anteriormente, o macho de pintado é utilizado para a produção do híbrido. A espécie em questão é uma espécie considerada ameaçada no estado de São Paulo (São Paulo, 2008; Mello *et al.*, 2009), e obviamente auxiliaria a responder diversas questões sobre a ontogenia do gênero *Pseudoplatystoma*, uma vez que a bagagem não só genética, mas a resposta fisiológica do macho estará presente nas larvas de seus descendentes.

A impossibilidade de inclusão deste grupo no presente projeto se deve ao fato de que a reprodução e consequente obtenção de larvas do grupo de pintado puro foram prejudicadas com elevada taxa de mortalidade. Embora tenham sido feitas outras tentativas de reprodução e obtenção de uma desova suficiente para todas as análises bioquímicas, fisiológicas e morfológicas não foi obtido êxito e como os animais se reproduzem somente uma vez no ano tal fato impossibilitou a obtenção dos animais para finalizar o trabalho em tempo hábil.

### **5.1. Análises Morfológicas**

Inicialmente podemos observar que o trato gastrointestinal das larvas de cachara e do híbrido são muito semelhantes ao da maioria das outras espécies de teleósteos em seus aspectos morfológicos e fisiológicos. Primeiramente em relação à morfologia do trato gastrointestinal, este se mostrou muito similar entre os dois grupos estudados, sendo, inclusive muito similar ao da espécie congênica pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*, Agassiz 1829), estudada por Mangetti (2006).

Em ambos os grupos estudados a abertura da boca foi verificada no 3º DAF, resultado esse que foi encontrado também para o pintado por Santos & Godinho (1994) e por Mangetti (2006), que estudando a mesma espécie, verificou abertura da boca no 4º DAF, ou 3º DAE (dia após eclosão). No presente trabalho, foi verificada a ingestão de alimentos já no 4º DAF, resultado



descrito como sendo muito comum em diversas espécies de peixes de clima tropical e temperado (Boulhic & Gabaudan, 1992; Walford & Lam 1993).

Segundo Yang *et al.*, (2010) estudando outro siluriforme que apresenta grande distribuição pela China (*Pelteobagrus fulvidraco*) conhecido por *catfish* amarelo, a abertura da boca foi verificada no 2º. DAE e foi se diferenciando com grande rapidez. O trato digestório deste siluriforme também foi descrito como sendo muito similar ao da maioria das espécies de peixes (Yang *et al.*, 2010).

Conforme descrito anteriormente, embora a abertura da boca dos animais tenha sido verificada no 3º DAF, houve dúvidas em relação ao animal estar pronto para ingestão de alimentos já nesse dia. Segundo Tocher *et al.*, (2008) logo após a eclosão, a boca da maioria das espécies de peixes apresenta estas estruturas (boca e trato gastrointestinal) ainda imaturas e, portanto são estruturas ainda incapazes de capturar e ingerir alimento exógeno.

No dia da abertura da boca, esta estrutura foi classificada macroscopicamente (visualmente), como não sendo funcional, ou seja, esta estrutura ainda não estava pronta para capturar e ingerir presas, pois a maxila inferior encontrava-se em uma posição muito ventral em relação à maxila superior. Tal sugestão de que a boca não era funcional para captura e ingestão de alimentos foi confirmada posteriormente, pois após nas análises microscópicas somente foi verificado alimento no trato digestório dos animais de ambos os grupos no 4º DAF.

Em relação ao saco vitelínico, os animais iniciam o consumo do mesmo a partir da fertilização, e este é exaurido com extrema rapidez, pois a demanda energética e estrutural durante essa fase é extremamente elevada (Rainuzzo, 1997). A absorção do saco vitelínico para os cacharas e híbrido é muito rápida, embora a taxa e a eficiência de consumo do saco vitelínico podem variar, pois, são influenciadas por diversos fatores ambientais, como: luminosidade, temperatura, concentração de oxigênio, salinidade, pH, etc (Hemming & Buddington, 1988)

A abordagem sobre a composição do saco vitelínico será discutida juntamente com as concentrações protéicas, lipídicas e o perfil dos ácidos graxos, que nos permitiu um estudo composicional detalhado dos animais.

Sabe-se que diversos fatores influenciam na composição do saco vitelínico, como variações espécie-específicas, além da grande influência proveniente da nutrição fornecida a matriz, que interfere quantitativa e qualitativamente na composição do mesmo. A composição do saco vitelínico é determinante durante o período de alimentação endógena, pois será a única fonte de substrato energético e estrutural, como proteínas, lipídeos, aminoácidos essenciais, carboidratos e ácidos graxos essenciais (Rainuzzo, 1997).

O saco vitelínico foi encontrado até o 6º DAF em ambos os grupos, resultado esse que também foi observado por Mangetti (2006) para o pintado, sugerindo que os animais deste gênero, assim como, diversas outras espécies de peixes, apresentam alimentação mista por um período, na qual, o animal se alimenta de suas fontes endógenas (saco vitelínico) e fontes exógenas (alimentação externa).

Segundo Dabrowski (1984), durante essa fase os animais ainda não finalizaram seu processo de “metamorfose” e por isso apresentam algumas estruturas de seu trato digestório ainda não plenamente desenvolvidas e, com isso, não possuem ainda atividade enzimática satisfatória para digerir o alimento, embora, o animal utilize esse período para se preparar para sua independência alimentar. Mangetti (2006) afirma que os animais utilizam esse período de alimentação mista para treinar a captura de presas, bem como as respostas do trato digestório frente a esta nova realidade, fato reforçado por Eldridge (1983), que afirma que larvas de *Morone saxatilis* consumiram o saco vitelínico mais rapidamente quando alimentadas com artêmia em contrapartida a larvas desnutridas.

Tal fato pode ser verdadeiro, mas por outro lado sabemos que as larvas de peixes utilizam as enzimas provenientes do alimento vivo para “ativar” suas enzimas digestivas (Dabrowski, 1984), processo conhecido por zimogênese, no qual, ocorre ativação das formas inativas das enzimas transformando-as em suas respectivas formas ativas, p.ex. tripsinogênio (forma inativa) se transforma em tripsina (forma ativa) quando em contato com a enteroquinase produzida pelos enterócitos.

Outra influência está no fato dos animais ainda utilizarem as enzimas presentes no alimento vivo, para, além de ativar as formas inativas das enzimas presentes em seu trato digestório utilizarem as próprias enzimas

presentes no alimento vivo para sua própria digestão, processo conhecido por autólise, no qual o alimento vivo digere seus próprios tecidos (Dabrowski, 1984).

Kolkovski (2001) sugere que grande parte da atividade enzimática das larvas de peixes é proveniente do alimento vivo, e, isso é verdadeiro para espécies como: carpa comum, carpa capim, truta arco-iris e *gilthead seabream*. Em contrapartida alguns autores como Kurokawa *et al.*, (1998) estudando *Sardinops malanoticus* e Cahu & Zambonino-Infante (1995) estudando *sea bass*, afirmam que, a contribuição das enzimas provenientes do alimento vivo não foi significativa, o que torna ainda incompreendido a verdadeira atuação das enzimas provenientes do alimento vivo. Aspectos mais detalhados da ação enzimática serão abordados mais adiante juntamente com as atividades das enzimas digestivas.

O esôfago das larvas de cachara e do híbrido foi verificado no 4º DAF, e foi descrito como uma estrutura tubular que conecta a cavidade bucal ao estômago, cuja função é conduzir o alimento até o estômago. Em larvas de pintado Mangetti (2006) verificou a presença do esôfago no mesmo dia (3º DPE) juntamente com as células secretoras de muco que são características desse tecido. Em larvas de cachara e híbrido também foram encontradas as células secretoras de muco a partir do 4º DAF, que têm por função proteger a parede esofágica contra abrasão dos alimentos. Mangetti (2006) afirma que o esôfago das larvas de pintado atinge sua complexidade máxima com 11 DAE, pois segundo o autor, o órgão apresenta as dobras máximas nesse dia, estruturas essas que permitem a distensão do tecido durante a deglutição dos alimentos. Yang *et al.*, (2010) trabalhando com o bagre amarelo chinês (*Pelteobagrus fulvidraco*) encontrou o esôfago com 2 DAE, mesmo período descrito para as espécies do presente trabalho, sendo que as células mucosas também foram encontradas nesse mesmo dia.

O primórdio do estômago das larvas de cachara e híbridas foi verificado no 4º DAF. Para a completa identificação do órgão e suas principais células secretoras de enzimas seriam necessárias outras técnicas de coloração, que não foram realizadas no presente trabalho. Segundo Mangetti (2006), o estômago das larvas de pintado surge no 3º DPE, e encontra glândulas gástricas com 11 DPE, e este autor afirma ainda que as glândulas secretoras

do estômago de teleósteos são similares às células oxintopépticas das aves e, por isso, secretam ambos os produtos envolvidos na hidrólise que são as enzimas e o ácido clorídrico (HCl). Com o surgimento das células oxintopépticas as larvas de teleósteos são consideradas aptas a digerir alimento inerte, porém, outra forma mais eficaz de se definir a funcionalidade enzimática do estômago é através da análise da atividade das enzimas ácidas, que foi o parâmetro utilizado no presente trabalho para definir o momento em que as larvas apresentavam atividade de protease ácida. Os dados de atividade de protease ácida serão discutidos posteriormente juntos com a atividade das outras enzimas digestivas específicas.

A bolsa intestinal foi verificada no 3º DAF, e descrita como um órgão de parede fina de forma arredondada e conforme dito anteriormente foi verificada a presença de alimento a partir do 4º DAF. A bolsa intestinal é verificada nos primeiros dias do desenvolvimento das larvas de cachara e do híbrido, e macroscopicamente pode ser confundida com o estômago devido a sua forma arredondada e o grande volume que é visível após a alimentação das larvas. Foram observados no interior dos enterócitos de ambos os grupos, a presença de gotas de lipídeos, que caracteriza a absorção deste substrato por esse órgão. Estas gotas de lipídeos foram caracterizadas por apresentar vesículas claras na região do citoplasma dos enterócitos. Outras espécies de larvas também apresentam a absorção de lipídeos por essa estrutura (Deplano *et al.*, 1991; Sarasquete *et al.*, 1995; Chen *et al.*, 2006; Mangetti, 2006). Nos primeiros dias a presença dessas gotas de lipídeos é observada em todo o trato intestinal mostrando que nos primeiros dias todo o trato intestinal absorve os lipídeos, porém a partir do 10º DAF as gotas de lipídeos são encontradas apenas na região anterior da bolsa intestinal, não sendo encontrada nas regiões posteriores do intestino, evidenciando que a região absorptiva de lipídeos no trato intestinal das larvas de cachara e híbrido ocorrem na região anterior do intestino como na maioria dos peixes teleósteos (Bisbal & Bengston 1995; Yúfera, 1995).

O intestino foi verificado a partir do 4º DAF tanto nos cacharas quanto nos híbridos. Podemos observar também a presença das dobras intestinais que têm por função aumentar a superfície de contato dos enterócitos com o alimento, além de facilitar também a ação das enzimas do suco pancreático

que agem no intestino (Grau *et al.*, 1992). Mangetti (2006) também verificou em larvas de pintados a presença do intestino e das gotas de lipídeos nos enterócitos a partir do 3º DPE, e sugere que os enterócitos estão ativos já neste mesmo dia, uma vez que a absorção ocorre ativamente. Foram verificadas também as células caliciformes, que apresentam maior ocorrência a partir do 9º DAF, que atuam secretando muco.

De uma forma geral as análises das larvas e do trato digestório não evidenciaram diferenças cronológicas e/ou morfológicas relevantes entre cacharas e híbridos.

## 5.2. Análises Metabólicas

Os peixes por não regularem a temperatura corporal (ectotérmicos) requerem pouca energia para manutenção do seu *status* corpóreo e para atividades como: natação, locomoção, entre outras funções, e em comparação aos endotérmicos necessitam de quantidade bem inferior de energia (Cowey, 1980, Lovell, 1989).

Os peixes metabolizam preferencialmente proteínas em comparação aos demais substratos e durante o estágio larval a taxa de crescimento é muito alta e, o crescimento está principalmente relacionado à deposição de proteínas no músculo (Conceição *et al.*, 1998). Com isso, um alto fluxo de aminoácidos é exigido do alimento para crescimento da biomassa (Ronnestad *et al.*, 2003), uma vez que os peixes metabolizam preferencialmente aminoácidos como fonte primária de energia (Zhu *et al.*, 1998), diferente dos mamíferos que utilizam carboidratos como principal substrato energético (Sheridan, 1994).

Na fase de oócito e ovo fertilizado, o grupo cachara apresenta concentração protéica mais elevada em relação ao grupo híbrido, sugerindo que esse grupo apresente maior deposição desse substrato. A concentração protéica das larvas de cachara apresentou uma queda indicando consumo deste substrato nas primeiras 16 HAF, momento de intensas alterações morfológicas e, embora as larvas tenham durante esse período uma maior exigência protéica para formação dos tecidos e crescimento, elas também utilizam as fontes protéicas como substrato metabólico. O grupo híbrido apresentou valores estáveis sem grandes variações no mesmo período,

indicando que as larvas mantiveram seu perfil protéico, durante essa fase de intensas transformações fisiológicas. Esses resultados dos híbridos, também foram encontrados para diversos salmonídeos (Zeitoun *et al.*, 1977; Dabrowski & Luczynski, 1984), para ciprinídeos (Kamler, 1976) e gadídeos (Lapin & Matsuk, 1979; Buckley, 1981) entre outros, que afirmam que durante essa fase do desenvolvimento quando o embrião é pequeno e a atividade metabólica ainda não é tão elevada, pouca proteína é utilizada para produção de energia, e as concentrações de proteínas totais se mantêm relativamente constantes, e à medida que as larvas vão crescendo e a taxa metabólica aumentando maiores volumes de proteína são utilizados para o catabolismo. Contudo, Yarzhombek & Maslennikova (1971) e Rice & Stokes (1974) afirmam que é difícil de se observar o catabolismo protéico antes da eclosão das larvas, devido a baixa permeabilidade das membranas do ovo a metabólitos nitrogenados que prejudicariam o desenvolvimento.

Segundo Heming & Buddington (1988) o substrato mais abundante nos ovos das larvas de peixes em geral são as proteínas, que tem duas principais funções, de abastecer energeticamente via catabolismo e suprir as demandas estruturais tão elevadas durante a organogênese. Satia *et al.*, (1974) afirmam que há uma correlação positiva entre o consumo e conteúdo do saco vitelínico e a sobrevivência durante esse período inicial de vida.

Alem das proteínas, os aminoácidos (AA) também desempenham um papel importante durante essa fase, pois grande quantidade deste substrato provém dos reprodutores como os AA livres. Diversos autores afirmam que o ovo recém desovado possui cerca de 40-60% de AA em peso seco (Ronnestad & Fyhn, 1993; Thorsen *et al.*, 1993; Finn *et al.*, 1995; Ronnestad *et al.*, 1996), incluindo os AA polimerizados e outras macromoléculas, além dos aminoácidos livres. Zhu *et al* (2002) observaram que a quantidade de aminoácidos livres diminui ao longo do desenvolvimento embrionário, sugerindo que esses aminoácidos estariam sendo catabolizados para a produção de energia, utilizados na lipogênese ou síntese de proteínas (Zhu, 1998).

Ao longo dos 25 primeiros dias após a fertilização os grupos variaram pouco em relação à deposição desse substrato, permanecendo sempre com os valores bem equiparados entre si. Estes valores das concentrações sugerem alta similaridade e uniformidade entre os grupos durante o desenvolvimento e

crescimento. O perfil esperado para a ontogênese dos animais seria um aumento da concentração protéica, porém este resultado não foi observado, uma vez que os animais estão em constante crescimento, processo que envolve a hipertrofia e hiperplasia.

Do 2º para o 3º DAF ambos os grupos apresentam redução curiosa na concentração deste substrato, que se justifica, uma vez que nessa fase ocorre a eclosão, que exige alto fluxo e consumo energético para o rompimento da camada externa do ovo (córion) e conseqente eclosão (Zhu *et al.*, 2002). No 3º DAF, momento que as larvas abrem a boca e estão consumindo rapidamente suas reservas endógenas, passam por intensas e constantes alterações morfofisiológicas, além de intenso esforço físico, como: natação, enchimento da bexiga natatória, início da captura de presas, bem como, diferentes processos ecológicos, como, a fuga de predadores, etc (Kamler, 2008). Após essa fase, podemos observar que as concentrações deste substrato em ambos os grupos permanecem no mesmo patamar.

Embora os animais estejam mantidos em cativeiro, os comportamentos associados a esta fase da vida como, captura de presa, fuga de predadores, comportamento de grupo formando aglomerados, possivelmente formados para a proteção, fuga do excesso de luminosidade (lembrando que as larvas de ambos os grupos são muito fotofóbicas), são características inatas dos animais e estas foram observadas durante todo o período experimental (Cestarolli, 2005).

Considerando-se os tecidos específicos, o músculo é o órgão com maior deposição protéica em ambos os grupos analisados, sendo o fígado o órgão mais utilizado para metabolismo e transporte deste substrato. Segundo Ogawa (1999) a composição deste substrato na musculatura dos peixes varia de acordo com a espécie, fase de desenvolvimento, tamanho, sexo e época do ano, porém as concentrações giram em torno de 20% de proteínas neste órgão.

Assim como as proteínas, os lipídeos têm um papel central na taxa de crescimento e no desenvolvimento das larvas de peixes, sendo esta a principal fonte de energia metabólica ao longo dos estágios de desenvolvimento (Rainuzzo, 1997). Os lipídeos armazenados nos ovos fornecem uma grande quantidade de energia (ácidos graxos saturados e monoinsaturados) e ácidos

graxos polinsaturados para a síntese de membranas e outros componentes, até que a alimentação exógena se estabeleça (Ozkizilcik *et al.*, 1996). Após as proteínas, os lipídeos são o substrato mais abundante do saco vitelínico (Heming & Buddington, 1988).

Os lipídeos, além de atuarem como fonte de energia, atuam como fonte de ácidos graxos essenciais, atuando ainda como transportadores de certos nutrientes não lipídicos e de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (Sargent, 1995). Segundo Sargent (1995) os lipídeos são a maior fonte de energia metabólica durante o desenvolvimento embrionário dos peixes, embora as quantidades e as classes lipídicas catabolizadas variem entre as espécies (Cetta & Capuzzo, 1982; Tocher *et al.*, 1985; Fraser *et al.*, 1988; Falk & Petersen *et al.*, 1989; Finn *et al.*, 1995).

Na fase de oócito (hora 0), as concentrações de lipídeos totais são elevadas em ambos os grupos e, com 8 HAF apresentam uma queda na concentração, pois as larvas de ambos os grupos foram fertilizadas e iniciam o processo de ontogênese, e como dito anteriormente, é um processo com elevado fluxo e custo energético e estrutural. Em contrapartida, durante essa mesma fase as larvas de *Pseudopleuronectes americanus* (Cetta & Capuzzo, 1982) e *Hippoglossus hippoglossus* (Zhu, 1998) apresentaram um aumento da concentração de lipídeos totais com o avanço do desenvolvimento embrionário.

Do momento da eclosão até as 40 HAF as larvas de cachara apresentaram uma ligeira queda da concentração lipídica, e em contrapartida o grupo dos híbridos apresentou uma pequena elevação da concentração sugerindo que as larvas de cachara podem ter utilizado este substrato como fonte metabólica e, as larvas de híbrido, podem ter utilizado este substrato como fonte estrutural, provavelmente realizando a síntese a partir de outros substratos, através da síntese “*de novo*”, valendo lembrar que as larvas durante essa fase são consideradas sistemas fechados, pois nenhum dos orifícios (boca e poro urogenital) está aberto.

Alguns estudos relatam que ocorrem poucas modificações na composição relativa do saco vitelínico durante o estágio embrionário, e isto, segundo os autores indica que as maiores classes de lipídeos são utilizadas com a mesma taxa de consumo, com pouca ou nenhuma preferência por uma



ou outra classe específica de lipídeos (Takama *et al.*, 1969; Lapin & Matsuk, 1979; Vetter *et al.*, 1983).

A associação dos dados de proteínas e lipídeos entre 0 e 40 HAF sugerem que o cachara, como mostrado, tem um maior consumo de proteínas até 16 HAF, mas com 24 HAF, sua concentração protéica volta a ser igual às concentrações mais elevadas do híbrido. Para que este aumento na concentração de proteínas ocorra, sugere-se que os cacharas tenham um maior consumo de energia, em forma de lipídeos, que pode ser direcionada aos processos anabólicos. Nesta fase inicial de desenvolvimento, considera-se como sendo esta a principal diferença entre os 2 grupos analisados, dados que extrapolados para o cultivo dos 2 grupos permite entender as menores taxas de sobrevivência obtidas com os cacharas quando comparada com os híbridos, considerando que os animais puros apresentam um maior consumo proteínas e lipídeos nesta fase inicial de vida.

Do 2º para o 6º DAF, observamos o contrário, as larvas de cachara apresentam aumento da concentração lipídica, enquanto, as larvas híbridas apresentam queda da concentração lipídica, sugerindo agora, que, as larvas de híbridos podem ter utilizado os lipídeos como fonte estrutural e as larvas de cachara podem ter utilizado como fonte metabólica, embora durante essa fase as larvas de ambos os grupos estejam se alimentando ativamente. Segundo Turner *et al.*, (1968); Atchinson (1975); Rahn *et al.*, (1977) após a eclosão, as larvas apresentam redução do tamanho do saco vitelínico, evidenciando o consumo metabólico (catabolismo) dos triglicerídeos, enquanto, os fosfolipídeos, são preservados para utilização e futura incorporação nas membranas celulares durante o desenvolvimento das larvas.

Assim como as larvas de cachara e dos híbridos, larvas de pacu *Piaractus mesopotamicus* apresentam pequena quantidade de reserva vitelínica, rápida exaustão do vitelo e trato digestório indiferenciado no momento da primeira alimentação (Yamanaka, 1988). Aos 4 DAE, essas larvas ainda apresentam uma pequena porção de reserva vitelínica, que é totalmente consumida e ausente aos 9 DAE. A partir de 9 DAE, a quantidade de lipídeos totais e triglicérides nas larvas de pacu vai aumentando de forma gradual, até a idade de 25 DAE, quando os animais já podem ser considerados alevinos.

Do 7<sup>o</sup> ao 25<sup>o</sup> DAF, as larvas de cachara e dos híbridos apresentaram poucas alterações na concentração lipídica, com os valores sempre muito próximos em todas as fases do desenvolvimento. Ambos os grupos apresentaram elevada similaridade nas concentrações desse substrato durante esse período, mostrando perfil metabólico parecido durante essa fase do desenvolvimento.

Analisando os tecidos específicos, verificamos que, o encéfalo apresentou as maiores concentrações de lipídeos, seguido pela musculatura branca, nos cacharas e pelo fígado nos híbridos. O encéfalo dos alevinos de cachara e do híbrido, apresentaram grandes concentrações lipídicas, e assim como bacalhau, salmão e truta (Stoknes *et al.*, 2004), apresentaram grandes concentrações lipídicas. Em contrapartida, baixas concentrações foram encontradas em algumas espécies de elasmobrânquios marinhos (Stoknes *et al.*, 2004). O autor evidencia que essas concentrações elevadas se devem as grandes quantidades de lipídeos das membranas celulares das células nervosas (Stoknes *et al.*, 2004), que se aplica aos resultados encontrados para os cacharas e nos híbridos até o 39<sup>o</sup> DAF, pois os animais à medida que foram crescendo, aumentaram a deposição deste substrato para formação das membranas. Durante essa fase, as concentrações dos lipídeos totais foram elevadas para ambos os grupos e, apresentaram pequena variação ao longo do desenvolvimento.

No músculo, o grupo cachara apresentam uma tendência de elevação das concentrações de lipídeos totais que os alevinos híbridos, em todas as fases de desenvolvimento analisadas, sugerindo maior deposição deste substrato em sua musculatura à medida que os animais foram crescendo e se desenvolvendo. O grupo híbrido apresentou valores similares de concentração de lipídio no fígado e no músculo, sem variações ao longo do desenvolvimento.

Segundo Sheridan (1994) os peixes apresentam na musculatura grandes quantidades de lipídeos. A musculatura branca nos teleósteos, assim como nos mamíferos possui células adiposas ao longo das fibras musculares, incluindo também esses tipos celulares na musculatura vermelha. Em relação à deposição de lipídeos no músculo, esperavam-se valores crescentes para ambos os grupos, pois, assim como as proteínas, conforme os animais

crecem maior seria a deposição deste substrato neste tecido, o que foi verificado apenas para os alevinos de cacharas.

O fígado, assim como para as proteínas, é o órgão principal de metabolismo lipídico, e, portanto, o responsável por parte do catabolismo, anabolismo e transporte desse substrato, enviando os lipídeos para os órgãos e tecidos específicos. Henderson & Tocher (1987) encontraram maiores concentrações de lipídeos no tecido hepático em perca em comparação com a musculatura, sendo este o principal órgão de deposição deste substrato. Em contrapartida, Dawson & Grimm (1980) encontraram contribuições insignificantes de reserva energética desse órgão em *Pleuronectes platessa*, sendo a musculatura o principal órgão de reserva lipídica. No presente trabalho, pode observar que os alevinos de cachara apresentam concentrações semelhantes de lipídeos no período analisado, no entanto os animais híbridos apresentaram, em todas as fases analisadas, concentrações de lipídeos mais elevadas no fígado quando comparadas ao músculo. Essa característica dos híbridos também foi relatada por Noffs *et al.*, (2009) analisando alevinos híbridos de *P. corruscans* X *P. fasciatum*.

### 5.3. Perfil de Ácidos Graxos

Os lipídeos são substratos utilizados pelos peixes em qualquer fase de sua vida como: fontes metabólicas energéticas, componentes estruturais das membranas biológicas, transportadores de vitaminas lipossolúveis, precursores de eicosanóides, hormônios, vitamina D e como coenzimas e cofatores (Higgs & Dong, 2000).

A duas principais classes de lipídeos são os lipídeos neutros, conhecidos também por triglicerídeos, que são principalmente utilizados para prover energia metabólica, fornecendo energia para os principais processos biológicos como metabolismo, atividades reprodutivas e migrações, enquanto os lipídeos polares, compostos pelos fosfolipídeos que são, principalmente, utilizados como componentes das membranas biológicas, responsáveis pela manutenção da fluidez das membranas, principalmente nas larvas de peixes fornecendo fontes estruturais durante a organogênese (Oliveira *et al.*, 2003).

Inicialmente será abordada a fração neutra dos lipídeos, que correspondem ao triglicerídeos, ou lipídeos de armazenamento, que são principalmente, catabolizados para prover energia metabólica para o desenvolvimento do ovo e da larva (Bromage, 1995).

Durante a fase ovo, a principal reserva metabólica e estrutural provém do vitelo, que é composto principalmente de proteínas e lipídeos, cerca de 79 e 19 % respectivamente. Em relação à fração neutra dos lipídeos, ou triacilgliceróis, são compostos principalmente por dois ácidos graxos de cadeia saturada e monoinsaturada (cerca de 80%), e, uma cadeia central de polinsaturada (Bell *et al.*, 1986). Corroborando essas informações, durante a fase de oócito e ovo fertilizado a principal classe de ácidos graxos tanto nas larvas de cachara, quanto nas larvas de híbrido, foram os ácidos graxos saturados (SFA – do inglês *saturated fatty acids*) e monoinsaturados (MUFA – do inglês *monounsaturated fatty acids*) com maiores porcentagens em relação aos ácidos graxos polinsaturados (PUFA – do inglês *polyunsaturated fatty acids*).

Os oócitos de cachara e híbrido são principalmente compostos dos ácidos graxos saturados, com o C16:0 apresentando maior porcentagem, resultados também encontrados por Falk-Petersen (1986), Cejas (2004), Chu & Ozkizilcik (1995) e Tocher & Sargent (1984), que sugerem que tais elevadas taxas de SFA estão estocadas para prover energia metabólica durante esta fase do desenvolvimento.

Com relação aos MUFAs, houve um aumento significativo no grupo cachara, das 16 HAF em relação as 0 e 8 HAF, e o principal responsável pelos valores elevados foi o C18:1n9, que, também foi encontrado com maiores porcentagens para *stripped bass* (Chu & Ozkizilcik, 1995), *Senegal sole* (Vazquez *et al.*, 1994,) bacalhau (Tocher & Sargent, 1984), entre outros. Segundo Lam *et al.*, (2005) esse ácido graxo desempenha importante papel na sinalização hipotalâmica sobre o estado nutricional dos animais desencadeando respostas integradas e compensatórias. Duplus *et al.*, (2000) afirmam que existem diversas evidências de que este AG esteja envolvido ainda, na regulação da transcrição gênica envolvida com a reesterificação de AGs em TAGs (triglicerídeos) e inibição do consumo de AGs.

Durante a fase de oócito e ovo recém-fertilizado com 0 e 8 HAF, os grupos híbrido e cacharas apresentaram maior porcentagem de SFAs em relação aos MUFAs. Embora durante essa fase ambos os grupos tenham apresentado um perfil similar ao longo do tempo, em outras espécies como em larvas de *Hippoglossus hippoglossus* foi verificada significativa redução da quantidade de triglicérides durante os primeiros estágios de desenvolvimento (Zhu, 1998), sugerindo que essa seja a principal classe de lipídeos utilizadas como substrato energético durante essa fase. Considerando-se que os principais AG presentes nos triglicérides são os saturados, sugerimos que este consumo de triglicérides nessas primeiras horas não foi verificado para os grupos do presente projeto.

Os PUFAs não diferiram nas primeiras 16 HAF e os principais PUFAs encontrados durante esta fase foram o C18:2n6 e C20:3n6, sugerindo pouco envolvimento desta classe de AG nesta fase, e também que não houve significativa alongação e desaturação uma vez que as porcentagens do primeiro se mantiveram constantes. Alguns autores como Kimata (1982) relatam que para *sea bream* os fosfolipídeos são utilizados primeiramente como combustíveis e, Rainuzzo *et al.*, (1992) relatam que larvas de bacalhau e linguados recém eclodidas que ainda não se alimentaram, consomem seus fosfolipídeos como substrato energético com maior consumo de fosfatidilcolina (Rainuzzo, 1997). A porcentagem de n6 é muito superior a de n3 nos na fração neutra dos ovos de ambos grupos, perfil esse que se manteve até as primeiras 16 HAF, perfil esperado, uma vez que, a quantidade de AGs n3 no ambiente dulciaquícola é muito pequena, em contrapartida aos da série n6. As quantidades mais elevadas de n3 são encontradas principalmente na cadeia trófica de ambiente marinho e conseqüentemente nos ovos e larvas de peixes deste ambiente (Sargent *et al.*, 2002).

Após a eclosão (24 HAF) as larvas de cachara apresentaram aumento significativo dos SFA, tendência esta, que se manteve até as 40 HAF. O ácido graxo mais representativo nos dois grupos foi o C16:0, também encontrado como maior porcentagem em larvas de bacalhau (Sargent *et al.*, 1999), embora os responsáveis pelo aumento foram os AGs C18:0 e C24:0.

Em compensação a esse aumento no percentual dos SFA, ocorreu queda significativa dos MUFAs nas larvas de cachara, com o C18:1n9 e

C18:1n11, apresentando maiores quedas percentuais, indicando que estes foram utilizados, provendo energia no processo de eclosão para rompimento do córion, processo que envolve alto gasto energético. Nos híbridos não houve alteração do perfil dos MUFAs, e estes também não apresentaram diferenças significativas.

Embora morfológicamente não se tenha observado diferenças com relação ao momento da eclosão, quando analisamos os dados de AGs verificamos que o grupo híbrido apresentou uma tendência em maior utilização dos SFAs no momento da eclosão (mesmo que não apresentando diferença significativa), que parece ter fornecido o aporte energético neste momento, enquanto as larvas de cachara utilizaram preferencialmente os MUFAs para o processo de eclosão, mostrando diferenças de mobilização e metabolismo entre os grupos durante essa fase crucial do desenvolvimento. Como a porcentagem de SFAs nos oócitos dos 2 grupos é mais elevada do que de MUFA, sugere-se que a disponibilidade de MUFA possa ser uma limitação que justifique as menores taxas de eclosão relatada pelos piscicultores, quando comparam a produção de cacharas com híbridos.

Os PUFAs, como esperado, praticamente não estavam presentes nos triglicerídeos, sugerindo que sua maior porcentagem estava concentrada na fração polar, incluindo os PUFA n3, que apresentaram percentuais extremamente baixos, e durante essa fase foram encontradas maiores porcentagens dos PUFAs n6 em relação aos n3.

Do 2º para o 3º DAF ambos grupos apresentaram queda no percentual dos SFA, indicando consumo do saco vitelínico, valendo evidenciar que neste momento os animais abrem a boca, que conforme discutido nos parâmetros morfológicos ainda não é funcional, portanto, os animais não se alimentam nessa fase, indicando que sua única fonte energética e estrutural são suas reservas endógenas. Durante esse dia a vesícula gasosa das larvas estão passando pelo processo de expansão e enchimento, estrutura que confere ao animal equilíbrio para obtenção da flutuabilidade neutra para natação (Schmidt-Nielsen, 2002). Durante essa fase as larvas estão passando pela transformação da vesícula gasosa e ainda apresentam natação errática, pois ainda não possuem todas as estruturas anexas (vesícula gasosa, nadadeiras,

etc.) completamente formadas para a natação, processo esse que envolve elevado gasto energético que pode justificar esse consumo desses SFAs.

Do 3º DAF ao 6º. DAF o grupo cachara não apresentou variações na porcentagem de SFA, em contrapartida ao que ocorreu com as larvas híbridas que continuaram consumindo suas reservas de SFA até o 6º DAF. A maior utilização metabólica do AG C16:0 pode ser sugerida para explicar a baixa dos percentuais nessa fase em ambos grupos. Este AG está presente em grandes quantidades no alimento vivo utilizado no presente trabalho (artêmia) e possivelmente, esta elevada quantidade esteja diretamente relacionada ao alimento ingerido e armazenada (Chu & Ozkizilcik, 1995).

Inversamente ao decréscimo observado nos SFAs do 2º para o 3º DAF, os MUFAs se elevaram significativamente em ambos os grupos. Após esse período, ambos grupos apresentaram redução percentual dos MUFAs até o 6º DAF, sugerindo consumo deste substrato, provavelmente devido ao consumo do saco vitelínico. Adicionalmente a esse perfil apresentado pelos MUFAs, ambos grupos apresentaram maiores deposições dos PUFAs nesta mesma fase, indicando maior deposição destes AGs nos triglicérides, possivelmente relacionada a maiores concentrações desses AGs na alimentação. Segundo Sargent *et al.*, (1995) as porcentagens de PUFAs contidas no alimento vivo (náuplios de artêmia) são muito elevadas, com maiores percentuais de C18:3n3 e C18:2n6, seguido por C20:5n3 e C20:4n6. Corroborando estas informações, observamos a partir do 3º DAF um elevados percentuais de C18:2n6 e aumento significativo do percentual do C20:5n3, possivelmente devido ao maior aporte e acúmulo obtido pela alimentação de ambos grupos.

Vale ressaltar que até o 3º DAF os valores percentuais de AGs n6 haviam sido muito superiores ao n3, e nesse dia as porcentagens encontradas são bem próximas, indicando uma relação entre o alimento vivo ingerido com o acréscimo desta classe de lipídeos, uma vez que os percentuais de n3 contidos no alimento vivo, são muito superiores ao n6 (Chu & Ozkizilcik, 1995; Sargent *et al.*, 1999). Esse maior aporte de n6 nas espécies de água doce, são muito provavelmente derivados de uma maior carga proveniente das matrizes, valendo ressaltar que no ambiente dulciaquícola a classe da AGs n6 é mais abundante que a n3.

A partir do 7º para o 8º DAF o grupo híbrido apresentou queda significativa dos SFA, perfil que se manteve constante e sem diferenças significativas do 8º DAF até o 25º DAF. Tal perfil também foi observado nos SFA das larvas de cachara que apresentaram essa queda inicial que não foi significativa e, em seguida os valores sugerem uma elevação dos percentuais dos SFA até o 25º DAF, aumento este associado ao C18:0 que aumentou no 20º e 25º DAF, embora sem diferenças significativas. Esta queda pode estar relacionada à ingestão de alimentos pelas larvas, pois até o 10º DAF os animais se alimentavam de artêmia que possui elevadas quantidades de C16:0 (Chu & Ozkizilcik, 1995; Sargent *et al.*, 1999), e a partir desse dia iniciaram o processo de transição alimentar (treinamento alimentar), que provavelmente interferiu no acúmulo destes substratos nos triglicerídeos.

Embora somente as larvas de cachara tenham apresentado diferença significativa, os MUFAs das larvas de ambos grupos apresentaram comportamento similar com uma queda percentual a partir do 7º até o 10º DAF, e os estoques de MUFAs permaneceram relativamente com os mesmos valores percentuais.

Inversamente ao padrão apresentado pelos SFAs e MUFAs, os PUFAs elevaram seus percentuais até o 10º DAF, e se mantiveram nestas porcentagens elevadas até 25º DAF. O principal ácido graxo responsável pelo aumento dos percentuais dos PUFAs foi o C18:3n3, que um importante PUFA encontrado nas artêmias (Chu & Ozkizilcik, 1995), corroborando este dado com o presente estudo, pois, os animais ingeriam quantidades crescentes desse AG, e conseqüentemente, apresentavam maior taxa de deposição nos TGs, e a partir do processo de transição alimentar deixaram de ingerir este AG, e com isso, decresceram o aporte e o conseqüente acúmulo do C18:3n3 nos TGs. Adicionalmente a essa queda percentual do AG C18:3n3 no 20º e 25º DAF pode ser aferida a uma suposta alongação e desaturação do C18:3n3, que via atividade das elongases e desaturases, transformaram este precursor em HUFAs, pois em contrapartida a essa diminuição deste AG temos um aumento do C20:5n3 e C22:5n3, que não podem ser originários do alimento, uma vez que o período de alimentação com artêmia já havia sido finalizado. Outro dado importante verificado foi a maior deposição de AGs da classe dos n3, que pela primeira vez foi mais representativa que os n6, fato ocorrido no 8º DAF, em



ambos os grupos, que possivelmente se deve ao alto aporte desta classe de AGs contida na artêmia, microcrustáceo que vive em ambiente marinho e talvez por isso possua maiores percentuais destes AGs.

Destacando a deposição dos AGs da fração neutra nos tecidos específicos, verificamos diferenças significativas somente nos SFAs e MUFAs do fígado e MUFAs do encéfalo, este último pela primeira vez e conforme esperado apresentou maiores valores de PUFAs em relação aos SFA e MUFAs, resultado também encontrado por Tocher & Harvie (1988) para bacalhau e truta. O AG de maior percentual no encéfalo foi o DHA, que de certa forma era esperado, uma vez que esse AG se entre outras funções está presente em grandes quantidades na bainha de mielina dos vertebrados em geral.

No grupo cachara houve um aumento significativo dos SFAs no 45<sup>o</sup> DAF em relação aos 32 e 39 DAF, em contrapartida a uma diminuição percentual dos MUFAs, indicando uma substituição dos MUFAs para SFAs nos triglicerídeos hepáticos durante essa fase. Já nos híbridos houve uma elevação (39<sup>o</sup> DAF), seguida por uma queda (45<sup>o</sup> DAF) dos SFAs hepáticos. Os grupos diferiram entre si no 39<sup>o</sup> e 45<sup>o</sup> DAF com relação aos SFAs sendo, os cacharas com maior percentual nos 39<sup>o</sup> DAF seguido pelos híbridos com maior percentual no 45<sup>o</sup> DAF nos triglicerídeos. No encéfalo os cacharas apresentaram queda dos MUFAs no 39<sup>o</sup> DAF em contrapartida a um aumento dos híbridos no mesmo período, sugerindo maior deposição dos MUFAs nos triglicerídeos desse tecido por parte dos híbridos. No músculo aos 39 DAF os cacharas apresentaram maior percentual de SFAs nos triglicerídeos enquanto os híbridos apresentaram maior percentual de PUFAs nos triglicerídeos.

Abordando agora a fração polar dos lipídeos, que, conforme dito anteriormente, são os lipídeos estruturais, ou fosfolipídeos, que são compostos por dois AGs unidos a um grupamento polar por meio de uma ligação fosfodiéster, que confere a estas moléculas sua característica anfipática (cabeça polar e cauda apolar). De uma forma geral os fosfolipídeos possuem na posição sn1, uma SFA ou um MUFA, e na posição sn2 um PUFA, e ao contrário dos triglicerídeos os fosfolipídeos possuem cerca de 80% de PUFAs (Sargent *et al.*, 2002).

O papel dos fosfolipídeos na ontogenia dos peixes tem sido foco de diversos estudos nas duas últimas décadas (Rainuzzo, 1997). Além disso, os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA – *Highly unsaturated fatty acids*) como o ácido docosahexanóico (DHA), ácido eicosapentanóico (EPA) e ácido araquidônico (ARA) constituem a maioria dos componentes estruturais durante a organogênese, como as membranas das células (musculares, cerebrais, retina) e são precursores da atividade fisiológica de moléculas como os eicosanóides (Abi-Ayad *et al.*, 2004), que são moléculas com 20 carbonos derivadas do C20:4n6, e são hormônios parácrinos que atuam produzindo os leucotrienos, tromboxanos e prostaglandinas.

Nos peixes, assim como em todos os animais, os PUFAs têm papel fundamental nas funções celulares. Apesar da capacidade de síntese de ácidos graxos a partir de fontes não lipídicas (*de novo*), os PUFAs especificamente devem ser obtidos a partir da dieta, pois em peixes, não podem ser sintetizados a partir dessa via (Henderson & Tocher, 1987).

Sargent *et al.*, (2002) descrevem os fosfolipídeos, como sendo os AGs com maiores percentuais na fração polar, chegando a possuir de 60 a 80% de PUFAs. Corroborando este autor, o presente trabalho encontrou maiores porcentagens de PUFAs em relação aos SFAs e MUFAs na maioria dos estágios de desenvolvimento analisados em ambos os grupos, embora as porcentagens encontradas não foram tão elevadas quanto as relatadas por estes autores.

Inicialmente, na fase de oócito e ovo fertilizado, ambos os grupos possuem maiores porcentagens de SFAs e PUFAs em relação aos MUFAs. Durante essa fase inicial não houve alterações nos perfis de nenhuma dessas classes de lipídeos, encontrando maiores valores percentuais para C16:0 e C18:0 nos SFAs, C18:1n9 para os MUFAs, C22:6n3 e C20:4n6 para os PUFAs. Segundo Sargent *et al.*, (2002), estes, juntamente com C20:5n3, são os AGs mais abundantes em larvas de peixes e grandes responsáveis pela manutenção da fluidez e permeabilidade das membranas biológicas. É importante lembrar que nesta fase, as larvas são extremamente dependentes desta propriedade, pois segundo Kamler (2008) as larvas, que durante essa fase são sistemas fechados, realizam muitas de suas funções biológicas através dessa fluidez e permeabilidade das membranas e do córion, como

trocas gasosas, troca de calor e água, além da absorção de algumas partículas de pequenas dimensões como sais, glicose, aminoácidos livres, etc (Lasker & Theilacker, 1962; Potts & Rudy, 1969; Eddy 1974; Ronnestad & Fyhn, 1993). Podemos observar uma tendência de utilização dos PUFAs das larvas de ambos grupos nas 16 HAF em relação às 8 HAF, indicada pela tendência na redução de seus valores percentuais, resultado encontrado por outros autores que também afirmam que os PUFAs foram catabolizados para prover a energia necessária para o desenvolvimento dos ovos e larvas, embora a principal função desses AGs seja a formação das membranas celulares (Sargent, 1995).

Foi observado também durante a fase de oócito e ovo fertilizado um perfil dos AGs muito similar ao encontrado na maioria dos ovos e larvas de espécies dulciaquícolas como a truta, perca, *stripped bass*, *roach*, entre outros (Henderson & Tocher, 1987; Anderson *et al.*, 1990; Gunesequera *et al.*, 1999). Porém de uma forma geral, os peixes dulciaquícolas possuem maiores porcentagens de n6 do que de n3 (Anderson *et al.*, 1990; Wiegand, 1996).

Outra observação interessante foi uma tendência de queda dos valores de n3 nas 16 HAF em relação as 8 HAF, que foge um pouco ao resultado esperado, pois, teoricamente estes deveriam ser preservados para suprir o elevado aporte estrutural necessário. Contudo essa tendência de queda ocorre para outras espécies como truta arco-íris, que utilizaram seus PUFAs de forma vagarosa e continua antes da eclosão, e no *catfish* africano e *goldfish* que também utilizaram metabolicamente seus fosfolipídeos durante ontogênese (Henderson & Tocher, 1987; Verreth *et al.*, 1994 ; Desvillettes *et al.*, 1997).

Do momento da eclosão até as 40 HAF, o perfil dos fosfolipídeos permanece praticamente inalterado. Embora os perfis de PUFAs e SFAs representem os maiores percentuais encontrados nessa fase, estes não se alteraram e não foram diferentes ao longo do tempo, apresentando uma única diferença no momento da eclosão nos SFAs. Assim como na fase de ovo fertilizado, o perfil dos SFAs foi elevado devido a altos percentuais dos C16:0 e C18:0, e dos PUFAs, foram os AGs C22:6n3, C20:4n6, com baixo percentual do C20:5n3, que assim como os outros PUFAs são as formas ativas dos EFA (EFA – do inglês - *Essential fatty acids*) nos vertebrados e desempenham papel fundamental na ontogenia das larvas dos teleósteos (Sargent *et al.*, 2002). Tocher *et al.*, (1985); Fraser *et al.*, (1988); Ostrowski & Divakaran, (1991)

afirmam que, respectivamente para *Clupea harengus*, bacalhau e para o dourado marinho, parte dos fosfolipídeos foram consumidos durante a embriogênese, sendo primeiramente utilizada para o metabolismo e em menor quantidade para a embriogênese. Conforme dito anteriormente, o C22:6n3 possui função extremamente importante na fluidez das membranas e estes valores elevados encontrados durante essa fase talvez sejam explicados por essa função biológica.

Sargent *et al.*, (2002) afirmam que nos fosfolipídeos a proporção de n3 para n6 mais encontrada nos teleósteos é de 0,5, o que não foi encontrado em nenhuma dessas duas fases analisadas até o presente momento. Sendo que os valores encontrados durante essas fases foi em média 0,7.

Assim como na fração neutra, na fração polar, todos os AGs durante essas duas fases são provenientes da dieta materna, e no caso desta última estão localizadas nas membranas celulares. Em larvas de *Psetta maxima*, obtidas de matrizes de cativeiro e ambiente natural, os HUFAs n3 não diferiram, embora os percentuais de C18:2n6 e C18:1n9, foram muito mais elevados nas larvas obtidas no cativeiro, evidenciando que a variação da composição dos AGs dos ovos e larvas variam entre as espécies, e entre os ambientes. E, embora a composição fisiológica do ovo seja uma característica conservada e forte, a alimentação das matrizes interfere diretamente na composição dos ovos e das larvas (Silversand *et al.*, 1996). Outras espécies estudadas evidenciam a influência da composição dos AGs da dieta materna na qualidade dos ovos e das larvas, incluindo *gilthead seabream* Fernandez-Palacios *et al.*, 1995; Alamansa *et al.*, 1999), *European seabass* (Bell *et al.*, 1997), *striped jack* (Vasallo Agius *et al.*, 1998), bacalhau do Atlântico (Silversand *et al.*, 1995).

Zambonino-Infante & Cahu (1999) testando inclusão de lipídeos (fosfolipídeos) na dieta de *sea bass* (*Dicentrarchus labrax*) verificaram o desenvolvimento mais rápido das larvas, bem como maturação mais eficaz dos órgãos e tecidos de seu trato digestório.

Henderson & Tocher (1987) afirmam que, para a maioria das espécies dulciaquícolas e marinhas de clima temperado, os fosfolipídeos dos ovos são muito mais ricos nos AGs n3 do que nos n6, resultado esse oposto ao encontrado nos ovos e larvas de cachara e do híbrido. Nos peixes marinhos

esse resultado se justifica, pois, os n3 estão presentes em quantidades mais elevadas na cadeia alimentar marinha em relação a cadeia alimentar de água doce, que apresenta maiores quantidades dos n6.

Além do ambiente (marinho ou dulciaquícola) influenciar quantitativa e qualitativamente, o nível trófico também influencia (carnívoro, onívoro e piscívoro), mostrando que essas variáveis afetam diretamente a fisiologia dos animais (Tocher, 2010). Essas condições geraram adaptações evolutivas nos animais para selecioná-los ao ambiente e à disponibilidade dos AGs presentes nesses diferentes ambientes. Os AGs polinsaturados provenientes das cadeias alimentares dos ambientes aquáticos são todos provenientes dos produtores primários ou mais especificamente das algas. Nos ambientes marinhos os AGs com maior disponibilidade no fitoplâncton são os HUFA n3, EPA e DHA, enquanto nos ambientes dulciaquícolas os maiores níveis fitoplanctônicos são os C18:2n6 e C18:3n3, com menores quantidades de EPA e DHA (Sargent *et al.*, 1995). Com isso, os animais do ambiente marinho não foram selecionados evolutivamente para apresentar a capacidade de produzir estes HUFAs, uma vez que no ambiente havia elevada disponibilidade. Em contrapartida, no ambiente de água doce os animais sofreram esse pressão para “produzir” estes HUFAs, a partir dos seus precursores, que estão disponíveis no ambiente dulciaquícola. Estes processos ocorrem em todos os vertebrados, incluindo os peixes, e envolvem a desaturação e alongação dos C18:3n3 e C18:2n6, formando então os HUFAs a partir dos PUFAs precursores (Tocher, 2010). Outro dado importante relatado está no fato de que para diversas espécies marinhas como linguado, bacalhau, sardinha, entre outros, o percentual de C22:5n3 e C22:6n3 são quase os mesmos (1:1) (Tocher & Sargent, 1984; Falk-Petersen *et al.*, 1989; Rainuzzo, 1993; Parrish *et al.*, 1998), enquanto para as espécies estudadas as porcentagens dos mesmos AGs na mesma fase foram de 1:10.

Nas larvas com 2 até 6 DAF, assim como as fases anteriores os SFAs e PUFAs apresentaram maiores percentuais que os MUFAs, embora os MUFAs e PUFAs tenham apresentado diferenças significativas. Do 2º para o 3º DAF e do 3º para o 4º DAF, podemos observar uma tendência decrescente e crescente dos valores de PUFAs nas larvas híbridas e dos cacharas respectivamente, sendo as larvas de cachara diferentes significativamente.

Este decréscimo pode ser devido ao período em que os animais se encontravam, no qual ainda apresentavam natação errática, e estavam em processo de expansão e enchimento da bexiga natatória, e ainda não possuíam as estruturas necessárias para a natação correta para as diversas funções como captura de alimento, fuga de predadores, etc. Estes comportamentos são citados devido ao seu elevado gasto energético e talvez, sejam estes os principais motivos do investimento de PUFAs dos fosfolípidos durante uma fase em que as larvas deveriam resguardar suas estruturas para crescimento e desenvolvimento.

No 3º DAF ambos grupos apresentaram um pico percentual de MUFAs, o qual foi devido a uma elevação dos AGs C17:1 e C18:1n11, e em contrapartida a esse aumento dos MUFAs no 3º DAF, houve uma queda significativa dos PUFAs nessa fase, que curiosamente, vai contra o esperado, pois, durante esse dia as larvas de ambos grupos utilizaram os PUFAs e preservaram o MUFAs, opondo o que geralmente é observado nessa fase. No 4º. DAF a porcentagem de MUFAs foi diferente entre os grupos sugerindo que neste momento os cacharas utilizaram mais MUFAs do que os híbridos e no 5º DAF ocorreu o inverso, sendo que provavelmente nos dois dias os animais consumiram os MUFAs dos fosfolípidos.

O perfil dos PUFAs n3 foi diferente entre as larvas dos 2 grupos no 2º, 5º e 6º DAF, e o AG DHA apresentou maior porcentagem durante esses dias. Esses AGs como já dito anteriormente, atuam em funções específicas, em estruturas da retina, encéfalo, e funções neuromusculares, tecidos e atividades que estão em pleno desenvolvimento durante esses dias. Continuamente ao perfil observado para as fases anteriores, podemos verificar que os SFAs mantiveram seus percentuais sem nenhuma diferença significativa entre os grupos e nem ao longo do tempo. Já os MUFAs apresentaram valores decrescentes significativamente diferentes, ao longo do tempo. Quando analisamos por AG verificamos que a maior queda ocorreu no C17:1, que ocorre em grandes quantidades na artêmia, e provavelmente são provenientes alimentação, e por serem facilmente obtidos serviram como fonte energética. Os maiores valores dos MUFAs foram encontrados no C18:1n9 que como citado anteriormente são um dos principais AGs dos fosfolípidos (Sargent, 1995).

Os resultados obtidos do 7<sup>o</sup> ao 25<sup>o</sup> DAF foram similares aos encontrados até aqui, com os SFAs e PUFAs. Das classes de PUFAs, os que apresentaram maiores percentuais foram aqueles da série n3, com valores muito superiores aos n6, chegando a proporções entre 2,5 a 3,0 vezes. Este perfil crescente da porcentagem dos PUFAs nos fosfolipídeos, embora não tenham sido diferentes, apresentaram uma tendência crescente, talvez inerente ao elevado crescimento e formação dos tecidos, principalmente tecidos específicos como encéfalo com percentuais elevados de DHA, EPA, ARA, LA, que são imprescindíveis para a formação das membranas (bainha de mielina, etc) (Tocher, 2010). Em contrapartida a essa elevação dos PUFAs houve uma queda dos MUFAs que foi significativa no grupo cachara, sugerindo envio destes AGs para metabolismo, e retenção dos PUFAs para os fosfolipídeos.

Nos 3 tecidos específicos analisados os PUFAs e SFAs estiverem presentes em maiores porcentagens na fração polar. Os PUFAs apresentaram ligeiro aumento na fração polar do tecido hepático ao longo do tempo, estatisticamente diferente em cacharas, que possivelmente se deve ao crescimento dos animais e consequente maior deposição dos PUFAs nas membranas deste tecido.

No encéfalo houve uma estabilidade na porcentagem dos diferentes AGs ao longo do tempo e entre os grupos, e a porcentagem de PUFAs foi maior que de MUFAs, resultado também encontrado por Tocher & Harvie (1988) para bacalhau e truta. O AG de maior percentual no encéfalo foi o DHA, que de certa forma era esperado, uma vez que esse AG está presente em grandes quantidades na bainha de mielina dos vertebrados em geral. O principal motivo desse AG se concentrar em maiores percentuais no tecido nervoso, se relaciona a sua função. Acreditava-se que este AG estava juntamente com o C20:5n3 presente em grandes quantidades nos tecidos nervosos dos peixes para maior adequação a ambientes de temperaturas mais baixas para manutenção da fluidez dos fosfolipídeos da membrana, porém também foram encontrados percentuais extremamente elevados em espécies de clima tropical, inclusive em peixes como atum considerado de “endotérmicos”. Porém atualmente se sabe que a fluidez dos fosfolipídeos como os fosfoglicerídeos e consequentemente das membranas se deve principalmente à relação entre os SFAs e MUFAs, que aumentam e diminuem de acordo com a necessidade

(Wodtke & Cossins, 1991). Contudo o que torna o C22:6n3 único entre os AGs e por isso, talvez justifique sua elevada ocorrência em tecidos específicos (nervoso, retina, etc) se deve a sua capacidade de possuir o maior número de duplas ligações *cis*-metil, ininterruptas possíveis a um AG C22. Estas ligações permitem a este AG uma forma compacta com um comprimento similar a um AG C16 (Applegate & Glomsett, 1986). Estas ligações particulares desta molécula são extremamente importantes, pois permitem mobilidade das proteínas de membrana, bem como rápidas mudanças na conformação da membrana, que são extremamente fundamentais nos sistemas visuais e em processos neuromusculares, que durante essa fase são imprescindíveis (Brown, 1994).

#### **5.4. Enzimas Digestórias**

As enzimas digestivas têm como função hidrolisar os macronutrientes que compõem os alimentos transformando-os em compostos menores que possam ser absorvidos pelos enterócitos (Lundstedt, 2003). Estas enzimas podem ser secretadas por diversos órgãos ou mesmo secretadas por tecidos, podendo ainda atuar de diferentes formas ou estratégias como, por exemplo, digestão extracelular ou luminal, digestão de contato com a membrana ou digestão intracelular (Lundstedt, 2003).

Assim como são escassos os estudos voltados para a morfologia e desenvolvimento das larvas de peixes tropicais de água doce, são também escassos na literatura estudos voltados para a fisiologia enzimática em larvas de peixes, e esses estudos se tornam ainda mais incipientes quando se voltam para as espécies tropicais de água doce (Baldisserotto & Gomes, 2005). Durante anos se imaginava que as larvas de peixes não possuíam enzimas digestivas suficientes para digerir o alimento inerte (Lauff & Hoffer, 1984; Kolkovski *et al.*, 1997), e para suprir essa ausência ou menor atividade enzimática durante essa fase é utilizado o alimento vivo, que, fornece as enzimas digestivas, realizando o processo de autólise no intestino das larvas de peixes, processo esse estudado em diversos trabalhos (Watanabe & Kiron, 1994; Ronnestad *et al.*, 1999; Yufera *et al.*, 1999), porém, tal hipótese só se



confirmou em larvas de *gilthead sea bream* (*Sparus aurata*), e ainda não foi comprovado para outras espécies (Kolkovski, 2001).

Os processos digestivos em peixes são menos conhecidos em comparação aos mamíferos, entretanto, os dados disponíveis são quantitativamente semelhantes àqueles observados para os outros vertebrados. Existem inúmeras dificuldades em estudar os processos enzimáticos e a atividade enzimática em peixes, principalmente quando se estuda a fase larval dos animais. A dificuldade em se estudar as enzimas digestivas envolve alguns problemas metodológicos utilizados nas análises como, por exemplo, homogeneização das glândulas anexas ao trato digestório (pâncreas, etc.), o estado nutricional no momento da coleta (jejum, trato digestório repleto de alimento, etc.), em alguns casos se utilizar o animal inteiro para as análises (larvas inteiras, *pool* de larvas, etc.), ou ainda lavagem do tecido antes da homogeneização. Tais procedimentos podem alterar as análises ou ainda alterar o padrão que será utilizado para estas análises (Hidalgo *et al.*, 1999).

Estes fatores aliados à variedade de técnicas utilizadas para determinar e expressar a atividade das enzimas digestivas (diferentes substratos, pH, tempo e temperatura de incubação, etc.) tornam difíceis os estudos para determinar valores absolutos das atividades, bem como tornam difíceis as comparações com outros trabalhos e com outras espécies (Hidalgo *et al.*, 1999).

Analisando-se os dados de protease para os animais do presente trabalho, observa-se que em relação à protease inespecífica, no pH 2,0, os valores de atividade enzimática obtidos para ambos os grupos com 10 DAF são claramente indicativos de que os animais não apresentam completo desenvolvimento de seu órgão responsável pela hidrólise ácida, ou seja, o estômago ainda não está completamente desenvolvido com as células secretoras de ácido clorídrico e pepsina ativadas. Isto fica ainda mais evidente quando observamos os animais com 10 DAF em diante, pois, se olharmos os dados morfológicos de ambos os grupos, verificamos que somente a partir dos 10 primeiros DAF os animais apresentam formação mais robusta do estômago, órgão cuja atividade enzimática apresenta sua maior eficácia em pH em torno de 2,0.

Segner (1993) propõe uma definição de estômago larval, como sendo, uma estrutura ou órgão que possua glândulas digestivas, diferenciação de parede pilórica, ambiente ácido no lúmen estomacal, e atividade péptica elevada, ou seja, este órgão só será considerado como tal, caso possua tais estruturas e conseqüentemente, esteja ativo, uma vez que tais estruturas são determinantes para o funcionamento do estômago.

Zambonino-Infante & Cahu (2001) afirmam que o estômago apresenta sua atividade enzimática devido à presença das células secretoras de ácido clorídrico e pepsina, porém sua completa formação segundo Walford & Lam (1993) só ocorre no 15º DAF. Em *red drum* (*Sciaenops ocellata*) (Holt *et al.*, 1981) e em dourado (*Salminus brasiliensis*) (Veja-Orellana *et al.*, 2006) foi verificado completo desenvolvimento do estômago com 7 DAE, embora estas sejam exceções, pois, a maioria das larvas apresenta atividade proteolítica ácida apenas a partir do 15º DAE (Clark *et al.*, 1986; Bouhlic & Gabaudan, 1992; Walford & Lam, 1993; Douglas *et al.*, 1999). Holt *et al.*, (1981) observaram completo desenvolvimento estomacal juntamente com atividade péptica em larvas de linguado com 7 DAF.

A partir do 15º DAF, observamos um grande aumento da atividade enzimática de ambos os grupos que não apresentem diferenças entre si e tem um comportamento que caminha juntamente com os parâmetros morfológicos, como, a formação complexa do estômago a partir do 15º DAF. Os valores encontrados para o cachara e o híbrido seguem o padrão descrito por Walford & Lam (1993) que, afirmam que, para a maioria das espécies o estômago apresenta formação completa no 15º DAF, embora a presença das glândulas gástricas para a maioria das espécies de peixes marinhos de clima temperado ocorra com cerca de 25 DAF (Walford & Lam 1993; Zambonino-Infante & Cahu, 2001).

Assim como nas outras fases do desenvolvimento poucas diferenças significativas foram encontradas, entretanto, no último dia analisado (45º DAF), foi verificada uma maior atividade proteolítica por parte dos cacharas, que provavelmente apresentaram maior concentração de enzimas devido a uma possível maior estrutura estomacal, ou maior quantidade de células principais e parietais, pois aos 32 e 39 DAF os cacharas já apresentam uma tendência de maior atividade ácida.

Embora a atividade das proteases inespecíficas tenha apresentado flutuações de seus valores ao longo dos 7 primeiros dias após a fertilização, podemos observar uma elevação relativamente significativa a partir do 10 DAF, embora a forma de se expressar a atividade proteolítica, não represente a real atividade por indivíduo, uma vez que houve um aumento da concentração de proteínas totais corpórea das larvas de ambos os grupos. A forma utilizada para expressar a atividade das enzimas foi U (unidades de tirosina por minuto) por miligramas de proteína, e com isso, essa forma de expressar pode ter mascarado a real atividade enzimática que deveria ser expressa por unidade de larvas. Tal fato ocorreu também com Ma *et al.*, (2005), no qual a atividade apresenta uma queda, onde o autor chama a atenção para ter cautela na forma de expressar a atividade das enzimas, pois em seu estudo a atividade decaiu justamente por causa do aumento da concentração de proteínas ao longo do tempo de desenvolvimento das larvas. Para que tal dúvida não ocorresse no presente trabalho utilizaremos as duas formas de expressar a atividade, que será apresentada ao final da discussão.

Como era esperado, no estômago dos alevinos de cachara e do híbrido foi onde ocorreram as maiores atividades proteolíticas ácidas, pois os animais durante esse período (32, 39 e 45 DAF), apresentam completo desenvolvimento do estômago. Esse resultado também foi encontrado em diversos trabalhos (Suzer *et al.*, 2007; Zambonino-Infante & Cahu, 1994; Moyano, *et al.*, 1996; Sánchez-Amaya *et al.*, 2007) que descrevem os picos iniciais e maiores picos de atividade de pepsina durante esse período de 35 a 45 DAE, que coincide com a completa formação do estômago.

A atividade de protease inespecífica em pH ácido no intestino foi extremamente baixa, resultado esperado, uma vez que o pH intestinal gira em torno de 8,0, longe da faixa de pH ideal para a atividade ácida, que evidencia que nesse órgão a atividade enzimática ácida praticamente não existe nos alevinos de cachara e híbridos.

Quando expressamos a atividade por unidade de larva, esperávamos que os dados fossem mais uniformes e com isso, representaríamos a atividade de uma forma mais segura. No entanto, quando analisamos graficamente, observamos que praticamente não há atividade ácida no 1º DAF em nenhum dos grupos. Após o 1º DAF observamos valores extremamente baixos até 10º

DAF, e somente a partir dessa coleta em diante observamos atividade crescente, e que nos mostra atividade elevada já a partir do 15º DAF. Durante os primeiros dias não observamos atividade ácida, mesmo durante o período em que os animais estão sendo alimentados com alimento vivo, portanto, fica claro que nem com a ingestão de alimento vivo as larvas de nenhum dos grupos responderam positivamente com maior atividade ácida nesses dias. Do 15º DAF em diante os animais já se encontram no período de treinamento alimentar e praticamente ingerem pouco alimento vivo, indicando que praticamente todo o aporte enzimático é proveniente única e exclusivamente das larvas e alevinos de cachara e híbrido.

Analisando a atividade básica (pH 8,0) da protease inespecífica, em contrapartida à atividade ácida, esta apresentou atividade enzimática relativamente elevada desde a fase de oócito (momento 0), apresentando-se crescente até o 6º DAF. Outros autores (Ma *et al.*, 2005) também encontraram atividade básica antes mesmo da eclosão dos animais sugerindo que estas enzimas presentes são provenientes das fêmeas, transferidas pelo vitelo. Podemos observar também que a atividade é crescente para as larvas de híbrido durante os dois primeiros dias, indicando incremento da atividade conforme avança o desenvolvimento desse grupo. Já as larvas de cachara apresentam atividades estáveis durante o primeiro dia e no 2º DAF apresentam incremento leve nas 40 HAF, embora, a atividade enzimática das larvas de ambos os grupos não sejam diferentes.

Do 2º para o 3º DAF os valores de atividade são crescentes em ambos os grupos, sendo que as larvas de cachara estabilizam sua atividade e as larvas de híbrido continuam com valores crescentes de atividade até o 4º DAF e estabilizam a atividade que permanece nesse patamar até o 6º DAF. Esses valores elevados apresentados pelas larvas de ambos os grupos são possivelmente representados por atividades de mais de uma enzima, pois o substrato utilizado permite ação de mais de uma enzima, e como existem nesse pH ação de outras enzimas como tripsina e quimiotripsina, além de outras enzimas do suco pancreático, esta elevada atividade inespecífica é observada durante o desenvolvimento dos animais.

Em contrapartida aos crescentes valores de atividade observados até o 6º DAF, do 7º DAF em diante os valores flutuam com pequenas diferenças

significativas entre os grupos e apenas em dias pontuais, porém o perfil enzimático das larvas apresenta decréscimo até o 25º DAF. De uma forma geral a atividade foi muito similar entre os grupos, e como podemos observar, apresentaram atividade alta, possivelmente como forma de compensar a baixa atividade ácida, uma vez que as proteínas são o principal substrato alimentar dos peixes carnívoros, e quando observamos a partir do 10 e 15º DAF a atividade básica decresce em contrapartida a uma elevação da atividade ácida, sugerindo exatamente esta compensação e possível complementação entre as enzimas ácidas e básicas. Isto fica evidente quando observamos o comportamento enzimático das larvas de cachara que ao elevar a atividade ácida nos dias 20 e 25 decrescem sua atividade básica, complementando ou compensando seu potencial catalítico protéico, através destes ajustes e modulações enzimáticas.

É importante também destacar as elevadas atividades de proteases inespecíficas em pH 8,0 dos animais híbridos em relação aos cacharas entre 15 e 25 DAF, sugerindo um potencial catalítico protéico melhor para estes animais nesta fase, o que pode culminar em um melhor aproveitamento das proteínas da dieta e conseqüentemente melhor desempenho e sobrevivência dos híbridos nesta fase.

Vega-Orellana *et al.*, (2006) verificaram esse perfil quando analisaram larvas de dourado, e concluíram que as larvas apresentaram uma forma de compensar a baixa atividade ácida com elevada atividade básica, resultados verificados também para larvas de *turbot* (Munilla-Moran & Stark, 1989), *Dover sole* (Clark *et al.*, 1986), *Asian seabass* (Walford & Lam, 1993), *Senegal sole* (Ribeiro *et al.*, 1999) e *European seabass* (Zambonino-Infante & Cahu, 2001).

Lundstedt (2003) afirma que o fluido gástrico pode conter diferentes proteases que podem atuar em diferentes pHs ótimos (2,0, 3,0, 5,0 e 8,5), porém segundo Fange & Groove (1979) e Lovell (1988) os valores com maior eficácia enzimática estão entre 2,0 e 3,0, sendo a pepsina a maior responsável por esta atividade.

Curiosamente quando analisamos a atividade nos tecidos específicos tratando inicialmente do estômago, observamos maiores valores significativamente diferentes em todas as coletas no grupo cachara quando comparados ao híbrido no mesmo período de desenvolvimento. Tal resultado

surpreende, uma vez que no estômago o pH ideal para hidrólise está em torno de 2,0, e mesmo assim, foi encontrada hidrólise em ambos os grupos. Outros trabalhos também relatam atividade básica no estômago (Lundstedt, 2003 e Melo *et al.*, 2002) com espécies de Siluriformes.

Esta maior atividade apresentada pelo grupo cachara nesta fase se contrapõe ao observado na fase anterior e sugere que estes animais possuam a partir de agora um maior potencial proteolítico, incluindo uma possível maior necessidade protéica, ou ainda uma compensação enzimática em resposta a baixa atividade de quimiotripsina, que como visto nos resultados se apresentaram extremamente baixas em comparação a protease inespecífica e tripsina.

Quando analisamos o intestino podemos observar um padrão bem variável ao longo das coletas. Além dos grupos não apresentarem diferenças entre si e nem ao longo do tempo, os valores de atividade encontrados alteram-se entre os grupos, sendo difícil inferir a origem e causa desta variabilidade enzimática. A avaliação final sobre o potencial das enzimas inespecíficas durante o período experimental nos mostra que a atividade básica predomina durante todas as fases do desenvolvimento dos animais, sendo que a atividade inespecífica ácida somente ocorre com elevados valores no estômago quando analisado isoladamente.

Quando observamos os resultados de atividade enzimática apresentados por unidade de larva, encontramos atividade elevadas mesmo antes das larvas dos dois grupos eclodirem. Isto é intrigante, porém justificável, pois o aporte enzimático obtido é proveniente das matrizes. Se traçarmos um perfil ao longo do 1º DAF, observamos valores decrescentes em ambos os grupos que se equiparam nas 16 HAF. Assim como outros trabalhos com *Dover sole* (Clark *et al.*, 1986), *gilthead sea bream* (Moyano *et al.*, 1996), *Asian sea bass* (Walford & Lam, 1993), *Senegal sole* (Ribeiro *et al.*, 1999), *European sea bass* (Zambonino-Infante & Cahu, 2001), *discus* (Chong *et al.*, 2002), as larvas de cachara e do híbrido também apresentam atividade de proteases básicas antes mesmo da eclosão.

Em contrapartida ao decréscimo verificado no 1º DAF no 2º DAF observamos valores crescentes de atividade inespecífica para ambos os grupos. Durante esse dia os animais ainda se encontram com a boca fechada,

portanto todo aporte enzimático presente nesse momento é proveniente da própria larva, evidenciando que as larvas de cachara e do híbrido apresentam suas próprias enzimas digestivas mesmo antes de se alimentarem, mostrando uma preparação digestiva prévia à abertura da boca, para que quando se alimentarem tenham condições de digerir o alimento. Este resultado encontrado também reforça o fato de que as larvas de cachara e do híbrido não dependem apenas de aporte enzimático exógeno como sugerido em outros trabalhos (Kolkovski, 2001).

Seguindo o desenvolvimento, agora em relação ao 2º dia em diante, continuamos a observar elevação da atividade enzimática dos dois grupos experimentais que apresenta este perfil crescente até o 5º DAF, sendo que no 6º DAF a atividade apresenta um queda no perfil de ambos os grupos. Essa queda é curiosa, pois ambos os grupos apresentaram o mesmo perfil ao longo desses dias analisados, ambos apresentando um pico no 5º DAF seguido de uma queda no 6º DAF. Tal queda é difícil de ser justificada, pois não foram verificados problemas com doenças ou quedas bruscas de temperatura da água, nem qualquer outro possível problema metodológico. Quando observamos os dias seguintes a atividade volta a subir, portanto, fica indefinida a razão dessa diminuição pontual da atividade enzimática.

As larvas de híbrido apresentaram atividades significativamente maiores que as larvas de cachara do 4º até o 25º DAF, e possivelmente possuam maior aporte enzimático que as larvas dos cacharas, pois a expressão de atividade por unidade de indivíduos nos permite inferir a certeza do potencial enzimático por animal, concluindo que o grupo híbrido, durante essa fase apresenta maior atividade, que pode ser atribuída a talvez uma maior necessidade protéica e por isso, maior aporte enzimático para quebrar essa elevada necessidade de proteínas. Esta afirmação deve ser feita com cautela, pois nem sempre as enzimas digestórias respondem indutivamente as necessidades nutricionais ou a dieta fornecida e diversos trabalhos com larvas relatam que nem sempre essas enzimas respondem da forma esperada (Péres *et al.*, 1996; 1998; Zambonino-Infante *et al.*, 1997), embora alguns trabalhos relatam a responsividade positiva das enzimas de acordo com o aumento de proteínas na dieta, porém a resposta depende da fase larval do desenvolvimento. Este fato foi analisado por Péres *et al.*, (1996) que verificaram respostas indutivas

positivas em larvas de seabass que responderam com maiores atividades de tripsina a percentuais crescentes de proteína na dieta.

Analisando a atividade proteolítica de enzimas específicas, inicialmente a tripsina, podemos verificar nas primeiras horas após a fertilização, maior atividade no grupo híbrido em relação às larvas de cachara, sugerindo que as larvas híbridas herdaram maior aporte enzimático das matrizes. Assim como nas larvas de híbridos e cachara, em outras espécies também foram encontradas atividades tripticas antes da eclosão ou durante as primeiras horas após a fertilização como *Dover sole* (Clark *et al.*, 1986), *gilthead sea bream* (Moyano *et al.*, 1996), *Asian sea bass* (Walford & Lam, 1993), *Senegal sole* (Ribeiro *et al.*, 1999), *European sea bass* (Zambonino-Infante & Cahu, 2001), *discus* (Chong *et al.*, 2002).

É importante ressaltar que durante esse período os animais ainda não eclodiram e, portanto todo aporte enzimático presente em ambos os grupos é proveniente dos reprodutores. Vale lembrar também que a fêmea é cachara e, com isso, esperava-se um perfil inicial de ambos os grupos mais equiparado, o que não se confirmou quando os grupos são comparados. Porém, podemos observar que na próxima coleta os valores apresentados se equiparam, sugerindo agora uma maior similaridade entre os grupos, pois como as matrizes são da mesma espécie, possivelmente “forneceram” aporte enzimático similar para seus descendentes.

No 1º DAF podemos observar alta similaridade das atividades apresentadas entre os grupos, com uma diferença nas 32 HAF, e embora os valores sejam muito próximos, os híbridos apresentaram atividade mais elevada. Do 2º DAF em diante os grupos apresentaram flutuações dos valores de tripsina e, embora ambos os grupos apresentem um pico de atividade no 3º DAF, este não permanece ao longo do tempo. Estas flutuações de valores da tripsina também podem ser observadas com outras espécies de carnívoros como dourado (Vega-Orellana *et al.*, 2006), *Seriola lalandi* (Chen, *et al.*, 2006), *Diplodus puntazzo* (Suzer *et al.*, 2007) e *Pseudosciaena crocea* (Ma *et al.*, 2005).

As atividades enzimáticas encontradas entre o 2º ao 25º DAF indicam diferenças significativas e flutuações nos padrões, que se alternam, hora com um grupo com maior atividade e, hora com outro grupo com maior atividade, e



deixam instável o perfil apresentado. O padrão esperado para a atividade de tripsina seria crescente de forma a acompanhar o desenvolvimento dos animais, bem como, sua organogênese, que deveria fornecer maior aporte enzimático ao longo do tempo, sendo isto válido para os dois grupos. Variações como estas foram encontradas também para dourado (Vega-Orellana *et al.*, 2006) e assim como no presente trabalho fica difícil caracterizar a real influência do aporte protéico na ontogenia da atividade da tripsina uma vez que a forma utilizada para expressar inicialmente foi dividindo-se a atividade pelas proteínas do tecido (Zambonino-Infante & Cahu, 2001; Vega-Orellana *et al.*, 2006).

Assim como a protease inespecífica, a tripsina também apresentou atividade no estômago dos alevinos de cachara e dos híbridos, com valores bem similares entre os grupos. Embora seja intrigante, outros trabalhos relatam elevadas atividades proteolíticas alcalinas no estômago. Hsu & Whu (1979) encontraram atividades de tripsina e quimiotripsina em 8 espécies de peixes estudadas, em todos os segmentos do trato digestório. Lundstedt (2003) encontrou atividade de tripsina e quimiotripsina no estômago de pintado, e Melo (2002) também verificou atividade das mesmas enzimas supracitadas, no estômago de jundiás, e ainda mais intrigante relatado por Sabapathy & Teo (1993) que encontraram atividades de tripsina e quimiotripsina desde o esôfago até o intestino de *rabbitfish* (*Siganus canaliculatus*).

A atividade tríptica intestinal foi praticamente equivalente à atividade tríptica estomacal para ambos os grupos, fato esse que não foi tão surpreendente, pois, para o pintado, espécie congênica ao cachara e “reprodutor macho” do híbrido, Lundstedt (2003) encontrou valores proteolíticos intestinais muito baixos quando, comparados aos estomacais, levando a autora a inferir maior importância proteolítica ao estômago em relação ao intestino, sendo este último mais importante para absorção dos nutrientes.

Em contrapartida aos resultados encontrados por Lundstedt (2003), o presente trabalho verificou que a atividade encontrada para quimiotripsina no intestino nos alevinos de cachara e do híbrido é da ordem de mil vezes inferior à atividade encontrada para tripsina, autora que observou este resultado testando variações protéicas e energéticas em juvenis de pintado (*Pseudoplastystoma corruscans*). Vega-Orellana *et al.*, (2006) assim como

Lundstedt (2003) também verificou maiores atividades de quimiotripsina em relação às atividades trípticas do 1º DAF ao 6º DAF em larvas de dourado (*Salminus brasiliensis*), resultado esse também encontrado em *Dover sole* (Clark *et al.*, 1986) e em carpa (Ragyanszky, 1980).

Durante os primeiros 25 DAF os valores encontrados para a atividade de quimiotripsina, nos mostram grande variabilidade entre os grupos, com alternância de maiores atividades e flutuações dos valores, com os resultados sempre muito similares entre ambos os grupos.

Quando analisamos os dados de tripsina expressos por unidade de larva, podemos observar que os desvios obtidos impediram a ocorrência de diferenças significativas entre os grupos. No entanto, também podemos observar que mesmo que a atividade seja muito baixa, ambos os grupos possuem atividades que tripsina antes da eclosão e antes da abertura da boca. Isto volta a reforçar o fato de que as larvas de cachara e híbrido não são dependentes de aporte enzimático exógeno para digerir seu alimento. De uma maneira geral, as larvas de híbrido e cachara apresentaram perfil muito similar de atividade de tripsina, e mesmo com desvios elevados, podemos observar que a média da atividade se encontra bem próxima entre os grupos.

Assim como os elevados valores de tripsina, os valores de quimiotripsina estomacais do grupo cachara e híbrido também foram muito elevados e, assim como, a protease inespecífica básica, os valores apresentados pelo grupo cachara foram mais elevados e significativamente diferentes que o grupo híbrido em todas as coletas, o que nos faz novamente pensar em uma maior necessidade de aporte enzimático, para suprir a elevada necessidade protéica desses alevinos durante essa fase, lembrando que as enzimas variam quanto a sua responsividade as necessidades alimentares.

Inesperadamente os valores encontrados para o intestino foram menores nos cacharas do que os encontrados no estômago, uma vez que é exatamente no intestino, o local onde o suco pancreático, que contém a quimiotripsina, tem sua liberação. Dessa forma esperávamos encontrar maiores atividades nesse tecido, porém não foi o que verificamos nos cacharas, embora alguns outros trabalhos relatem os mesmos resultados encontrados para os cacharas, como Hsu & Whu (1979), Lundstedt (2003) e Melo (2002).

Assim como a tripsina a quimiotripsina quando foi expressa por unidade de larva apresentou elevados valores de erro padrão e isso de certa forma impossibilitou a ocorrência de diferenças significativas. Nas primeiras horas do 1º dia as larvas de cachara mostram indícios de possuírem maior aporte enzimático, embora isso não se confirme significativamente. Durante o desenvolvimento as larvas de ambos os grupos apresentam flutuações dos seus valores, embora o grupo cachara, na maioria das coletas, os valores sugerem maior aporte de quimiotripsina para as larvas.

Resultados citados por outros diversos autores sugerem contribuições do alimento vivo como fontes de enzimas exógenas pudessem alterar o potencial enzimático das larvas (Kolkovski, 2001) ou ainda estimular secreções pancreáticas ou respostas endócrinas (Zambonino-Infante & Cahu, 2001), no entanto, no presente trabalho foram verificadas atividades enzimáticas nas larvas de ambos os grupos em fases antes mesmo da abertura da boca. Contudo, não foi observada nenhuma relação entre as enzimas provenientes do alimento vivo e as enzimas produzidas pelas larvas, pois mesmo antes da eclosão e antes da abertura da boca em que atividade de protease ácida não era verificada, tripsina e quimiotripsina foram detectadas, sugerindo que as larvas de cachara e híbrido são as maiores responsáveis pela própria atividade enzimática, não sendo dependentes de alimento vivo especificamente como aporte enzimático. Estes resultados contrapõe alguns autores como Kolkovski (2001) que encontrou atividades de até 95% provenientes do alimento vivo. Desta forma, o presente trabalho encontra resultados similares a Segner *et al.*, (1993) e Zambonino-Infante & Cahu (2001) que afirmam não haver dependência exclusiva entre enzimas exógenas no processo digestivo de larvas de algumas espécies de peixes.

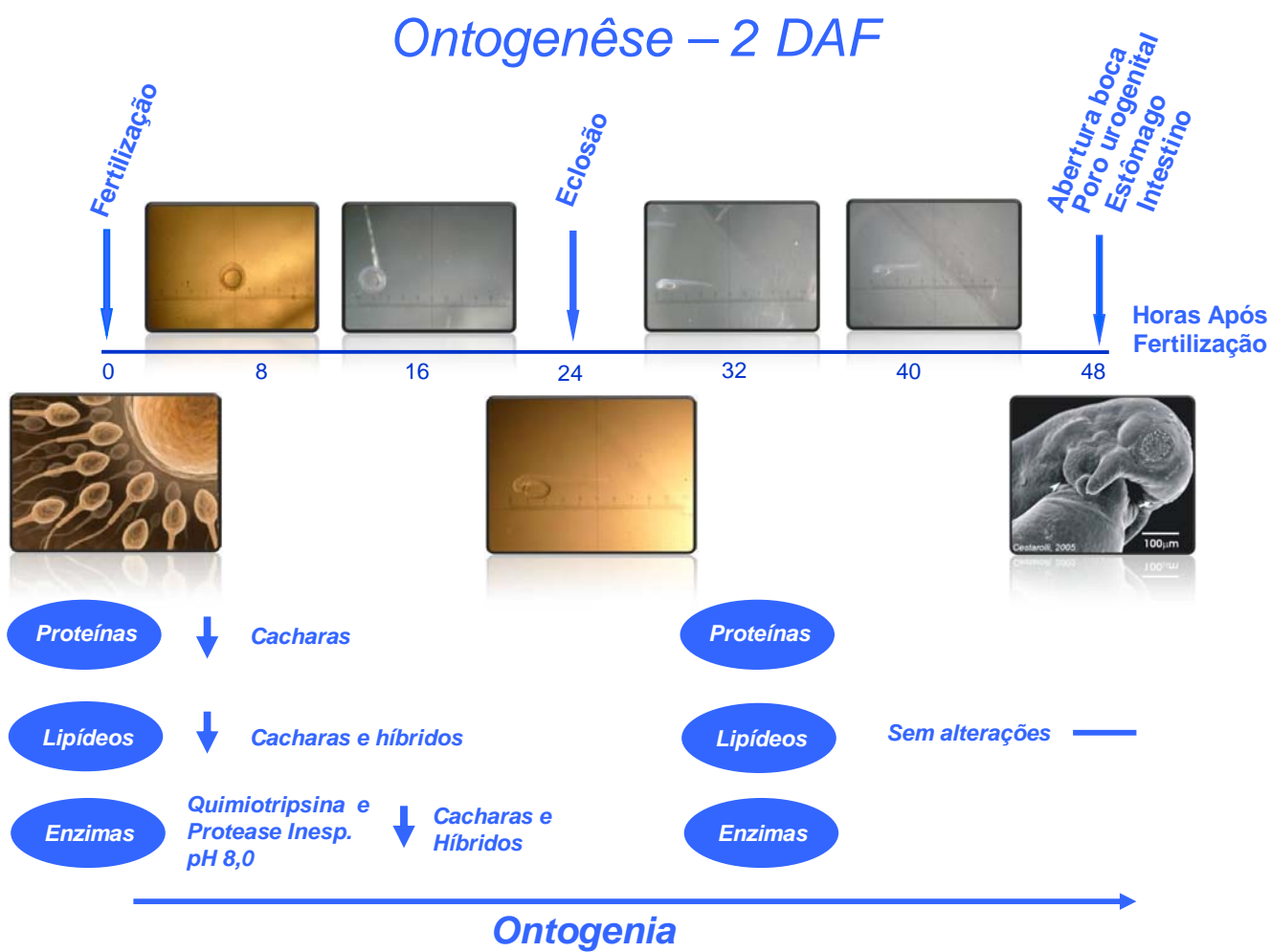
## 6. Conclusões e Considerações finais

Analisando os parâmetros morfológicos e metabólicos de ambos os grupos e comparando-os entre si e ao longo do tempo podemos concluir que:

- 1) Morfologicamente (estruturas internas e órgãos digestórios) as larvas de cachara e do híbrido são muito similares entre si e semelhante aos demais teleósteos;
- 2) No período inicial de desenvolvimento as larvas de cachara e híbrido apresentaram um misto de alimentação endógena e exógena desde o 1º até o 6º DAF;
- 3) As larvas de cachara e do híbrido são capazes de capturar, ingerir e digerir presas a partir do 3º DAF e inicialmente o alimento é estocado e digerido na bolsa intestinal até o surgimento do estômago;
- 4) A concentração de proteínas totais das larvas de ambos os grupos apresentaram-se muito similares entre si e ao longo do tempo, mostrando alta homogeneidade ao longo da ontogenia, sendo a musculatura o principal órgão de deposição deste substrato, seguida pelo fígado. No entanto, observa-se um consumo mais elevado de proteína nas larvas de cachara até 16 HAF e de lipídios entre a fase de oócito e 40 HAF, quando comparadas às larvas de híbridos;
- 5) A concentração de lipídeos totais das larvas de ambos os grupos apresentaram-se muito similares entre si e ao longo da ontogênese, sugerindo alta homogeneidade, sendo o encéfalo o órgão de maior deposição deste substrato, seguido pela musculatura e fígado;
- 6) A análise do perfil de ácidos graxos sugere que as larvas de cachara utilizaram preferencialmente os MUFAs para eclosão, enquanto as larvas híbridas utilizaram SFA;

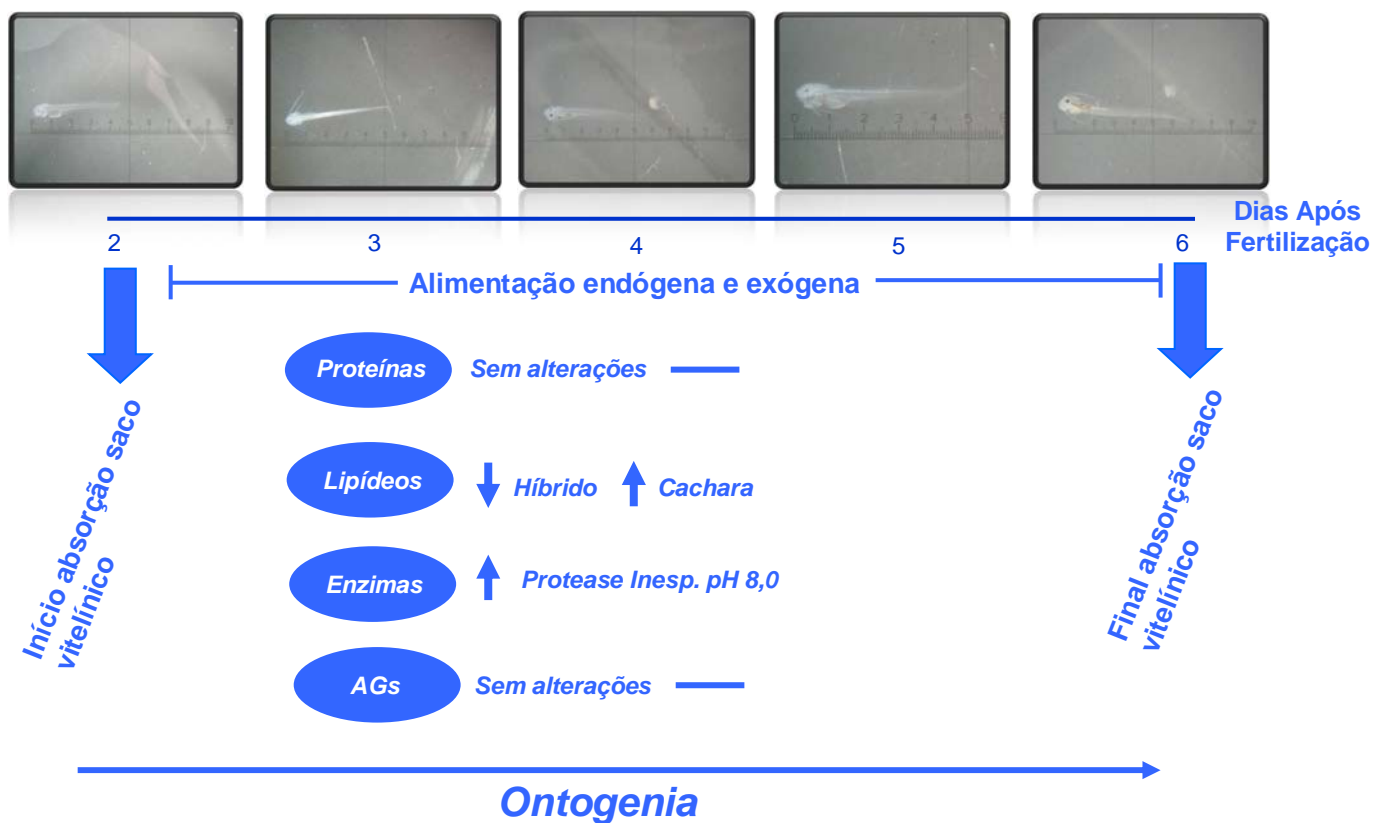
- 7) A atividade proteolítica ácida somente foi verificada nas larvas de ambos os grupos a partir do 10<sup>o</sup> DAF. Por outro lado, a atividade da protease inespecífica básica e das proteases específicas (tripsina e quimiotripsina) foi verificada em ambos os grupos ainda na fase de oócito, permanecendo ativa durante a ontogênese. Essa relação indicou uma compensação à baixa atividade das proteases ácidas, indicando possivelmente que os animais são capazes de digerir proteínas já após a abertura da boca;
- 8) As larvas de híbridos apresentam maiores atividades de proteases inespecíficas (básicas) do que as larvas de cachara no período de 15 a 25 DAF, sugerindo uma maior atividade proteolítica, justificando possivelmente um melhor aproveitamento dos substratos protéicos nesta fase, que pode explicar o melhor desempenho zootécnico descrito pelos produtores;
- 9) Já no período de 32 a 45 DAF, a análise da atividade de proteases inespecíficas (básica) e quimiotripsina mostram que o estômago de cacharas apresenta atividades proteolíticas mais elevadas;
- 10) De uma forma geral, as larvas de cachara e híbridos se mostraram com alto grau de similaridade, tanto morfológica quanto fisiologicamente, sugerindo que os híbridos apresentam uma herdabilidade da matriz, uma vez que a fêmea reprodutora utilizada para a produção dos híbridos foi cachara. No entanto, as análises do presente trabalho mostram que em fases definidas de desenvolvimento, alterações tanto na utilização de substratos energéticos específicos, aliadas às variações na atividade de proteases específicas e inespecíficas podem elucidar as diferenças empíricas relatadas por piscicultores.

**Esquema 02.** Ontogênese nos 2 primeiros dias após a fertilização (DAF), abordando as principais alterações morfofisiológicas de ambos os grupos experimentais.



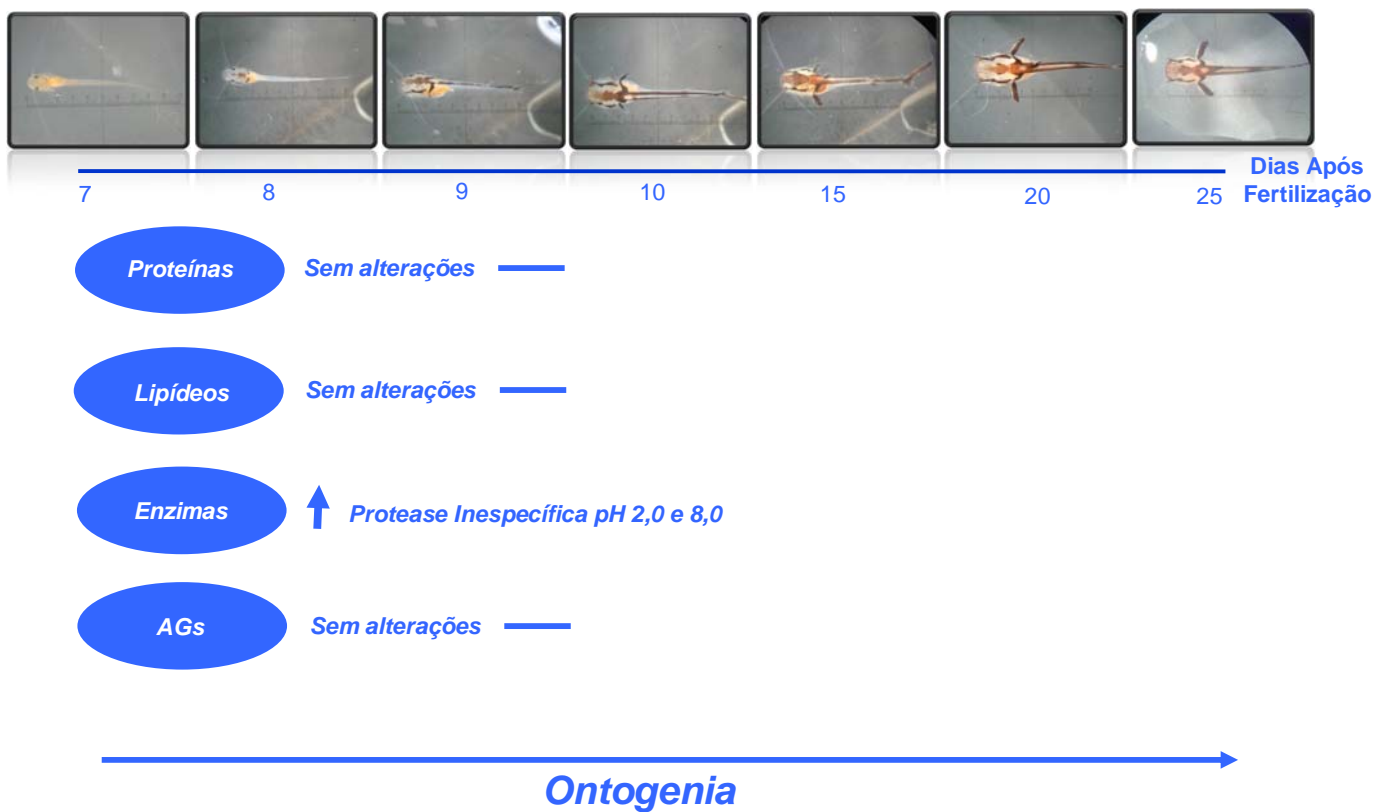
**Esquema 03.** Ontogênese do 2º ao 6º dias após a fertilização (DAF), abordando as principais alterações morfofisiológicas de ambos os grupos experimentais.

## Ontogênese – 2 a 6 DAF



**Esquema 04.** Ontogênese do 7º ao 25º dias após a fertilização (DAF), abordando as principais alterações morfofisiológicas de ambos os grupos experimentais.

## Ontogênese – 7 a 25 DAF





## 7. Referências Bibliográficas

- Abi-Ayad, S.M.E.A.; Boutiba, Z.; Mélard, C.; Kestemont, P. 2004. Dynamics of total body fatty acids during early ontogeny of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 30:129-136.
- Alamansa, E., Perez, M.J., Cejas, J.R., Badia, P., Villamandos, J.E., Lorenzo, A. 1999. Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture*, 170:323-336.
- Alves C.; Vieira, F.; Magalhães, A.; Brito, M.; 2007. Impacts of non-native fish species in Minas Gerais, Brazil: present situation and prospects. *In: Bert TM (Ed.). Ecological and genetic implications of aquaculture activities, reviews: Methods and technologies in fish biology and fisheries.* Dordrecht: Springer. p.291-314.
- Anderson, A.J.; Arthington, A.H.; Anderson, S. 1990. Lipid classes and fatty acid composition of the eggs of some Australian fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, Comparative Biochemistry*, 96:267-270.
- Applegate, K.R. & Glomsett, J.A. 1986. Computer-based modeling of the conformation and packing properties of docosahexaenoic acid. *Journal of Lipid Research*, 27:658-680.
- Atchinson, G.J. 1975. Fatty acid levels in developing brook trout (*Salvelinus fontinalis*) eggs and fry. *Journal of Fisheries Resources Board Canada*, 32:2513-2515.
- Baldisseroto, B. & Gomes, L.C. 2005. Espécies Nativas para piscicultura no Brasil. Ed.UFSM, Santa Maria, Rio Grande do Sul, pp. 327-342.
- Balon, E.K. 1986. Types of feeding in the ontogeny of fishes and the life-history model. *Environmental Biology of Fishes*, 16:11-24.
- Bell, J.G.; Tocher, D.R.; Farndale, B.M.; Cox, D.I.; McKinney, R.; Wand Sargent, J. R. 1997. The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation. *Lipids*, 32:515-525.

- Bell, M.V.; Henderson, R.J.; Sargent, J.R. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 83:711-719.
- Bisbal, G.A. & Bengston, D.A. 1995. Development of the digestive tract in larval summer flounder. *Journal of fish biology*, 47:277-291.
- Boulhic, M. & Gabaudan, J. 1992. Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 102:373-396.
- Bromage, N.R. & Roberts, R.J. 1995. Broodstock management and egg and larval quality. University Press. Cambridge.
- Brown, M.F. 1994. Chemistry and Physics. *Lipids*, 73, 159.
- Buckley, L.J. 1981. Biochemical changes during ontogenesis of cod (*Gadus morhua* L.) and winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) larvae. Conservation International. *Consel International pour l'exploration de la mer*, 178:547-552.
- Buitrago-Suarez, I.A. & Burr, B.M. 2007. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma*, Bleker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eighth species. *Zootaxa*, 1515, 1-38.
- Burgess, W.E. 1989. An Atlas of freshwater and marine catfish. A preliminary survey of the Siuriformes. United States of America. 784p.
- Cahu, C. & Zambonino-Infante, J. 1995. Effect of molecular form of dietary nitrogen supply in sea bass: response of pancreatic enzymes and intestinal peptidase. *Fish Physiology and Biochemistry*, 14:209-214.
- Carvalho, D.C.; Seerig, A.; Melo, D.C.; Sousa, A.B.; Pimenta, D.; Oliveira, D.A.A. 2008. Identificação molecular de peixes: o caso do surubim (*Pseudoplatystoma* spp.). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. v.32, n.4:215-219.
- Cejas, J.R.; Almansa, E.; Jérez, S.; Bolanños, A.; Felipe, B.; Lorenzo, A. 2004. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 139:209–216.
- Cestarolli, M.A. 2005. Larvicultura do pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829): Aspectos da alimentação inicial e do desenvolvimento de estruturas sensoriais. Tese de Doutorado. UNESP, Jaboticabal, 110p.

- Cetta, C.M. & Capuzzo, J.M. 1982. Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Marine Biology*, 71:327-337.
- Chakrabarti, R.; Rathore, R.M.; Mittal, P.; Kumar, S. 2006. Functional changes in digestive enzymes and characterization of proteases of silver carp and bighead carp hybrid, during early ontogeny. *Aquaculture*, 253:694-702.
- Chen, B.N.; Qin, J.G.; Carragher, J.F.; Clarke, S.M.; Kumar, M.S.; Hutchinson, W.G. 2007. Deleterious effects of food restrictions in yellow tail king fish *Seriola lalandi* during early development. *Aquaculture*, 27:326-335.
- Chong, A.; Hashim, R.; Lee, L.; Ali, A.B. 2002. Characterization of protease activity in developing discus *Symphysodon aequifasciata* larva. *Aquaculture Nutrition*, 33:663– 672.
- Christie, W.W. 2003. *Lipids Analysis*. The Oily Press, Bridgwater, UK.
- Christie, W.W. *Gas chromatography and lipids*. The Oily Press, Scotland, 307 p., 1992.
- Chu, F.L.E. & Ozkizilcik, S. 1995. Lipid and fatty acid composition of striped bass (*Morone saxatilis*) larvae during development. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 11:665-674.
- Clark, J.; Murray, K.R.; Starck, J.R. 1986. Protease development in Dover sole *Solea solea* L. *Aquaculture*, 53:253-262.
- Conceição, L.E.C.; Dersjant-Li, Y.L.; Verreth, J.A.J. 1998. Cost of growth in larval and juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to growth rate, food intake and oxygen consumption. *Aquaculture*, 161:95-106.
- Cowey, C.B. 1980. Protein metabolism in fish: In protein in animals (Edited by Buttery, P.J. and Lindsay, D.B.). Butterworths, London , p.271-288.
- Crepaldi, D.V. 2008. Ultra-sonografia em surubins (*Pseudoplatystoma corruscans*): avaliação de parâmetros reprodutivos e características de carcaça. 2008. 59f. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte.
- Dabrowski, K. 1984. The feeding of fish larvae. Present state of art and perspectives. *Reproduction Nutrition Development*, 24:807-833.

- Dabrowski, K. & Luczynski, M. 1984. Utilization of body stores in embryonated ova and larvae of two coregonid species (*Coregonus lavaretus* L. and *C. Albula* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 79:329-334.
- Dawson, A.S. & Grimm, A.S. 1980. Quantitative seasonal changes in the protein, lipid and energy content of the carcass, ovaries and liver of adult female plaice, *Pleuronectes platessa* L.. *Journal of Fish Biology*, 16:493-504.
- Deplano, M.; Diaz, J.P.; Connes, R.; Kentouri-Divanach, M.; Cavalier, F. 1991. Appearance of lipid-absorption capacities in larvae of the sea bass *Dicentrarchus labrax* during transition to the exotrophic phase. *Marine Biology*, 108:361-371.
- Desvillettes, C.; Bourdier, G.; Breton, J.C. 1996. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in pike (*Esox lucius* L) eggs and larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16:381-393.
- Douglas, S.E.; Gawlicka, A.; Mandla, S.; Gallant, J.W. 1999. Ontogeny of the stomach in winter flounder: characterization and expression of the pepsinogen and proton pump genes and determination of pepsin activity. *Journal of Fish Biology*, 55:897-915.
- Duplus, E.; Glorian, M.; Forest, C. 2000. Fatty acid regulation of gene transcription. *Journal of Biology Chemistry*, 275:30749-30752.
- Eddy, F.B. 1974. Osmotic properties of the perivitelline fluid and some properties of the chorion of Atlantic salmon. *Journal of Zoology*, London, 174:237-243
- Eldridge, M.B.; Joseph, J.D.; Taberski, K.M.; Seaborn, G.J. 1983. Lipid and fatty acid composition of the endogenous energy source of the striped bass *Morone saxatilis* eggs. *Lipids*, v.18, p. 510-513.
- Falk-Petersen, S.; Sargent, J.R.; Fox, C.; Falk-Petersen, I.B.; Haug, T.; Kjorsvik, E. 1989. Lipids in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs from planktonic samples in Northern Norway. *Marine Biology*, 101:553-556.

- Fange, R. & Groove, D. 1979. Digestion. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J.; Brett, J.R. (Eds). *Fish Physiology*, Vol III. Bioenergetics and Growth. Academic Press. 161-260.
- Fernandez-Palacios, H.; Izquierdo, M.S.; Robaina, L.; Valencia, A.; Salhi, M.; Vergara, J.M. 1995. Effect of  $n - 3$  HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 132:325-337.
- Finn, R.N.; Henderson, J.R.; Fyhn, H.J. 1995. Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). II. Lipid metabolism and enthalpy balance. *Marine Biology*, 124:371-379.
- Folch, J.; Less, M.; Sloane Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biology and Chemistry*, v.226, p.497-503.
- Fraser, A.L.; Gamble, J.C.; Sargent, J.R. 1988. Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*). *Marine Biology*, 99:307-313.
- Frings, C.S.; Fendly, T.W.; Dunn, R.T.; Quenn, C.A. 1972. Improved determination of total lipids by the sulpho-phospho-vanilin reaction. *Clinical Chemistry*, 18: 673-674.
- Fuiman, L.A. & Higgs, D.M. 1997. Ontogeny, growth and the recruitment process. In: Chambers, R.C. and Trippel, E.A. (eds.), *Early Life History and Recruitment in Fish Populations*. Chapman & Hall, London, pp.225-249.
- Geiger, J.G.A. 1983. A review of pond zooplâncton production and fertilization for the culture of larval and fingerling striped bass. *Aquaculture*, 35:353-359.
- Geiser, J.G.; Turner, C.J.; Fitzmayer, K. 1985. Feeding habits of larval and fingerlings striped bass zooplâncton dynamics in fertilized rearing ponds. *The Progressive Fish Culturist*, 47:213-223.
- Grau, A.; Crespo, S.; Sarasquete, M.C.; González de Canales, M.L. 1992. The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerih*, Risso: a light and scanning microscopic study. *Journal of Fish Biology*, 41:287-303.

- Gunasekera, R.M.; De Silva, S.S.; Ingram, B.A. 1999. Early ontogeny-related changes of the fatty acid composition in the Percichthyid fishes trout cod, *Maccullochella macquariensis* and Murray cod, *M. peelii peelii*. *Aquatic Living Resources*, 12:219-228
- Hachero-Cruzado, I.; Ortiz-Delgado, J.B.; Borrega, B.; Herrera, M.; Navas, J.I.; Sarasquete, C. 2009. Larval organogenesis of flatfish brill *Scophthalmus rhombus* L: Histological and histochemical aspects. *Aquaculture*, 286:138-149.
- Hall, B. K. & Wake, M.H. 1999. Introduction: Larval development, evolution, and ecology. In : The origin and evolution of larval forms. HALL, B. K.; M. H. WAKE (eds), p.1-19. Academic Press, San Diego, CA.
- Hemming, T.A. & Buddington, R.K. 1988. Yolk Absorption in Embryonic and Larval Fishes. In: *Fish Physiology*. Hoar, W.S. and Randall, D.J. Vol XI. Part A. 408-438. Academic Press, New York.
- Henderson, R. J. & Tocher, D.R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipids Resources*, 26:281-347.
- Hidalgo, M.C.; Urea, E.; Sanz, A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities *Aquaculture*, 15:267-283.
- Higgs, D.A. & Dong, F.M. 2000. Lipids and fatty acids. In: Encyclopedia of Aquaculture (ed. R.R. Stickney), pp. 476-496, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Hilborn, R.; Branch, T.A.; Ernst, B.; Magnusson, A.; Minte-Vera, C.V.; Scheuerell, M.D.; Valero, J.L. 2003. State of the world's fisheries. *Annual Reviews of Environment and Resources*, 28:359-399.
- Holt, J.G.; Johnson, A.G.; Arnold, C.R.; Fable, W.A.; Williams, T.D. 1981. Description of eggs and larvae of laboratory reared red drum *Sciaenops ocellata*. *Copeia*, 4:751-756.
- Horn, C.; Guerrero, J.; Sarmiento, G.A.; Llorente, M.A. 1995. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. *Geology* 23, 237-240.
- Hsu, Y.L. & Wu, J.L. 1979. The relationship between feeding habits and digestive proteases of some freshwater fishes. *Bulletim of the Institute of Zoology, Academia Sinica*, 18:45-53.

- Hubert, N.; Duponchelle, F.; Nuñez, J.; Garcia-Davila, C.; Paugy, D.; Renno, J.F. 2009. Phylogeography of the piranha genera *Serrasalmus* and *Pygocentrus*: implication for the diversification of the Neotropical ichthyofauna, *Molecular Ecology*, 16:2115–2136.
- Hubert, N.; Renno, J.F. 2006. Historical biogeography of South American freshwater fishes, *Journal of Biogeography*, 33:1411–1436.
- Hummel, B.C.W. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37:1393-1399.
- Jalabert, B. 2005. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reproduction Nutricional and Development*, 45:261-279.
- Kamler, E. 1976. Variability of respiration and body composition during early developmental stages of carp. *Polski Archives of Hidrobiology*, 23:431-485.
- Kamler, E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12: 79-103.
- Kamler, E. 2008. Resource allocation in yolk-feeding fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18:143-200.
- Kimata, M. 1982. Changes of chemical composition during early development of egg and larva in the half beak *Hemiramphus sajori* (Temminck anet Schlegel). *Bulletim of Japan Society Scientific Fisheries*, 48:1663-1671.
- Kolkovski, S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles- implications to formulated diets. *Aquaculture*, 200:181-201.
- Kolkovski, S.; Tandler, A.; Izquierdo, M.S. 1997. Effects of live food and dietary digestive enzymes on the efficiency of microdiets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 148:313-322.
- Kubitza, F. 1995. Preparo de rações e estratégias de alimentação no cultivo intensivo de peixes carnívoros. In: Simpósio Internacional sobre nutrição de peixes e crustáceos. Campos do Jordão, Anais. Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. pp. 91-115.
- Kurokawa, T.; Shiraishi, M.; Suzuki, T. 1998. Quantification of exogenous protease derived from zooplâncton in the intestine of japanese sardine *Sardinops melanoticus* larvae. *Aquaculture*, 161:491-499.

- Kuz'mina, V.V. 1991. Evolutionary features of the digestive-transport function in fish. Plenum Publishing Corporation. 27:167-175.
- Lam, T.K.T.; Schwartz, G.J. & Rosseti, L. 2005. Hypothalamic sensing of fatty acids. *Nature neuroscience*, 8:579-584.
- Lapin, V.I. & Matsuk, V.Y. 1979. Utilization of yolk and change in the biochemical composition of the eggs of the navaga, *Eleginus navaga*, during embryonic development. *Journal of Ichthyology*, 19:131-136.
- Lasker R.; Theilacker, G.H. 1962. Oxygen consumption and osmoregulation by single Pacific sardine eggs and larvae (*Sardinops caerulea* Girard). *Journal of Conservation Perm Int Explor Mer*, 27:25–33.
- Lauff, M. & Hofer, R. 1984. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*, 37:335-346.
- Leis, J.M. 1989. Larval biology of butterflyfishes (Pisces, Chaetodontidae): What do we really know? *Environmental Biology of Fishes*, 25, 87-100.
- Leis, J.M. 1991. The pelagic stage of reef fishes: The larval biology of coral reef fishes. In "The Ecology of Fishes on Coral Reefs" (P.F. Sale, ed.), pp.183-230. Academic Press, San Diego, CA.
- Lovell, R.T. 1988. Nutrition and feeding of fish. Van Nostrand Reinhold, New York. 260p.
- Lowry, O.H.; Rosenbrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry*, 193:265-275.
- Lundstedt, L.M. 2003. Aspectos adaptativos dos processos digestivo e metabólico de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) arraçados com diferentes níveis de energia. Tese Doutorado. Departamento de Genética e Evolução. Universidade Federal de São Carlos.
- Lundstedt, L.M., Melo, J.F.B., Moraes, G. 2004. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 137:331-339.
- Ma, H.; Cahu, C.L.; Zambonino, J.; Yu, H.; Duan, Q.; Gall, M.M.L.; Mai, K. 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development



- of large yellow croaker (*Pseudosciana crocea*). *Aquaculture*, 245:239-248.
- Mangetti, A.J. 2006. Desenvolvimento histomorfológico do trato digestório de larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* Agassiz, 1829. Dissertação de Mestrado. FMVZ-USP, São Paulo, 94p.
- Mello, P.H.; Venturieri, R.L.L.; Honji, R.M.; Moreira, R.G. 2009. Threatened fishes of the world: *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829) (Siluriformes: Pimelodidae). *Environmental Biology of Fishes*, 85:359-360.
- Melo, J.F.B.; Lundstedt, L.M.; Randuz, J.N.; Santos, C.N.; Moraes, G. 2002. Respostas enzimáticas do trato digestório de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com diferentes níveis de proteína. Resumo expandido. Recife, Anais da XXXIX Reunião Annual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.
- Milligan, C.L. & Girard, S.S. 1993. Lactate metabolism in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 180:175-193.
- Miranda, M.O.T.; Ribeiro, L.P. Características zootécnicas do surubim *Pseudoplatystoma coruscans*. In: Miranda, M.O.T. (Org.). Surubim. Belo Horizonte: IBAMA, 1997. p. 43-56. [Coleção Meio Ambiente, Série Estudos Pesca, 19].
- Montoya-Burgos, J.I. 2003. Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna, *Molecular Ecology*, 12:1855–1867.
- Moyano, F.J.; Diaz, M.; Alarcon, F.J.; Sarasquete, M.C. 1996. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 15:121–130.
- Munilla-Moran, R. & Stark, J.R. 1989. Protein digestion in early turbot larvae, *Scophthalmus maximus* (L.). *Aquaculture*, 81:315–327.
- Nelson, J.S. 2006. Fishes of the world. New York. Wiley – Interscience. 4<sup>th</sup> Edition, 624p.
- Noffs, M.D.; Martino, R.C.; Trugo, L.C.; Urbinati, E.C.; Fernandes, J.B.K.; Takahashi, L.S. 2009. Dietary fish oil replacement with lard and soybean

- oil affects triacylglycerol and phospholipid muscle and liver docosahexaenoic acid content but not in the brain and eyes of surubim juveniles *Pseudoplatystoma* sp. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35:399-412.
- Ogawa, M. 1999. Química do pescado. In: Masayoshi, M.; Maia, E.L. (Eds.). *Manual de pesca – ciência e tecnologia do pescado*. São Paulo: Varela, cap. 4, p. 29-71.
- Oliveira, E.R.N.; Agostinho, A.A.; Matsushita, M. 2003. Effect of biological variables and capture period on the proximate composition and fatty acid composition of the dorsal muscle tissue of *Hypophthalmus edentatus* (Spix, 1829). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46:105-114.
- Ostrowski, A.C.; Divakaran, S. 1991. Energy substrates for eggs and prefeeding larvae of the dolphin *Coryphaena hippurus*. *Marine Biology*, 109, 149.
- Ozkizilcik, S.; Chu, F.L.E.; Place, A.R. 1996. Ontogenetic changes of lipolytic enzymes in Striped Bass (*Morone saxatilis*). *Comparative Biochemistry. Physiology*, 113:631-637.
- Parrish, C. C. 1998. Determination of total lipid, lipid classes and fatty acids in aquatic samples. In: *Lipids in Freshwater Ecosystems* (Eds. M.T. Arts and B.C. Wainman), Springer-Verlag, New York, p.4-12.
- Péres, A.; Cahu, C.L.; Zambonino-Infante, J.L. Legall, M.M.; Quazuguel, P. 1996. Amylase and trypsin responses to intake of dietary carbohydrate and protein depend on the developmental stage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 15:237-242.
- Péres, A.; Zambonino-Infante, J.L.; Cahu, C.L. 1998. Dietary regulation of activities and mRNA levels of trypsin and amylase in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 19:145-152.
- Pinna, M.C.C. 1996. Telesotean monophily. In: *Interrelationships of Fishes*. Chapter 7, Academic Press, 147-162.
- Pinto, M.G. & Castagnoli, N. 1984. Desenvolvimento inicial do pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895). In: *Simpósio Brasileiro sobre Aqüicultura*. São Carlos. Anais. Ministério da Agricultura e SUDEPE. V.3:523-535.

- Potts, W.T. & Rudy, P.P. 1969. Water balance in the eggs of the Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Experimental Biology*, 50:223–237.
- Ragyanszky, M. 1980. Preliminary investigations on the proteolytic digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. *Aquaculture*, 179:465-473.
- Rahn, C.H.; Sand, D.M.; Schlenk, H. 1977. Metabolism of oleic, linolic and linolenic acids in gourami (*Trichogaster cosby*) fry and mature females. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 58:17-20.
- Rainuzzo, J. R.; Reitan, K. I.; Jorgensen, L. 1992. Comparative study on the fatty acid and lipid composition of four marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, Comparative Biochemistry*, 103:21-26.
- Rainuzzo, J.R. 1993. In "Fish Farming Technology," Proceedings of the First International Conference on Fish Farming Technology, Trondheim, Norway, 9–12 Aug. 1993, pp. 43–49. Balkema, Rotterdam, The Netherlands.
- Rainuzzo, J.R.; Reitan, K.I.; Olsen, Y. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: A review. *Aquaculture*, 155:103-115.
- Reid, S. 1983. La biología de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P. tigrinum* en la cuenca del Río Apure, Venezuela. *Revista Unellez Ciencia y Tecnología*, 1:13–41.
- Reis, R.E.; Kullander, S.O.; Ferraris, C.J. 2004. Check List of Freshwater Fishes of South and Central America. Ediprucs, Porto Alegre. 729pp.
- Rezende, E.K.; de, Catella, A.C.; Nascimento, F.L, Palmeira, S.; Pereira, R.A.C.; Lima, M. de S.; Almeida, V.L.L. de. 1995. Biología do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil, Corumbá, MS EMBRAPA CPAP. Bol. Pesqui. 2, 75.
- Ribeiro, L.; Zambonino-Infante, J.L.; Cahu, C. 1999. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. *Aquaculture*, 179:465– 473.
- Rice, S.D. & Stokes, R.M. 1974. Metabolism of nitrogenous wastes in the eggs and alevins of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. In " The Early

- Life History of Fish” (J.H.S. Blaxter, Ed.) Springer-Verlag, Berlin and New York. pp. 325-337.
- Rocha-Olivares, J.W.; Fleeger, D.W.; Foltz. 2001. Decoupling of molecular and morphological Evolution in deep lineages of Meiobenthic Harpacticoid Copepod, *Molecular Biology and Evolution* 18:1088–1102. View Record in Scopus | Cited By in Scopus (67).
- Rønnestad, I. & Fyhn, H.J. 1993. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae. *Review Fisheries Science*, 1:239–259
- Rønnestad, I.; Robertson, R.R.; Fyhn, H.J. 1996. Free amino acids and protein content in pelagic and demersal eggs of tropical marine fishes. In: MacKinlay, D.D., Eldridge, M. Eds., *The Fish Egg*. American Fisheries Society, Physiology Section, Bethesda, pp. 81–84.
- Rønnestad, I.; Thorsen, A.; Finn, R.N. 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture*, 177:201-216.
- Rønnestad, I.; Tonheim, S.K.; Fyhn, H.J.; Rojas-Garcia, C.R.; Kamisaka, Y.; Koven, W.; Finn, R.N.; Terjensen, B.F.; Conceição, L.E.C. 2003. The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent findings. *Aquaculture*, 227:147-164.
- Sabapathy, U. & Theo, L.H. 1993. A quantitative study of some digestive enzymes in rabbitfish, *Siganus caniculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer*. *Journal of Fish Biology*, 42:595-602.
- Sánchez-Amaya, M.I.; Ortiz-Delgado, J.B.; García-López, Á.; Cárdenas, S.; Sarasquete, C. 2007. Larval ontogeny of red banded seabream *Pagrus auriga* Valenciennes, 1843 with special reference to the digestive system. A histological and histochemical approach. *Aquaculture*, 263:259–279.
- Santos, J.E. & Godinho, H.P. 1979. Larval morphogenesis and behavior of the surubim *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz 1829) under experimental conditions. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 46, 2:19-25.
- São Paulo, 2008. Decreto Estadual 53494-2008 de 02 de outubro de 2008. Diário Oficial do Estado de São Paulo 118(187). Secretaria do Meio Ambiente.

- Sarasquete, M.C.; Polo, A.; Yúfera, M. 1995. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead sea bream *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 130:79-92.
- Sargent, J.R. 1995. Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In: Broodstock management and egg and larval quality. pp. 353-372. Edited by N.R. Bromage, and R.J. Roberts. Blackwell Sciences Ltd, Oxford.
- Sargent, J.R.; Bell, G.; McEvoy, L.; Tocher, D.; Estevez, A. 1999. Recent developments in the essential fatty acids nutrition of fish. *Aquaculture*, 177:191-199.
- Sargent, J.R.; Tocher, D.R.; Bell, J.G. 2002. The lipids. In: Halver, J.E. & Hardy, R.W. (eds.). *Fish Nutrition*, 3rd ed., Academic Press, San Diego, VA, USA, pp.181-257.
- Satia, B.P.; Donaldson, L.R.; Smith, L.S.; Nightngale, J.N. 1974. Composition of ovarian fluid and eggs of the University of Washington strain of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Fisheries Resources Board Canada*, 31:1796-1799.
- Schimdt-Nielsen, K. 2002. Fisiologia Animal, Adaptação e Meio ambiente. 5ª Edição. Editora Santos, 611pp.
- Segner, H.; Rosch, R.; Verreth, J.; Witt, U. 1993. Larval nutritional physiology: studies with *Clarias gariepinus*, *Coregonus lavaretus* L. *World Aquaculture* 21:121–134.
- Segner, H.; Storch, V.; Reinecke, M.; Kloas, W.; Hanke, W. 1995. A tabular overview of organogenesis in larval turbot (*Scophthalmus maximus*). *ICES Marine Science Symposium*, 201:35–39.
- Sheridan, M.A. 1988. Lipids dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 90B(4):679-690.
- Sheridan, M.A. 1994. Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 107:495-508.
- Silversand, C.; Norberg, B.; Haux, C. 1996. Fatty-acid composition of ovulated eggs from wild and cultured turbot (*Scophthalmus maximus*) in relation to yolk and oil globule lipids. *Marine Biology*, 125:269-278.

- Silversand, C.; Norberg, B.; Holm, J.C.; Lie, O.; Haux, C. 1995. In "Proc. 5th Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish," p. 375. University of Texas at Austin, Austin.
- Smith, L.S. 1980. Digestion in teleost fishes. In: Lectures presented at the FAO/UNDP Training Course in fish feeding technology, ACDP/REP/80/11. pp. 3-17.
- Speake, B.K.; Surai, P.F.; Bortolotti, G.R. 2002. Fatty acid profiles of yolk lipids of 5 species of wild ducks (Anatidae) differing in dietary preference. *Journal of Zoology London*, 257:533-538.
- Stoknes, I.S.; Okland, H.M.W.; Falch, E.; Synnes, M. 2004. Fatty acid and lipid class composition in eyes and brain from teleosts and elasmobranchs. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 138:183-191.
- Suárez, M.D.; Hidalgo, M.C.; García Galego, M.; Sanz, A.; De La Higuera, M.; 1995. Influence of the relative proportions of the energy yielding nutrients on the liver intermediary metabolism of the European eel. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 111:421-428.
- Suzer, C.; Aktulun, S.; Coban, D.; Kamaci, H.O.; Saka, S.; Firat, K.; Albaz, A. 2007. Digestive enzyme activities in larvae of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 148:470-477.
- Takama, K.; Zoma, K.; Igarashi, H. 1969. Changes in the lipids during development of salmon eggs. *Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido University*, 20:118-126.
- Terner, C.; Kumar, L.A.; Choe, T.S. 1968. Studies of metabolism in embryonic development. II. Biosynthesis of lipids in embryonated trout ova. *Comparative Biochemistry Physiology*, 24:941-950.
- Thorsen, A.; Fyhn, H.J.; Wallace, R. 1993. Free amino acids as osmotic effectors for oocyte hydration in marine fishes. In: Walther, B.T., Fyhn, H.J. Eds. *Physiology and Biochemistry of Fish Larval Development*. University of Bergen, Bergen, pp. 94-98.
- Tocher, D.R. 2010. Review Article: Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41:717-732.
- Tocher, D.R. & Sargent, J.R. 1984. Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some Northwest European marine fish. *Lipids*, 19:492-499.

- Tocher, D.R. & Harvie, D.G. 1988. Fatty acid composition of the major phosphoglycerides from fish neural tissue; (n3) and (n6) polyunsaturated fatty acids in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cod (*Gadus morhua*) brains and retinas. *Fish Physiology and Biochemistry*, 5:229–239.
- Tocher, D.R.; Bendiksen, E.A.; Campbell, P.J.; Bell, J.G. 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280:21-34.
- Tocher, D.R.; Fraser, A.J.; Sargent, J.R.; Gamble, J.C. 1985. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus*, L.). *Lipids*, 20, 69.
- Tocher, D.R.; Fraser, A.J.; Sargent, J.R.; Gamble, J.C. 1985. Lipid class composition during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids*, 20:84-89.
- Torrice, J.P.; Hubert, N.; Desmarais, E.; Duponchelle, F.; Nunez-Rodriguez, J.; Montoya-Burgos, J.; Garcia Davila, C.; Carvajal-Vallejos, F.M.; Grajales, A.A.; Bonhomme, F.; Renno, J.F. 2009. Molecular phylogeny of the genus *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1862): Biogeographic and evolutionary implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51:588-594.
- Vassallo Agius, R.; Watanabe, T.; Mushiake, K.; Kawano, K.; Satoh, S. 1998. Chemical components of eggs and yolk sac larvae obtained from striped jack broodstock fed on a raw fish mix or dry pellets. *Fisheries Science*, 64:759–765.
- Vázquez, R.; González, S.; Rodríguez, A.; Mourente, G. 1994. Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and first-feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Aquaculture*, 119, 15: 273-286.
- Vega-Orellana, O.M.; Fracalossi, D.M.; Sugai, J.K. 2006. Dourado (*Salminus brasiliensis*) larviculture: Weaning and ontogenetic development of digestive proteinases. *Aquaculture*, 252:484-493.
- Verreth, J.; Coppoolse, J.; Segner, H. 1994. The effect of low HUFA- and high HUFA-enriched *Artemia*, fed at different feeding levels, on growth,

- survival, tissue fatty acids and liver histology of *Clarias gariepinus* larvae. *Aquaculture*, 126:137-150.
- Vetter, R.D.; Hodson, R.E. Arnold, C. 1983. Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). *Canadian Journal of Fisheries Aquaculture Science*, 40:627-634.
- Vieira, F. & Pompeu, P. 2001. Peixamentos, uma alternativa eficiente? *Ciência Hoje*, v.175, p.29-33.
- Walford, J. & Lam, T.J. 1993. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in sea bass *Lates calcarifer* larvae and juveniles. *Aquaculture*, 109:187-205.
- Watanabe, T. & Kiron, V. 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, 124:223-251.
- Wiegand, M.D. 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 6:259-286.
- Wodtke, E. & Cossins, A.R. 1991. Rapid cold-induced changes of membrane order and  $\Delta 9$ -desaturase activity in endoplasmic reticulum of carp liver: A time-course study of thermal acclimation. *Biochemistry and Biophysics Acta*, 1064:343-350.
- Yamanaka, N. 1988. Descrição, desenvolvimento e alimentação de larvas e pré-juvenis do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg,1887) (Teleostei, Characidae), mantidos em confinamento. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, USP, São Paulo, 125 p.
- Yang, R.; Xie, C.; Fan, Q.; Gao, C.; Fang, L. 2010. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. *Aquaculture*, 302:112-123.
- Yang, Z. 1995. Development of a gas chromatographic method for profiling neutral lipids in marine samples. Masters Thesis. Memorial University of Newfoundland St. John's.
- Yarzhombek, A.A. & Maslennikova, N.V. 1971. Nitrogenous metabolites of the eggs and larvae of various fishes. *Journal of Ichthyology*, 11:276-281.
- Youson, J.H. 1988. First metamorphosis. In: *Fish Physiology* (Edited by Hoar W.S. and Randall D.J.), Vol. XI, Part B, pp. 135-184. Academic Press, New York.



- Yúfera, M. & Darias, M.J. 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture*, 268:53-63.
- Yúfera, M.; Fernández-Díaz, C.; Pascual, E. 1995. Feeding rates of gilthead seabream (*Sparus aurata*), larvae on microcapsules. *Aquaculture*, 134:257-268.
- Yúfera, M.; Pascual, E.; Fernandez-Diaz, C. 1999. A high efficient microencapsulated food for rearing early larvae of marine fish. *Aquaculture*, 177:249-256.
- Zambonino-Infante, J.L. & Cahu, C.L. 1994. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 12:399–408.
- Zambonino-Infante, J.L. & Cahu, C.L. 1999. High dietary lipid levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development. *Journal of Nutrition*, 129:1195-1200.
- Zambonino-Infante, J.L. & Cahu, C.L. 2001. Review: Ontogeny of the digestive tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 130:477-487.
- Zeitoun, I.H.; Ullrey, D.E.; Bergen, W.G.; Magee, W.T. 1977. DNA, RNA, protein, and free amino acids during ontogenesis of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 34:83-88.
- Zhu, P. 1998. Biochemical composition of eggs and larvae of captive Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). M.Sc. Thesis. Memorial University of Newfoundland, St. John`s, Newfoundland, 120p.
- Zhu, P.; Evans, R.P.; Parrish, C.C.; Brown, J.A.; Davis, P.J. 2002. Is there a direct connection between amino acid and lipid metabolism in marine fish embryos and larvae? *Bulletim of Aquaculture Association of Canada*, 97.

## **8. Tabelas**

**Tabela 01.** Diâmetro da boca das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) ao longo dos dias após a fertilização. Diâmetro da boca em micrômetros.

<b>Dias Após a Fertilização (DAF)</b>	<b>Diâmetro (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
3	150
4	300
5	450
6	550
7	750
8	800
9	950
10	1,1

**Tabela 02.** Concentração de proteínas totais (miligramas de proteína/grama de tecido) de ovos (Fase I), larvas (Fase II, III e IV) e fígado e músculo de alevinos (Fase V) de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) (Média ± EP).

Etapas de coleta	Fases do desenvolvimento	Grupo Cachara	Grupo Híbrido
Fase I	0 HAF	65,50 ± 19,05	25,50 ± 4,65
	8 HAF	62,16 ± 21,47	23,48 ± 6,17
	16 HAF	27,40 ± 1,59	20,49 ± 5,58
Fase II	24 HAF	68,38 ± 7,65	58,82 ± 13,61
	32 HAF	70,45 ± 11,13	78,47 ± 22,80
	40 HAF	67,37 ± 10,77	80,62 ± 2,48
Fase III	2 DAF	68,58 ± 13,96a	73,50 ± 12,64a
	3 DAF	19,51 ± 9,67b	18,73 ± 8,51b
	4 DAF	38,63 ± 9,57ab	39,95 ± 8,72ab
	5 DAF	41,33 ± 8,81ab	43,44 ± 8,60ab
	6 DAF	26,52 ± 10,06ab	42,05 ± 20,98ab
Fase IV	7 DAF	34,04 ± 4,90	56,08 ± 12,38
	8 DAF	35,91 ± 6,81	38,50 ± 6,71
	9 DAF	38,80 ± 5,70	48,35 ± 5,75
	10 DAF	38,88 ± 6,99	43,68 ± 7,38
	15 DAF	46,48 ± 3,49	50,39 ± 12,95
	20 DAF	39,20 ± 3,44	45,34 ± 18,92
	25 DAF	37,08 ± 9,82	55,78 ± 11,06
Fase V	F 32 DAF	38,63 ± 9,57	39,95 ± 8,72
	F 39 DAF	35,91 ± 6,81	38,50 ± 6,71
	F 45 DAF	38,88 ± 6,99	43,68 ± 7,38
	M 32 DAF	62,16 ± 21,47	68,38 ± 7,65
	M 39 DAF	68,58 ± 13,96	73,50 ± 12,64
	M 45 DAF	70,45 ± 11,13	78,47 ± 22,80

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento.

HAF: Horas após a fertilização; DAF: Dias após a fertilização; F: Fígado; M: Músculo.

**Tabela 03.** Concentração de lipídeos totais (miligramas de lipídeos/ grama de tecido) de ovos (Fase I), larvas (Fases II, III e IV) e fígado, encéfalo e músculo de alevinos (Fase V) de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) (Média ± EP).

Étapas de coleta	Fases do desenvolviment	Grupo Cachara	Grupo Híbrido
Fase I	0 HAF	28,67 ± 6,50	20,74 ± 2,28
	8 HAF	11,50 ± 1,28	10,91 ± 0,38
	16 HAF	12,92 ± 1,48	12,10 ± 2,30
Fase II	24 HAF	28,45 ± 7,24	18,70 ± 0,75
	32 HAF	34,01 ± 9,26	21,05 ± 1,42
	40 HAF	18,58 ± 5,87	24,75 ± 3,50
Fase III	2 HDAF	15,58 ± 3,32	20,97 ± 2,15
	3 DAF	26,26 ± 10,71	9,54 ± 0,90
	4 DAF	22,14 ± 7,25	9,05 ± 0,17
	5 DAF	20,47 ± 6,25	10,23 ± 0,25
	6 DAF	21,72 ± 6,22	6,44 ± 0,21
Fase IV	7 DAF	9,44 ± 2,58	7,95 ± 0,37
	8 DAF	6,93 ± 0,84	7,77 ± 0,17
	9 DAF	8,84 ± 0,75	8,08 ± 0,81
	10 DAF	6,93 ± 0,65	7,13 ± 0,98
	15 DAF	6,21 ± 0,83	8,55 ± 0,87
	20 DAF	7,86 ± 1,22	8,35 ± 1,24
	25 DAF	7,34 ± 0,73	9,04 ± 0,72
Fase V	F 32 DAF	10,06 ± 2,38	11,26 ± 0,56
	F 39 DAF	6,9 ± 1,23	12,06 ± 0,50
	F 45 DAF	8,80 ± 2,01	13,62 ± 1,12
	EN 32 DAF	12,90 ± 5,64	19,78 ± 0,84
	EN 39 DAF	21,82 ± 4,40	20,30 ± 1,92
	EN 45 DAF	22,56 ± 2,40	14,46 ± 2,65
	M 32 DAF	12,49 ± 3,56	5,91 ± 0,49
	M 39 DAF	12,83 ± 4,44	6,98 ± 0,58
M 45 DAF	19,67 ± 5,64	6,35 ± 0,44	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento.

HAF: Horas após a fertilização; DAF: Dias após a fertilização; F: Fígado; EN: Encéfalo; M: Músculo.

**Tabela 04.** Ácidos graxos totais (%) da fração neutra das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) na fase de ovo com 0, 8, 16 HAF (Média ± EP).

Ac. Gr.	Grupo	0 HAF	8 HAF	16 HAF	Estatística
C14:0	Cachara	2,2 ± 0,6	2,4 ± 0,5	1,0 ± 0,1	
	Híbrido	2,4 ± 0,2	2,4 ± 0,5	1,1 ± 0,1	
C16:0	Cachara	36,5 ± 2,6	37,9 ± 1,4	29,9 ± 1,2	
	Híbrido	37,3 ± 1,6	38,5 ± 1,8	34,1 ± 2,7	
C18:0	Cachara	3,5 ± 0,9	3,6 ± 0,6	5,8 ± 0,4	
	Híbrido	3,0 ± 0,3	2,7 ± 0,1	4,8 ± 0,8	
C24:0	Cachara	2,8 ± 1,0	1,5 ± 0,2	0,7 ± 0,3	
	Híbrido	2,3 ± 0,3	1,8 ± 0,2	1,0 ± 0,1	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>45,1 ± 2,5</b>	<b>45,6 ± 1,8</b>	<b>37,5 ± 1,8</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>45,2 ± 1,8</b>	<b>45,6 ± 2,3</b>	<b>41,3 ± 2,0</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	7,0 ± 0,6	7,3 ± 0,3	5,2 ± 0,0	N.S.
	Híbrido	7,1 ± 0,2	7,3 ± 0,4	5,9 ± 0,5	N.S.
C18:1n9	Cachara	26,2 ± 1,4 a	25,2 ± 1,2 a	30,3 ± 0,8 b	< 0,05
	Híbrido	25,4 ± 1,1	25,5 ± 1,8	30,7 ± 0,7	N.S.
C18:1n11	Cachara	3,2 ± 0,2	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	3,1 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,8 ± 0,1	N.S.
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>36,5 ± 0,4 a</b>	<b>35,6 ± 0,3 a</b>	<b>38,6 ± 0,8 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>35,7 ± 1,0</b>	<b>36,0 ± 0,9</b>	<b>39,5 ± 0,8</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	9,2 ± 0,5	9,0 ± 0,4	8,9 ± 0,1	
	Híbrido	8,9 ± 0,5	9,1 ± 0,6	8,5 ± 0,8	
C18:3n6	Cachara	0,8 ± 0,1	1,1 ± 0,5	2,5 ± 0,4	
	Híbrido	0,9 ± 0,0	1,0 ± 0,1	2,3 ± 0,2	
C20:4n6	Cachara	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,6 ± 0,7	
	Híbrido	0,6 ± 0,0	0,3 ± 0,0	1,1 ± 0,2	
C20:3n6	Cachara	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,3	3,6 ± 0,8	
	Híbrido	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1	2,1 ± 0,1	
C20:5n3	Cachara	1,0 ± 0,5	1,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	
	Híbrido	1,7 ± 0,2	1,2 ± 0,3	0,3 ± 0,0	
C22:5n3	Cachara	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,1	1,1 ± 0,7	
	Híbrido	1,2 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,4 ± 0,1	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>13,5 ± 1,3</b>	<b>13,9 ± 0,7</b>	<b>16,8 ± 2,3</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>14,3 ± 0,9</b>	<b>13,8 ± 1,4</b>	<b>13,9 ± 2,2</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	2,0 ± 0,6	2,2 ± 0,2	1,7 ± 0,6	
	Híbrido	2,9 ± 1,2	1,9 ± 0,8	0,7 ± 0,4	
PUFA n6	Cachara	11,7 ± 0,3	12,1 ± 0,5	16,6 ± 1,5	
	Híbrido	11,8 ± 0,6	12,0 ± 0,5	14,0 ± 1,1	
n3/n6	Cachara	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,04	
	Híbrido	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	
Outros	Cachara	4,1	4,1	6,3	
	Híbrido	3,8	3,2	2,6	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

HAF: Horas após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 05.** Ácidos graxos totais (%) da fração neutra das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 24, 32 e 40 HAF (Média ± EP).

Ac. Gr.	Grupo	24 HAF	32 HAF	40 HAF	Estatística
C14:0	Cachara	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,3	0,7 ± 0,2	N.S.
C16:0	Cachara	29,6 ± 2,3	30,3 ± 0,2	31,3 ± 0,9	N.S.
	Híbrido	35,6 ± 3,4	32,7 ± 2,6	30,2 ± 2,6	N.S.
C18:0	Cachara	5,9 ± 1,3	8,9 ± 0,3	7,7 ± 0,4	N.S.
	Híbrido	4,1 ± 0,2	4,9 ± 0,6	7,3 ± 0,6	N.S.
C24:0	Cachara	0,0 ± 0,2	3,6 ± 1,0	2,5 ± 0,3	N.S.
	Híbrido	1,0 ± 0,3	0,0 ± 0,0	2,1 ± 0,2	N.S.
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>36,5 ± 0,7 a</b>	<b>43,8 ± 1,1 b</b>	<b>42,6 ± 0,5 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>41,9 ± 3,3</b>	<b>38,7 ± 2,5</b>	<b>40,5 ± 1,9</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	5,0 ± 0,5	4,7 ± 0,5	4,9 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	5,8 ± 0,6	5,3 ± 0,6	4,4 ± 0,5	N.S.
C18:1n9	Cachara	33,4 ± 1,2	29,6 ± 1,5	29,6 ± 0,7	N.S.
	Híbrido	30,7 ± 1,9	31,4 ± 1,5	31,1 ± 1,1	N.S.
C18:1n11	Cachara	2,9 ± 1,0	0,0 ± 1,5	2,6 ± 0,3	N.S.
	Híbrido	2,7 ± 0,2	2,8 ± 0,2	2,9 ± 0,1	N.S.
C20:1n9	Cachara	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	N.S.
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>42,5 ± 0,1 a</b>	<b>35,2 ± 1,9 b</b>	<b>38,0 ± 0,5 ab</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>39,9 ± 1,5</b>	<b>40,4 ± 1,2</b>	<b>39,3 ± 0,8</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	9,9 ± 0,6	6,5 ± 1,8	8,0 ± 0,3	
	Híbrido	9,1 ± 0,6	9,2 ± 0,4	8,4 ± 0,3	
C18:2n6	Cachara	0,0 ± 0,0	4,0 ± 3,2	0,0 ± 0,0	
	Híbrido	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	
C18:3n6	Cachara	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,0	1,9 ± 0,2	
	Híbrido	2,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,8 ± 0,1	
C20:2n6	Cachara	0,8 ± 0,3	0,7 ± 0,2	0,4 ± 0,2	
	Híbrido	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	
C20:4n6	Cachara	1,6 ± 0,2	2,8 ± 0,8	1,9 ± 0,4	
	Híbrido	1,0 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,5 ± 0,1	
C20:3n6	Cachara	3,2 ± 0,3	2,8 ± 0,3	2,9 ± 0,3	
	Híbrido	2,1 ± 0,5	2,3 ± 0,3	2,6 ± 0,2	
C20:5n3	Cachara	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	
	Híbrido	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0	
C22:5n3	Cachara	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	
	Híbrido	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	
C22:6n3	Cachara	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	
	Híbrido	0,0 ± 0,0	1,6 ± 0,3	0,0 ± 0,0	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>18,2 ± 0,7</b>	<b>19,9 ± 1,9</b>	<b>16,8 ± 0,4</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>16,1 ± 1,8</b>	<b>18,9 ± 1,5</b>	<b>17,4 ± 1,1</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	0,6 ± 0,5	1,0 ± 0,1	1,3 ± 0,7	
	Híbrido	0,7 ± 0,2	2,6 ± 0,5	1,1 ± 0,9	
PUFA n6	Cachara	17,6 ± 0,9	18,8 ± 1,3	15,4 ± 0,4	
	Híbrido	15,3 ± 1,0	16,1 ± 0,7	16,1 ± 0,7	
n3/n6	Cachara	0,0 ± 0,5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1	
	Híbrido	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,1	
Outros	Cachara	5,0	2,4	2,8	
	Híbrido	2,0	1,9	2,8	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento.

HAF: Horas após a fertilização; Sat: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado

**Tabela 06.** Ácidos graxos totais (%) da fração neutra das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 2, 3, 4, 5 e 6 DAF (Média ± EP).

Ac. Gr.	Grupo	2 DAF	3 DAF	4 DAF	5 DAF	6 DAF	Estatística
C14:0	Cachara	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,4	1,3 ± 0,4	N.S.
	Híbrido	0,8 ± 0,0	1,6 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,4	N.S.
C15:0	Cachara	0,3 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1	0,8 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	0,3 ± 0,0 a	3,1 ± 0,1 b	1,7 ± 0,1 b	1,6 ± 0,2 b	0,8 ± 0,2 b	< 0,05
C16:0	Cachara	32,7 ± 0,9 a	15,2 ± 0,5 b	15,8 ± 1,2 b	17,8 ± 5,3 b	13,3 ± 1,3 b	< 0,05
	Híbrido	31,3 ± 1,7 a	15,8 ± 0,8 b	15,3 ± 0,5 b	10,4 ± 0,7 b	13,9 ± 1,8 b	< 0,05
C17:0	Cachara	0,6 ± 0,2	2,8 ± 0,7	3,4 ± 1,2	3,8 ± 1,2	3,5 ± 2,3	N.S.
	Híbrido	0,3 ± 0,0 a	3,1 ± 0,1 cbd	2,4 ± 0,1 b	2,5 ± 0,2 d	1,3 ± 0,3 b	< 0,05
C18:0	Cachara	8,4 ± 0,4	9,1 ± 1,4	9,9 ± 0,8	11,4 ± 2,9	13,6 ± 2,8	N.S.
	Híbrido	7,6 ± 0,3	4,8 ± 0,3	9,4 ± 0,9	7,7 ± 0,9	6,4 ± 0,6	N.S.
C24:0	Cachara	1,9 ± 0,1	2,3 ± 0,4	2,1 ± 0,3	3,5 ± 1,5	2,4 ± 0,8	N.S.
	Híbrido	2,7 ± 0,3 a	0,5 ± 0,2 b	0,0 ± 0,0 c	2,4 ± 0,9 a	1,6 ± 1,0 a	< 0,05
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>45,3 ± 0,4 a</b>	<b>32,6 ± 2,0 b</b>	<b>34,1 ± 2,2 b</b>	<b>39,3 ± 0,7 b *</b>	<b>35,2 ± 5,0 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>43,4 ± 1,3 a</b>	<b>29,2 ± 1,3 b</b>	<b>30,2 ± 0,9 b</b>	<b>25,8 ± 3,1 b **</b>	<b>25,5 ± 1,4 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
C16:1	Cachara	5,0 ± 0,2 a	7,4 ± 0,6 b*	7,4 ± 0,6 b	6,2 ± 0,8 b	2,9 ± 0,7 a	< 0,05
	Híbrido	4,6 ± 0,3 a	12,1 ± 0,3 b**	8,2 ± 0,3 c	7,7 ± 0,6 c	5,5 ± 1,0 a	< 0,05
C17:1	Cachara	0,3 ± 0,0 a*	7,4 ± 1,0 b	7,2 ± 0,4 b	5,1 ± 0,8 b*	1,6 ± 0,4 b*	< 0,05
	Híbrido	0,2 ± 0,0 a**	11,6 ± 0,2 b	8,1 ± 0,5 cd	8,3 ± 0,2 d**	3,3 ± 0,2 e**	< 0,05
C18:1n9	Cachara	29,6 ± 0,4 a	18,2 ± 0,8 b	19,4 ± 1,6 b	16,3 ± 2,5 b	17,8 ± 3,1 b	< 0,05
	Híbrido	30,5 ± 0,6 a	16,3 ± 0,5 b	20,7 ± 2,5 b	17,2 ± 1,6 b	19,3 ± 0,7 b	< 0,05
C18:1n11	Cachara	3,0 ± 0,1	6,7 ± 0,5	7,1 ± 1,2	6,3 ± 0,5	4,5 ± 0,6	N.S.
	Híbrido	2,9 ± 0,1 a	7,9 ± 0,1 b	8,0 ± 0,4 b	9,1 ± 0,6 b	6,4 ± 0,2 b	< 0,05
C20:1n9	Cachara	0,8 ± 0,0	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,0	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,2	N.S.
	Híbrido	0,7 ± 0,1	1,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,4 ± 0,0	N.S.
C24:1	Cachara	0,0 ± 0,0 b	1,3 ± 0,0 a*	0,3 ± 0,2 b*	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b*	< 0,05
	Híbrido	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b**	0,0 ± 0,0 b**	0,0 ± 0,0 b	0,4 ± 0,0 a**	< 0,05
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>38,9 ± 0,1 ab</b>	<b>42,4 ± 2,0 a*</b>	<b>42,7 ± 2,8 a</b>	<b>34,9 ± 2,6 ab*</b>	<b>27,9 ± 3,6 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>39,1 ± 0,4 ac</b>	<b>49,3 ± 0,4 b**</b>	<b>46,2 ± 1,9 b</b>	<b>43,7 ± 1,8 ab**</b>	<b>35,6 ± 1,8 c</b>	<b>&lt; 0,05</b>
C18:2n6	Cachara	7,4 ± 0,1	6,1 ± 1,5	4,6 ± 0,3	4,8 ± 0,9	5,5 ± 0,8	N.S.
	Híbrido	7,9 ± 0,1 a	3,9 ± 0,1 bc	3,0 ± 0,2 cd	4,9 ± 0,3 d	4,1 ± 0,2 e	< 0,05
C18:3n6	Cachara	1,6 ± 0,1*	1,6 ± 0,4	2,4 ± 0,8	2,3 ± 1,0	3,6 ± 2,3	N.S.
	Híbrido	2,1 ± 0,1 a**	0,8 ± 0,1 b	1,1 ± 0,1 b	0,9 ± 0,2 b	1,1 ± 0,2 b	N.S.
C20:4n6	Cachara	1,4 ± 0,0	3,8 ± 0,4	3,1 ± 0,2*	4,0 ± 1,5	2,2 ± 0,5	N.S.
	Híbrido	1,8 ± 0,1 a	3,4 ± 0,1 b	4,6 ± 0,4 c**	3,8 ± 0,4 c	1,1 ± 0,2 c	< 0,05
C20:3n6	Cachara	2,2 ± 0,2	1,8 ± 0,1*	2,8 ± 0,2	2,5 ± 0,7	2,2 ± 1,1	N.S.
	Híbrido	2,4 ± 0,3 a	0,8 ± 0,1 b**	2,0 ± 0,3 ab	1,4 ± 0,1 c	0,5 ± 0,1 d	< 0,05
C20:5n3	Cachara	0,4 ± 0,0 a	7,4 ± 0,7 b	5,0 ± 0,2 c	4,2 ± 1,0 c	1,7 ± 0,3 a	< 0,05
	Híbrido	0,5 ± 0,1 a	8,7 ± 0,6 c	5,4 ± 0,4 b	5,8 ± 0,7 b	2,2 ± 0,4 a	< 0,05
C22:5n3	Cachara	0,4 ± 0,0	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,4	1,0 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	0,7 ± 0,2	0,1 ± 0,0	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	N.S.
C22:6n3	Cachara	0,0 ± 0,0 b	1,4 ± 0,0 a*	0,0 ± 0,0 b*	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	< 0,05
	Híbrido	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b**	2,8 ± 0,9 a**	0,2 ± 0,0 b	0,1 ± 0,0 b	< 0,05
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>13,8 ± 0,4 a</b>	<b>23,2 ± 1,1 b</b>	<b>19,1 ± 0,7 b</b>	<b>19,2 ± 3,0 b</b>	<b>16,5 ± 4,7 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>15,7 ± 0,9 a</b>	<b>18,1 ± 1,0 ac</b>	<b>20,1 ± 0,9 b</b>	<b>18,5 ± 1,3 b</b>	<b>9,6 ± 3,0 d</b>	<b>&lt; 0,05</b>
PUFA n3	Cachara	0,9 ± 0,0 a	9,6 ± 0,4 b	5,9 ± 0,2 c*	5,4 ± 0,7 c	2,8 ± 4,9 c	< 0,05
	Híbrido	1,3 ± 0,3	8,9 ± 0,6	9,3 ± 0,8**	7,3 ± 1,2	2,5 ± 0,4	< 0,05
PUFA n6	Cachara	12,8 ± 0,4	13,5 ± 0,5 *	13,0 ± 1,2	13,7 ± 2,8	13,6 ± 3,2 *	N.S.
	Híbrido	14,3 ± 0,5	9,2 ± 0,5 *	10,7 ± 0,2	11,1 ± 0,3	6,9 ± 0,6 **	N.S.
n3/n6	Cachara	0,0 ± 0,0 a	0,7 ± 0,7 b	0,4 ± 0,1 b	0,3 ± 0,3 b	0,2 ± 1,1 b	< 0,05
	Híbrido	0,0 ± 0,6 a	0,9 ± 0,1 b	0,8 ± 0,1 b	0,6 ± 0,2 b	0,3 ± 1,3 b	< 0,05
Outros	Cachara	2,0	4,8	4,9	7,8	20,5	N.S.
	Híbrido	1,7	3,4	3,5	12,2	29,3	N.S.

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.



**Tabela 07.** Ácidos graxos totais (%) da fração neutra das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 DAF (Média ± EP).

Ac. Gr.	Grupo	7 DAF	8 DAF	9 DAF	10 DAF	15 DAF	20 DAF	25 DAF	Estatística
C14:0	Cachara	2,4 ± 0,0	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,2	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,3	1,4 ± 0,7	1,8 ± 0,8	N.S.
	Híbrido	1,1 ± 0,3	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,6	1,5 ± 0,5	N.S.
C15:0	Cachara	2,5 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,7 ± 0,3	0,8 ± 0,3	N.S.
	Híbrido	0,7 ± 0,3	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,2	N.S.
C16:0	Cachara	19,5 ± 0,5	12,9 ± 2,3	9,7 ± 0,6	12,8 ± 1,7	12,3 ± 1,6	13,8 ± 2,3	14,9 ± 2,2	N.S.
	Híbrido	20,2 ± 1,4 a	9,2 ± 1,0 b	11,5 ± 0,8 b	13,3 ± 0,8 b	12,9 ± 2,5 b	12,6 ± 3,5 b	13,9 ± 2,1 b	< 0,05
C17:0	Cachara	3,4 ± 0,3	2,15 ± 1,1	2,7 ± 2,0	2,9 ± 1,4	2,9 ± 0,8	3,1 ± 1,8	4,1 ± 1,6	N.S.
	Híbrido	2,0 ± 0,4	1,2 ± 0,2	3,7 ± 1,6	3,2 ± 2,3	0,8 ± 0,2	1,0 ± 0,1	2,1 ± 1,1	N.S.
C18:0	Cachara	8,2 ± 0,1	9,8 ± 1,9	12,3 ± 1,0	12,7 ± 0,6	6,9 ± 0,4	11,7 ± 1,3	11,8 ± 1,8	N.S.
	Híbrido	9,5 ± 1,5	11,3 ± 2,7	8,3 ± 1,9	7,6 ± 1,0	8,4 ± 2,1	14,6 ± 2,4	12,1 ± 1,1	N.S.
C24:0	Cachara	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	2,8 ± 1,1	2,6 ± 0,5	0,5 ± 0,3	1,1 ± 0,4	0,9 ± 0,3	N.S.
	Híbrido	1,5 ± 0,1 b	1,4 ± 0,9 b	0,3 ± 0,0 a	1,1 ± 0,4 b	1,2 ± 1,4 b	1,2 ± 1,4 b	2,0 ± 1,3 b	< 0,05
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>36,8 ± 0,2</b>	<b>26,9 ± 4,0</b>	<b>28,9 ± 2,9</b>	<b>32,6 ± 1,8</b>	<b>24,3 ± 1,5</b>	<b>32,0 ± 3,9</b>	<b>34,5 ± 4,8</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>35,3 ± 0,5 a</b>	<b>24,4 ± 2,1 b</b>	<b>25,1 ± 2,5 b</b>	<b>27,5 ± 2,8</b>	<b>25,0 ± 1,6 b</b>	<b>31,1 ± 2,7</b>	<b>32,5 ± 2,0</b>	<b>&lt; 0,05</b>
C14:1	Cachara	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,4	N.S.
	Híbrido	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,9 ± 0,0	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,1	1,1 ± 0,3	N.S.
C16:1	Cachara	8,1 ± 0,2 a*	3,3 ± 0,3 b	2,9 ± 0,3 b	2,4 ± 0,5 b	2,2 ± 0,5 b	4,1 ± 1,3 c	3,8 ± 0,1	< 0,05
	Híbrido	4,1 ± 1,2 **	2,0 ± 0,6	2,0 ± 0,4	3,7 ± 0,6	2,9 ± 0,8	2,8 ± 0,9	4,0 ± 0,6	N.S.
C17:1	Cachara	6,3 ± 0,1 a	1,8 ± 0,4 b	0,9 ± 0,2 b	1,0 ± 0,1 b	0,9 ± 0,2 b	1,0 ± 0,1 b	0,9 ± 0,1 b	< 0,05
	Híbrido	1,2 ± 0,8	1,0 ± 0,5	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,0	0,9 ± 0,1	N.S.
C18:1n9	Cachara	16,3 ± 0,4	19,0 ± 2,3	15,6 ± 1,0	16,8 ± 2,6	15,2 ± 0,9	17,5 ± 1,9	15,1 ± 0,9	N.S.
	Híbrido	25,1 ± 2,0 a	11,5 ± 3,6 b	17,3 ± 1,3 b	15,1 ± 1,6 b	18,6 ± 1,1 b	16,9 ± 2,9 b	16,0 ± 1,4 b	< 0,05
C18:1n11	Cachara	6,7 ± 0,1	5,0 ± 0,5	5,2 ± 0,8	4,4 ± 0,6	4,3 ± 0,3	4,4 ± 0,5	3,8 ± 0,4	N.S.
	Híbrido	4,2 ± 0,5 a	10,4 ± 4,0 b	4,6 ± 1,3 a	4,2 ± 0,4 a	4,8 ± 0,5 a	5,0 ± 0,5 a	4,8 ± 0,6 a	< 0,05
C24:1	Cachara	0,0 ± 0,0 b	3,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,9 b	0,1 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,4 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	< 0,05
	Híbrido	0,2 ± 0,0	3,0 ± 2,3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,5 ± 0,0	N.S.
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>38,3 ± 0,5 a*</b>	<b>33,1 ± 2,7 ab</b>	<b>25,3 ± 2,2 ab</b>	<b>25,5 ± 2,2 b</b>	<b>23,6 ± 1,6 b</b>	<b>28,6 ± 2,8 ab</b>	<b>25,0 ± 1,7 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>35,3 ± 0,6**</b>	<b>28,5 ± 1,8</b>	<b>25,4 ± 1,1</b>	<b>25,3 ± 2,7</b>	<b>28,3 ± 1,5</b>	<b>26,0 ± 3,5</b>	<b>27,8 ± 1,6</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	4,0 ± 0,1 *	6,1 ± 0,5	5,5 ± 0,5	7,3 ± 1,5	6,0 ± 0,3	3,9 ± 1,9	6,2 ± 0,5	N.S.
	Híbrido	8,9 ± 1,3 **	6,0 ± 1,0	6,1 ± 0,5	5,6 ± 0,9	7,4 ± 0,9	6,4 ± 0,5	7,4 ± 0,4	N.S.
C18:3n6	Cachara	1,1 ± 0,3	2,7 ± 1,4	3,0 ± 1,8	2,7 ± 1,4	4,1 ± 0,3 *	3,2 ± 1,6	3,0 ± 1,8	N.S.
	Híbrido	1,0 ± 0,5	0,8 ± 0,2	4,2 ± 1,4	4,1 ± 2,1	1,5 ± 0,4 **	0,9 ± 0,6	1,4 ± 0,5	N.S.
C18:4n6	Cachara	1,8 ± 0,0 *	0,9 ± 0,0	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,2	0,3 ± 0,1	1,3 ± 0,8	1,7 ± 0,6	N.S.
	Híbrido	0,6 ± 0,3 **	0,3 ± 0,0	0,7 ± 0,1	1,5 ± 0,2	0,7 ± 0,3	0,8 ± 0,4	1,1 ± 0,4	N.S.
C18:3n3	Cachara	8,2 ± 0,1 a	22,1 ± 5,4 b	21,7 ± 1,4 b	18,1 ± 5,8 b	28,8 ± 1,7 b	19,5 ± 2,9 ab	16,8 ± 4,8 ab	< 0,05
	Híbrido	4,5 ± 1,7 a	20,8 ± 2,7 b	29,6 ± 2,6 b	21,6 ± 2,4 b	26,7 ± 0,5 b	15,8 ± 5,8 ab	18,3 ± 0,9 ab	< 0,05
C20:4n6	Cachara	1,3 ± 0,0 *	1,2 ± 0,4	1,6 ± 0,5	3,1 ± 1,5	5,0 ± 4,5	2,3 ± 1,2	0,9 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	2,0 ± 0,1 **	3,1 ± 1,4	0,7 ± 0,4	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,5	3,2 ± 1,2	1,6 ± 1,2	N.S.
C20:3n6	Cachara	1,5 ± 0,1	2,5 ± 1,3	2,1 ± 0,6	1,8 ± 0,6	1,7 ± 0,2	2,0 ± 0,8	3,0 ± 0,4	N.S.
	Híbrido	1,4 ± 0,0	2,3 ± 1,1	2,2 ± 0,8	3,6 ± 1,5	1,2 ± 0,7	1,4 ± 0,3	1,1 ± 0,5	N.S.
C20:4n3	Cachara	0,4 ± 0,1	1,1 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,0 ± 0,3	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,2	2,3 ± 0,8	N.S.
	Híbrido	0,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,7 ± 0,6	1,3 ± 0,3	N.S.
C20:5n3	Cachara	2,2 ± 0,0	1,2 ± 0,3	1,7 ± 0,4	1,6 ± 0,3	1,1 ± 0,1	2,2 ± 0,4	1,1 ± 0,2	N.S.
	Híbrido	1,1 ± 0,6 a	4,7 ± 1,2 b	0,9 ± 0,1 a	0,9 ± 0,1 a	1,5 ± 0,5 a	3,2 ± 1,7 a	2,0 ± 0,8 a	< 0,05
C22:2n6	Cachara	1,1 ± 0,2	1,7 ± 0,4	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,6 ± 0,2	1,0 ± 0,4	N.S.
	Híbrido	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	2,6 ± 0,6	0,1 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,2 ± 0,1	N.S.
C22:5n3	Cachara	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,4	1,5 ± 0,4	0,8 ± 0,3	0,7 ± 0,2	1,4 ± 0,6	1,3 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	0,7 ± 0,2	1,5 ± 0,8	0,5 ± 0,0	2,9 ± 1,0	1,1 ± 0,4	2,0 ± 1,0	1,5 ± 0,6	N.S.
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>23,5 ± 0,6 a</b>	<b>41,3 ± 5,1 b</b>	<b>40,6 ± 0,7 b*</b>	<b>38,6 ± 3,5 ab</b>	<b>49,5 ± 3,1 b</b>	<b>38,2 ± 4,5 ab</b>	<b>37,6 ± 4,8 ab</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>22,0 ± 0,6 a</b>	<b>42,5 ± 3,6 b</b>	<b>47,5 ± 1,3 b**</b>	<b>45,2 ± 2,1 b</b>	<b>42,9 ± 2,2 b</b>	<b>36,4 ± 5,7 b</b>	<b>36,4 ± 3,1 ab</b>	<b>&lt; 0,05</b>
PUFA n3	Cachara	12,3 ± 0,4	26,0 ± 5,8	26,7 ± 2,3	21,6 ± 7,0	32,1 ± 1,4	24,4 ± 2,9	21,6 ± 4,7	
	Híbrido	6,9 ± 2,5	28,6 ± 1,8	33,0 ± 2,0	26,6 ± 2,1	30,8 ± 1,4	22,9 ± 7,3	23,3 ± 2,5	
PUFA n6	Cachara	11,2 ± 0,5	15,2 ± 2,9	13,7 ± 2,0	16,9 ± 2,6	17,4 ± 4,6	13,7 ± 1,4	15,9 ± 2,0	
	Híbrido	15,0 ± 1,6	13,9 ± 1,3	14,4 ± 1,4	18,5 ± 4,2	12,1 ± 1,0	13,3 ± 1,7	13,0 ± 1,6	
n3/n6	Cachara	1,0 ± 0,1	1,7 ± 2,9	1,9 ± 1,0	1,2 ± 1,0	1,8 ± 1,4	1,7 ± 1,2	1,3 ± 1,0	
	Híbrido	0,4 ± 0,4	2,0 ± 0,7	2,2 ± 1,1	1,4 ± 1,4	2,5 ± 1,2	1,7 ± 0,9	1,7 ± 0,8	
Outros	Cachara	2,1	3,2	2,4	4,2	3,6	4,0	5,2	
	Híbrido	7,4	4,4	2,0	1,9	3,7	6,4	3,3	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 08.** Ácidos graxos totais (%) da fração neutra do fígado de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 32, 39 e 45 DAF (Média ± EP).

Ac. Gr.	Grupo	32 DAF	39 DAF	45 DAF	Estatística
C14:0	Cachara	1,0 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,3	N.S.
	Híbrido	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,2	1,5 ± 0,4	N.S.
C16:0	Cachara	21,9 ± 0,6	20,8 ± 1,7	26,8 ± 3,0	N.S.
	Híbrido	20,2 ± 0,8	28,1 ± 3,0	20,8 ± 1,5	N.S.
C17:0	Cachara	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,2	1,3 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	1,0 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,0 ± 0,1	N.S.
C18:0	Cachara	17,7 ± 0,1	16,4 ± 0,7	18,7 ± 0,8	N.S.
	Híbrido	16,8 ± 0,6	19,0 ± 1,8	16,1 ± 0,2	N.S.
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>41,8 ± 0,9 a</b>	<b>39,4 ± 1,8 a *</b>	<b>48,1 ± 2,5 b *</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>39,4 ± 2,2 a</b>	<b>49,6 ± 1,6 b **</b>	<b>39,6 ± 1,8 a **</b>	<b>&lt; 0,05</b>
C16:1	Cachara	3,0 ± 0,3	2,9 ± 0,2	2,0 ± 0,2	N.S.
	Híbrido	2,7 ± 0,1	2,0 ± 0,2	3,0 ± 0,3	N.S.
C18:1n9	Cachara	27,2 ± 1,7 b	27,3 ± 1,7 b	17,2 ± 2,0 a	< 0,05
	Híbrido	22,2 ± 2,1	17,8 ± 2,2	22,2 ± 2,7	N.S.
C18:1n11	Cachara	2,7 ± 0,1	3,5 ± 0,1	2,9 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	3,0 ± 0,1	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,1	N.S.
C20:1n9	Cachara	1,0 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,7 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	1,6 ± 0,4	1,9 ± 0,2	1,0 ± 0,0	N.S.
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>34,1 ± 1,5 b</b>	<b>35,2 ± 0,9 b *</b>	<b>24,0 ± 2,6 a</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>29,6 ± 1,8</b>	<b>24,7 ± 2,5 **</b>	<b>29,4 ± 3,0</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	6,8 ± 0,4	9,2 ± 0,2	6,3 ± 0,3	
	Híbrido	8,2 ± 0,7	5,5 ± 0,6	9,7 ± 0,5	
C18:3n6	Cachara	1,4 ± 0,5	0,5 ± 0,1	2,5 ± 0,0	
	Híbrido	0,9 ± 0,4	0,0 ± 0,0	1,1 ± 0,9	
C20:2n6	Cachara	0,9 ± 0,0	0,7 ± 0,2	1,6 ± 0,3	
	Híbrido	1,1 ± 0,2	1,5 ± 0,2	0,9 ± 0,2	
C20:4n6	Cachara	3,9 ± 0,6	4,2 ± 1,4	5,0 ± 1,5	
	Híbrido	4,3 ± 1,2	4,6 ± 1,4	4,1 ± 1,0	
C20:3n6	Cachara	2,0 ± 0,3	1,9 ± 0,2	2,5 ± 0,7	
	Híbrido	3,2 ± 1,1	1,5 ± 0,2	3,0 ± 1,5	
C20:5n3	Cachara	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,0	
	Híbrido	1,2 ± 0,3	0,6 ± 0,1	1,0 ± 0,2	
C22:5n3	Cachara	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,3	
	Híbrido	2,2 ± 0,9	1,4 ± 0,2	2,1 ± 0,7	
C22:6n3	Cachara	2,5 ± 0,0	2,8 ± 0,8	3,6 ± 1,1	
	Híbrido	3,5 ± 0,1	4,0 ± 0,4	2,5 ± 0,3	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>20,0 ± 0,6</b>	<b>21,9 ± 2,7</b>	<b>23,8 ± 5,1</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>25,1 ± 2,3</b>	<b>19,7 ± 2,9</b>	<b>24,8 ± 4,4</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	4,7 ± 0,4	5,1 ± 1,2	5,5 ± 1,4	
	Híbrido	7,0 ± 1,5	6,2 ± 0,8	5,8 ± 0,7	
PUFA n6	Cachara	15,2 ± 0,1	16,7 ± 1,4	18,2 ± 3,6	
	Híbrido	18,0 ± 0,3	13,4 ± 1,8	19,0 ± 4,4	
n3/n6	Cachara	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	
	Híbrido	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,2	
Outros	Cachara	4,3	8,0	6,1	
	Híbrido	6,0	5,9	6,2	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 09.** Ácidos graxos totais (%) da fração neutra do encéfalo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 32, 39 e 45 DAF (Média ± EP).

Ac. Gr.	Grupo	32 DAF	39 DAF	45 DAF	Estatística
C16:0	Cachara	11,6 ± 1,5	8,1 ± 1,2	9,0 ± 0,6	
	Híbrido	7,3 ± 0,7	8,1 ± 0,1	9,3 ± 0,5	
C17:0	Cachara	2,0 ± 1,3	3,2 ± 1,8	3,6 ± 1,4	
	Híbrido	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,3	
C18:0	Cachara	27,0 ± 1,3	28,2 ± 0,3	26,7 ± 2,1	
	Híbrido	29,2 ± 0,9	29,4 ± 0,1	23,1 ± 1,3	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>40,7 ± 1,7</b>	<b>39,6 ± 3,1</b>	<b>39,3 ± 0,4</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>37,3 ± 0,3</b>	<b>38,5 ± 0,2</b>	<b>33,5 ± 2,0</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	1,6 ± 0,3*	0,7 ± 0,3	1,0 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	0,7 ± 0,0**	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,0	N.S.
C18:1n9	Cachara	13,5 ± 1,4	9,1 ± 0,7	10,9 ± 0,5	N.S.
	Híbrido	9,8 ± 0,5	11,3 ± 0,1	10,9 ± 0,7	N.S.
C18:1n11	Cachara	2,1 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,0	N.S.
	Híbrido	1,2 ± 0,6	1,8 ± 0,0	1,5 ± 0,1	N.S.
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>17,3 ± 2,0 a</b>	<b>11,1 ± 0,5 b*</b>	<b>13,8 ± 0,6 ab</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>11,8 ± 0,2 a</b>	<b>14,3 ± 0,1 b**</b>	<b>13,7 ± 0,4 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
C18:2n6	Cachara	2,8 ± 0,3	1,1 ± 0,2	2,4 ± 0,2	
	Híbrido	0,9 ± 0,4	2,3 ± 0,0	2,5 ± 0,2	
C18:3n6	Cachara	1,9 ± 1,1	3,1 ± 2,1	4,0 ± 0,4	
	Híbrido	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	2,7 ± 1,1	
C20:4n6	Cachara	6,5 ± 0,8	6,5 ± 0,8	6,0 ± 0,6	
	Híbrido	8,4 ± 0,2	8,2 ± 0,3	6,4 ± 0,3	
C20:3n6	Cachara	2,6 ± 0,7	2,2 ± 1,0	3,2 ± 0,7	
	Híbrido	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1	5,7 ± 1,9	
C22:5n3	Cachara	3,1 ± 0,4	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,0	
	Híbrido	3,4 ± 0,2	2,9 ± 0,1	4,7 ± 1,0	
C22:5n6	Cachara	1,9 ± 0,3	2,2 ± 0,3	2,1 ± 0,2	
	Híbrido	2,7 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,4 ± 0,3	
C22:6n3	Cachara	17,4 ± 2,1	25,1 ± 4,5	22,3 ± 1,8	
	Híbrido	28,0 ± 0,4	23,5 ± 0,4	17,5 ± 3,8	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>36,7 ± 3,7</b>	<b>43,4 ± 2,8</b>	<b>43,0 ± 0,7</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>45,5 ± 0,3</b>	<b>41,6 ± 0,2</b>	<b>41,3 ± 2,0</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	20,6 ± 2,4	27,9 ± 4,5	25,0 ± 1,8	
	Híbrido	31,4 ± 0,3	26,5 ± 0,5	22,3 ± 2,8	
PUFA n6	Cachara	16,0 ± 2,1	15,4 ± 2,4	17,9 ± 1,3	
	Híbrido	14,0 ± 0,5	15,0 ± 0,8	18,9 ± 4,2	
n3/n6	Cachara	1,2 ± 0,2	1,8 ± 0,5	1,3 ± 0,4	
	Híbrido	2,2 ± 0,6	1,7 ± 0,1	1,1 ± 0,5	
Outros	Cachara	5,3	5,9	4,9	
	Híbrido	5,4	5,6	11,5	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 10.** Ácidos graxos totais (%) da fração neutra do músculo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 32, 39 e 45 DAF (Média ± EP).

Ac. Gr.	Grupo	32 DAF	39 DAF	45 DAF	Estatística
C14:0	Cachara	1,6 ± 0,5	2,5 ± 0,1	2,1 ± 0,5	
	Híbrido	1,9 ± 0,4	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,2	
C15:0	Cachara	1,0 ± 0,4	1,3 ± 0,0	1,1 ± 0,1	
	Híbrido	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	
C16:0	Cachara	18,7 ± 2,8	20,7 ± 2,0	17,4 ± 1,0	
	Híbrido	22,5 ± 1,6	17,9 ± 1,1	21,5 ± 1,7	
C17:0	Cachara	1,1 ± 0,2	3,2 ± 0,4	6,2 ± 2,5	
	Híbrido	3,7 ± 1,4	1,1 ± 0,3	1,4 ± 0,3	
C18:0	Cachara	18,6 ± 1,2	16,4 ± 0,1	16,6 ± 2,2	
	Híbrido	17,4 ± 0,5	18,0 ± 0,9	17,4 ± 0,4	
C24:0	Cachara	5,8 ± 2,3	4,1 ± 0,2	4,6 ± 1,8	
	Híbrido	3,6 ± 0,2	3,4 ± 1,7	2,4 ± 0,7	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>47,1 ± 0,8</b>	<b>48,5 ± 1,1 *</b>	<b>48,2 ± 0,9</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>50,3 ± 4,2</b>	<b>42,6 ± 1,5 **</b>	<b>44,9 ± 1,2</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	3,5 ± 0,8	5,1 ± 0,4	3,6 ± 1,2	
	Híbrido	3,4 ± 0,1	3,0 ± 0,2	3,4 ± 0,3	
C18:1n9	Cachara	16,5 ± 2,9	19,4 ± 0,0	17,1 ± 1,3	
	Híbrido	18,9 ± 1,1	18,2 ± 0,6	24,1 ± 0,2	
C18:1n11	Cachara	2,7 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,2	
	Híbrido	2,7 ± 0,3	3,5 ± 0,2	3,2 ± 0,1	
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>22,9 ± 3,4</b>	<b>26,9 ± 0,8</b>	<b>23,1 ± 3,0</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>25,2 ± 0,8</b>	<b>24,9 ± 2,2</b>	<b>30,8 ± 0,5</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	7,7 ± 1,6	5,8 ± 0,0	5,8 ± 0,4	
	Híbrido	5,1 ± 2,0	9,4 ± 1,1	9,6 ± 0,9	
C18:3n6	Cachara	1,7 ± 1,0	1,1 ± 0,0	4,3 ± 2,7	
	Híbrido	0,6 ± 0,0	0,9 ± 0,5	0,3 ± 0,0	
C20:4n6	Cachara	6,1 ± 1,7	3,7 ± 0,1	3,2 ± 1,1	
	Híbrido	3,8 ± 0,2	4,1 ± 0,3	3,1 ± 0,2	
C20:3n6	Cachara	2,4 ± 0,5	2,0 ± 0,1	3,5 ± 1,1	
	Híbrido	2,7 ± 0,8	2,2 ± 0,6	1,9 ± 0,1	
C20:5n3	Cachara	1,4 ± 0,2	1,7 ± 0,6	1,3 ± 0,2	
	Híbrido	0,8 ± 0,1	3,1 ± 1,8	1,1 ± 0,2	
C22:4n6	Cachara	1,3 ± 0,5	0,9 ± 0,1	0,6 ± 0,2	
	Híbrido	1,0 ± 0,0	0,7 ± 0,2	0,4 ± 0,2	
C22:5n3	Cachara	2,8 ± 0,7	2,0 ± 0,7	2,2 ± 0,4	
	Híbrido	2,4 ± 0,4	3,0 ± 0,3	1,3 ± 0,1	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>23,7 ± 2,8</b>	<b>17,4 ± 0,4*</b>	<b>21,3 ± 2,5</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>16,8 ± 3,5</b>	<b>23,7 ± 1,1**</b>	<b>18,0 ± 1,5</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	4,2 ± 1,0	3,7 ± 1,2	3,5 ± 0,6	
	Híbrido	3,3 ± 2,1	6,1 ± 1,8	2,4 ± 1,0	
PUFA n6	Cachara	19,4 ± 3,5	13,6 ± 0,7	17,7 ± 3,1	
	Híbrido	13,4 ± 1,4	17,5 ± 1,9	15,5 ± 0,8	
n3/n6	Cachara	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	
	Híbrido	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,3	0,1 ± 0,2	
Outros	Cachara	6,3 ±	7,1 ±	7,4 ±	
	Híbrido	7,7 ±	8,8 ±	6,3 ±	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 11.** Ácidos graxos totais (%) da fração polar das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) na fase de ovo com 0, 8 e 16 HAF (Média ± EP).

Ac. Gr.	Grupo	0 HAF	8 HAF	16 HAF	Estatística
C16:0	Cachara	21,3 ± 1,9	17,7 ± 0,6	18,6 ± 1,0	
	Híbrido	18,6 ± 0,7	21,6 ± 4,4	18,4 ± 2,5	
C18:0	Cachara	15,8 ± 0,8	17,1 ± 1,4	21,0 ± 0,9	
	Híbrido	16,0 ± 0,3	16,1 ± 0,5	19,9 ± 1,3	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>37,2 ± 1,7</b>	<b>34,9 ± 0,9</b>	<b>39,7 ± 1,5</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>34,7 ± 1,0</b>	<b>37,8 ± 4,6</b>	<b>38,4 ± 3,1</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,7 ± 0,4	
	Híbrido	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,3	1,5 ± 0,5	
C18:1n9	Cachara	18,8 ± 1,3	17,6 ± 0,7	18,7 ± 1,0	
	Híbrido	19,5 ± 0,3	19,5 ± 0,9	19,8 ± 0,8	
C18:1n11	Cachara	3,0 ± 0,1	2,9 ± 0,0	2,1 ± 0,2	
	Híbrido	5,0 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,4 ± 0,1	
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>23,4 ± 1,5</b>	<b>22,0 ± 0,9</b>	<b>22,8 ± 0,5</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>25,7 ± 0,5</b>	<b>23,4 ± 0,8</b>	<b>23,9 ± 1,2</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	4,8 ± 0,2	4,7 ± 0,1	4,9 ± 0,3	
	Híbrido	0,0 ± 0,0	5,0 ± 0,1	5,0 ± 0,1	
C20:3n6	Cachara	1,7 ± 0,1	2,0 ± 0,1	5,1 ± 0,7	
	Híbrido	2,0 ± 0,0	1,9 ± 0,4	4,7 ± 0,2	
C20:4n6	Cachara	3,7 ± 0,3	4,1 ± 0,1	6,6 ± 0,2	
	Híbrido	4,6 ± 0,0	4,0 ± 0,6	7,1 ± 1,1	
C20:5n3	Cachara	3,9 ± 0,2	4,2 ± 0,1	1,4 ± 0,2	
	Híbrido	4,6 ± 0,1	3,7 ± 0,5	1,5 ± 0,2	
C22:5n3	Cachara	3,3 ± 0,3	3,7 ± 0,0	1,9 ± 0,4	
	Híbrido	4,0 ± 0,2	3,2 ± 0,7	1,9 ± 0,3	
C22:6n3	Cachara	17,4 ± 2,2	19,6 ± 0,2	10,1 ± 0,0	
	Híbrido	20,2 ± 1,2	15,7 ± 3,1	10,5 ± 2,2	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>35,1 ± 2,9</b>	<b>38,6 ± 0,0</b>	<b>30,3 ± 1,1</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>35,6 ± 1,5</b>	<b>33,8 ± 5,3</b>	<b>31,0 ± 4,2</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	24,7 ± 0,4	27,6 ± 0,1	13,5 ± 0,0	
	Híbrido	28,8 ± 1,5	22,7 ± 4,3	14,1 ± 2,7	
PUFA n6	Cachara	10,3 ± 0,5	10,9 ± 0,2	16,7 ± 1,1	
	Híbrido	6,6 ± 0,0	11,0 ± 1,0	16,9 ± 1,4	
n3/n6	Cachara	2,3 ± 0,7	2,5 ± 0,0	0,8 ± 0,0	
	Híbrido	4,3 ± 0,2	2,0 ± 0,2	0,8 ± 0,1	
Outros	Cachara	4,4	4,9	8,1	
	Híbrido	4,0	5,0	6,6	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

HAF: Horas após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 12.** Ácidos graxos totais (%) da fração polar das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 24, 32 e 40 HAF.

Ac. Gr.	Grupo	24 HAF	32 HAF	40 HAF	Estatística
C16:0	Cachara	15,6 ± 0,4	17,8 ± 1,4	17,4 ± 0,9	
	Híbrido	19,8 ± 0,5	19,6 ± 1,6	16,5 ± 2,1	
C18:0	Cachara	20,5 ± 0,2	17,4 ± 0,4	18,7 ± 1,7	
	Híbrido	18,2 ± 0,1	18,6 ± 0,7	18,2 ± 0,6	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>36,1 ± 0,2 *</b>	<b>35,3 ± 1,2</b>	<b>36,1 ± 2,5</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>38,1 ± 0,5 **</b>	<b>38,3 ± 2,4</b>	<b>34,8 ± 2,7</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,2	2,1 ± 0,3	
	Híbrido	1,3 ± 0,0	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1	
C18:1n9	Cachara	18,3 ± 0,6	20,2 ± 0,8	18,1 ± 0,6	
	Híbrido	21,2 ± 0,1	20,0 ± 0,5	17,6 ± 0,3	
C18:1n11	Cachara	2,4 ± 0,0	2,3 ± 0,0	1,9 ± 0,2	
	Híbrido	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,5 ± 0,1	
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>22,0 ± 0,6</b>	<b>24,0 ± 0,7</b>	<b>22,3 ± 0,6</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>22,6 ± 0,1</b>	<b>21,3 ± 0,9</b>	<b>20,4 ± 0,8</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	4,9 ± 0,1	6,0 ± 0,2	5,2 ± 0,3	
	Híbrido	6,2 ± 0,0	5,7 ± 0,1	5,2 ± 0,4	
C20:2n6	Cachara	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,0	
	Híbrido	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,1	
C20:3n6	Cachara	4,8 ± 0,2	5,5 ± 0,1	5,1 ± 0,1	
	Híbrido	4,5 ± 0,1	4,8 ± 0,4	4,6 ± 2,4	
C20:4n6	Cachara	9,2 ± 0,5	7,4 ± 0,6	8,3 ± 0,3	
	Híbrido	7,8 ± 0,2	7,9 ± 0,6	9,1 ± 0,1	
C20:5n3	Cachara	2,0 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,2	
	Híbrido	1,8 ± 0,0	1,7 ± 0,2	2,0 ± 0,0	
C22:5n6	Cachara	1,2 ± 0,0	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	
	Híbrido	0,9 ± 0,0	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,1	
C22:5n3	Cachara	1,6 ± 0,1	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,2	
	Híbrido	1,9 ± 0,0	2,1 ± 0,3	2,5 ± 0,4	
C22:6n3	Cachara	13,0 ± 0,6	12,2 ± 0,9	12,6 ± 1,0	
	Híbrido	11,4 ± 0,3	11,9 ± 1,6	14,2 ± 0,6	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>38,3 ± 0,7</b>	<b>37,4 ± 1,8</b>	<b>37,5 ± 1,9</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>35,7 ± 0,6</b>	<b>36,4 ± 3,3</b>	<b>40,1 ± 3,4</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	16,8 ± 0,1	15,9 ± 0,1	16,5 ± 0,2	
	Híbrido	15,2 ± 0,4	15,8 ± 2,0	18,9 ± 5,1	
PUFA n6	Cachara	21,4 ± 0,6	21,4 ± 0,7	20,9 ± 0,4	
	Híbrido	20,4 ± 0,2	20,5 ± 1,1	21,1 ± 2,9	
n3/n6	Cachara	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	
	Híbrido	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,2	
Outros	Cachara	3,7	4,1	5,6	
	Híbrido	3,4	4,0	4,6	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

HAF: Horas após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 13.** Ácidos graxos totais (%) da fração polar das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 2, 3, 4, 5 e 6 DAF.

Ac. Gr.	Grupo	2 DAF	3 DAF	4 DAF	5 DAF	6 DAF	Estatística
C16:0	Cachara	18,7 ± 1,7	16,7 ± 2,2	14,7 ± 0,0	13,1 ± 1,5	14,1 ± 1,1	
	Híbrido	14,7 ± 0,5	13,1 ± 0,7	17,2 ± 1,4	13,8 ± 1,3	12,6 ± 1,3	
C17:0	Cachara	0,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,2 ± 0,0	1,9 ± 0,1	1,6 ± 0,2	
	Híbrido	0,3 ± 0,0	2,6 ± 0,1	1,6 ± 0,2	2,4 ± 0,0	1,9 ± 0,1	
C18:0	Cachara	21,0 ± 2,2	13,2 ± 0,9	16,4 ± 0,1	15,3 ± 0,5	16,7 ± 0,8	
	Híbrido	17,5 ± 0,3	12,8 ± 1,8	14,9 ± 0,6	15,9 ± 0,2	17,0 ± 0,6	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>40,3 ± 4,3</b>	<b>31,7 ± 1,3</b>	<b>32,4 ± 0,1</b>	<b>30,5 ± 2,2</b>	<b>32,5 ± 0,4</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>32,6 ± 0,2</b>	<b>28,7 ± 1,6</b>	<b>33,8 ± 0,6</b>	<b>32,3 ± 1,4</b>	<b>31,6 ± 1,3</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	1,7 ± 0,3 b	5,6 ± 1,2 a	2,8 ± 0,0 b	3,0 ± 0,1 b	2,7 ± 0,4 b	< 0,05
	Híbrido	1,0 ± 0,0 b	5,2 ± 1,1 a	2,8 ± 0,2 b	3,5 ± 0,4 b	2,7 ± 0,4 b	< 0,05
C17:1	Cachara	0,2 ± 0,1 c	5,0 ± 0,5 a	2,1 ± 0,0 b	3,7 ± 0,1 b	2,2 ± 0,1 b	< 0,05
	Híbrido	0,1 ± 0,0 c	6,2 ± 0,5 a	2,6 ± 0,1 b	4,1 ± 0,6 b	2,2 ± 0,1 b	< 0,05
C18:1n9	Cachara	17,2 ± 0,2	16,6 ± 1,0	13,2 ± 0,0	13,9 ± 0,5	14,2 ± 1,5	N.S.
	Híbrido	16,2 ± 0,3	16,4 ± 0,9	14,3 ± 1,0	12,3 ± 0,6	15,9 ± 1,4	N.S.
C18:1n11	Cachara	2,6 ± 0,3 b	6,1 ± 0,8 a	4,5 ± 0,0 a	6,3 ± 0,3 a	5,6 ± 0,3 a	< 0,05
	Híbrido	2,3 ± 0,0 a	9,9 ± 0,3 c	4,7 ± 0,1 b	4,3 ± 2,1 b	1,9 ± 0,0 a	< 0,05
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>21,8 ± 0,7 b</b>	<b>33,6 ± 2,5 a</b>	<b>22,8 ± 0,0 b*</b>	<b>27,0 ± 0,8 b*</b>	<b>24,9 ± 2,2 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>19,8 ± 0,2 b</b>	<b>37,9 ± 2,7 a</b>	<b>24,6 ± 0,6 b**</b>	<b>24,3 ± 0,5 b**</b>	<b>22,9 ± 2,8 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
C18:2n6	Cachara	5,1 ± 0,4 a	4,7 ± 0,4 b*	3,6 ± 0,0 ab*	1,9 ± 1,0 b	3,5 ± 0,2 b	< 0,05
	Híbrido	5,4 ± 0,1	4,0 ± 0,2 **	3,1 ± 0,1 **	2,8 ± 0,1	2,5 ± 1,1	N.S.
C20:3n6	Cachara	4,7 ± 0,6 a	2,0 ± 0,3 b	3,7 ± 0,0 a	2,8 ± 0,1 abc	2,0 ± 0,1 c	< 0,05
	Híbrido	5,3 ± 0,1 a	1,7 ± 0,3 b	3,5 ± 0,1 c	2,3 ± 0,2 b	1,9 ± 0,1 b	< 0,05
C20:4n6	Cachara	8,2 ± 1,0	6,3 ± 0,0	10,1 ± 0,0	9,5 ± 0,5	7,2 ± 0,7	N.S.
	Híbrido	10,7 ± 0,2	6,2 ± 0,9	9,2 ± 0,4	9,3 ± 0,3	7,4 ± 0,8	N.S.
C20:5n3	Cachara	1,6 ± 0,3 a	5,0 ± 0,5 dc*	4,4 ± 0,0 dc	6,7 ± 0,3 d	4,2 ± 0,5 c	< 0,05
	Híbrido	2,1 ± 0,0 a	7,9 ± 0,2 b**	5,4 ± 0,1 ad	6,7 ± 0,1 d	5,5 ± 0,6 d	< 0,05
C22:5n6	Cachara	1,2 ± 0,4	0,5 ± 0,1	1,4 ± 0,0	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,2	N.S.
	Híbrido	1,2 ± 0,0 a	0,4 ± 0,1 b	1,2 ± 0,1 a	0,9 ± 0,1 a	0,8 ± 0,1 b	< 0,05
C22:5n3	Cachara	1,4 ± 0,2 ab*	0,8 ± 0,2 a	1,9 ± 0,0 b*	2,7 ± 0,2 b	2,0 ± 0,3 c	< 0,05
	Híbrido	2,4 ± 0,0 b**	0,6 ± 0,1 a	1,6 ± 0,1 b**	2,3 ± 0,1 b	2,5 ± 0,3 b	< 0,05
C22:6n3	Cachara	10,6 ± 2,1 a	6,0 ± 2,2 b	14,1 ± 0,0 ab	12,7 ± 0,5 ab*	8,5 ± 1,7 ab	< 0,05
	Híbrido	15,8 ± 0,4 a	4,8 ± 1,3 c	12,0 ± 0,0 a	10,0 ± 0,6 b**	8,3 ± 1,1 b	< 0,05
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>33,1 ± 5,1 ab</b>	<b>25,7 ± 3,9 a</b>	<b>39,4 ± 0,1 b</b>	<b>37,9 ± 2,3 b</b>	<b>28,6 ± 2,1 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>43,3 ± 0,4 b</b>	<b>25,9 ± 2,4 a</b>	<b>36,5 ± 1,2 b</b>	<b>34,6 ± 1,1 b</b>	<b>29,3 ± 3,3 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
PUFA n3	Cachara	13,7 ± 1,1 *	11,9 ± 1,7	20,5 ± 0,0	22,2 ± 0,5 *	14,9 ± 0,7 *	N.S.
	Híbrido	20,4 ± 0,4 ab **	13,4 ± 1,7 a	19,1 ± 1,0 ab	19,1 ± 0,8 ab **	16,5 ± 2,6 b**	< 0,05
PUFA n6	Cachara	19,4 ± 2,1	13,7 ± 2,0	18,8 ± 0,1	15,6 ± 3,0	13,7 ± 0,9	N.S.
	Híbrido	22,8 ± 0,2 ac	12,4 ± 0,9 b	17,3 ± 1,3 c	15,4 ± 0,4 c	12,7 ± 0,8 c	< 0,05
n3/n6	Cachara	0,7 ± 0,0 *	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,0 *	1,4 ± 0,2	1,0 ± 0,1 *	N.S.
	Híbrido	0,8 ± 0,0 **	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,0 **	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1 *	N.S.
Outros	Cachara	5,1	10,7	6,0	8,0	14,2	N.S.
	Híbrido	4,1	7,3	4,9	8,7	16,0	N.S.

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 14.** Ácidos graxos totais (%) da fração polar das larvas de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 dias após a fertilização (DAF).

Ac. Gr.	Grupo	7 DAF	8 DAF	9 DAF	10 DAF	15 DAF	20 DAF	25 DAF	Estatística
C16:0	Cachara	13,3 ± 1,5	12,4 ± 0,7	12,5 ± 0,8	11,8 ± 0,6	11,2 ± 2,3	11,0 ± 0,7	11,8 ± 0,2	
	Híbrido	12,1 ± 0,7	11,4 ± 0,7	12,1 ± 1,4	12,1 ± 1,3	9,0 ± 0,6	14,2 ± 3,5	10,3 ± 0,4	
C17:0	Cachara	2,0 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,1 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,0	
	Híbrido	1,8 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,1	
C18:0	Cachara	12,6 ± 0,9	14,3 ± 0,9	16,2 ± 1,2	17,2 ± 1,1	17,9 ± 2,1	17,9 ± 1,6	16,9 ± 1,1	
	Híbrido	16,2 ± 2,5	16,6 ± 0,4	16,7 ± 0,5	17,4 ± 1,0	17,1 ± 0,7	15,6 ± 2,2	16,5 ± 0,7	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>28,1 ± 0,9</b>	<b>28,3 ± 1,2</b>	<b>30,1 ± 0,2</b>	<b>30,4 ± 0,3</b>	<b>30,4 ± 1,1</b>	<b>29,9 ± 2,1</b>	<b>29,8 ± 1,0</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>30,2 ± 3,5</b>	<b>29,7 ± 1,2</b>	<b>30,3 ± 1,7</b>	<b>31,0 ± 1,8</b>	<b>27,0 ± 1,1</b>	<b>30,9 ± 2,8</b>	<b>27,8 ± 0,8</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	3,8 ± 0,3	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,4	1,7 ± 0,1	2,5 ± 1,2	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,5	N.S.
	Híbrido	2,6 ± 0,1	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,3	1,0 ± 0,3	1,9 ± 0,2	1,5 ± 0,1	N.S.
C17:1	Cachara	3,7 ± 0,5 a	2,0 ± 0,0 a	1,2 ± 0,0 b	1,0 ± 0,1 b	0,8 ± 0,2 b	0,6 ± 0,0 b	0,5 ± 0,0 b	< 0,05
	Híbrido	2,5 ± 0,5 a	1,3 ± 0,3 b	1,0 ± 0,2 b	1,0 ± 0,1 b	0,9 ± 0,3 b	0,6 ± 0,1 b	0,4 ± 0,0 b	< 0,05
C18:1n9	Cachara	14,6 ± 0,9	15,2 ± 0,8	14,5 ± 0,4	14,1 ± 0,4	13,8 ± 1,6	14,9 ± 0,4	13,5 ± 0,5	N.S.
	Híbrido	13,6 ± 0,6	14,9 ± 1,8	13,8 ± 0,5	14,7 ± 0,6	13,2 ± 0,7	15,9 ± 1,2	13,4 ± 0,5	N.S.
C18:1n11	Cachara	6,9 ± 0,4	6,6 ± 0,2	6,0 ± 0,1	5,8 ± 0,1	5,5 ± 0,3	5,8 ± 0,1	5,2 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	5,9 ± 0,9	5,6 ± 0,6	5,4 ± 0,7	5,4 ± 0,2	5,4 ± 0,3	4,4 ± 0,4	4,9 ± 0,3	N.S.
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>29,2 ± 0,9 a</b>	<b>26,0 ± 0,6 ab</b>	<b>24,0 ± 1,3 ab</b>	<b>22,8 ± 0,8 b</b>	<b>22,8 ± 2,7 b</b>	<b>23,5 ± 0,4 ab</b>	<b>21,5 ± 0,9 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>24,8 ± 1,6</b>	<b>23,8 ± 1,1</b>	<b>22,2 ± 1,1</b>	<b>23,2 ± 0,3</b>	<b>20,7 ± 1,1</b>	<b>23,0 ± 1,6</b>	<b>20,4 ± 0,4</b>	<b>NS</b>
C18:2n6	Cachara	3,7 ± 0,0	4,6 ± 0,2	4,2 ± 0,1	4,1 ± 0,0	4,2 ± 0,2	4,9 ± 0,2	5,3 ± 0,1	
	Híbrido	3,5 ± 0,2	4,1 ± 0,7	4,2 ± 0,1	4,4 ± 0,4	4,5 ± 0,4	5,9 ± 0,4	5,2 ± 0,4	
C18:3n3	Cachara	8,2 ± 1,0	13,1 ± 1,4	10,3 ± 0,5	10,3 ± 0,1	10,8 ± 0,3	9,7 ± 0,1	8,8 ± 0,5	
	Híbrido	6,1 ± 2,0	7,3 ± 1,3	8,5 ± 2,4	9,0 ± 1,3	10,6 ± 1,0	7,9 ± 1,5	8,4 ± 1,0	
C20:3n6	Cachara	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	
	Híbrido	2,3 ± 0,8	2,1 ± 0,6	1,5 ± 0,4	1,2 ± 0,0	1,7 ± 0,4	1,8 ± 0,5	2,2 ± 0,6	
C20:4n6	Cachara	6,1 ± 0,4	4,9 ± 0,5	4,9 ± 0,3	4,9 ± 0,1	4,0 ± 0,7	4,5 ± 0,0	5,0 ± 0,3	
	Híbrido	6,6 ± 0,4	7,0 ± 0,0	6,1 ± 1,0	5,1 ± 0,4	4,4 ± 0,2	4,7 ± 1,1	5,8 ± 0,1	
C20:3n3	Cachara	0,6 ± 0,0	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,1	
	Híbrido	0,5 ± 0,0	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,1	
C20:4n3	Cachara	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,0	2,3 ± 0,1	2,5 ± 0,0	2,7 ± 0,2	3,0 ± 0,2	2,6 ± 0,2	
	Híbrido	1,2 ± 0,2	1,4 ± 0,4	1,9 ± 0,3	2,1 ± 0,2	2,9 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,9 ± 0,1	
C20:5n3	Cachara	5,9 ± 0,5	4,9 ± 0,6	5,0 ± 0,2	5,0 ± 0,1	5,2 ± 0,6	5,8 ± 0,2	6,2 ± 0,2	
	Híbrido	5,5 ± 0,9	5,2 ± 1,1	4,8 ± 0,2	5,2 ± 0,3	6,6 ± 0,4	5,1 ± 0,7	7,0 ± 0,4	
C22:5n3	Cachara	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,2	2,9 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,1 ± 0,5	3,5 ± 0,2	4,1 ± 0,3	
	Híbrido	3,3 ± 0,3	3,2 ± 0,5	3,0 ± 0,2	3,1 ± 0,2	4,2 ± 0,4	3,9 ± 1,1	4,9 ± 0,3	
C22:6n3	Cachara	6,6 ± 0,7	5,8 ± 0,6	8,0 ± 0,0	9,5 ± 0,2	8,8 ± 1,3	8,4 ± 0,5	8,6 ± 0,3	
	Híbrido	8,2 ± 0,0	8,7 ± 1,1	8,7 ± 1,2	8,7 ± 0,5	10,2 ± 1,0	6,8 ± 1,3	8,7 ± 0,3	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>36,7 ± 1,1</b>	<b>40,2 ± 0,9</b>	<b>40,4 ± 0,2</b>	<b>42,3 ± 0,6</b>	<b>41,7 ± 3,5</b>	<b>43,0 ± 1,8</b>	<b>43,5 ± 0,6*</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>37,6 ± 1,9</b>	<b>40,4 ± 2,1</b>	<b>40,0 ± 1,8</b>	<b>40,2 ± 1,9</b>	<b>47,0 ± 1,6</b>	<b>40,0 ± 3,9</b>	<b>46,6 ± 0,4**</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	25,4 ± 0,7	29,2 ± 1,2	29,9 ± 0,0	31,8 ± 0,2	32,1 ± 0,9	31,9 ± 1,0	31,5 ± 0,3	
	Híbrido	25,1 ± 3,3	26,9 ± 4,3	28,0 ± 1,9	29,3 ± 1,9	36,3 ± 1,0	27,4 ± 1,7	33,2 ± 0,8	
PUFA n6	Cachara	11,3 ± 0,5	10,9 ± 0,7	10,4 ± 0,5	10,5 ± 0,2	9,5 ± 0,8	11,0 ± 1,4	11,8 ± 0,5	
	Híbrido	12,5 ± 1,6	13,4 ± 1,5	11,9 ± 2,7	10,8 ± 0,7	10,7 ± 1,1	12,5 ± 1,7	13,3 ± 0,8	
n3/n6	Cachara	2,2 ± 0,1	2,6 ± 0,2	2,8 ± 0,0	3,0 ± 0,0	3,3 ± 0,2	2,8 ± 0,6	2,6 ± 0,1	
	Híbrido	2,0 ± 2,0	2,0 ± 0,6	2,3 ± 0,7	2,7 ± 0,3	3,3 ± 0,5	2,1 ± 0,7	2,4 ± 0,3	
Outros	Cachara	6,5	6,3	5,7	5,5	5,4	5,5	5,6	
	Híbrido	7,4	6,0	7,5	5,6	5,2	6,0	5,1	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.



**Tabela 15.** Ácidos graxos totais (%) da fração polar do fígado de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

Ac. Gr.	Grupo	32 DAF	39 DAF	45 DAF	Estatística
C16:0	Cachara	14,8 ± 1,6	12,6 ± 1,2	12,0 ± 0,4	N.S.
	Híbrido	13,2 ± 1,9	12,7 ± 1,4	11,5 ± 1,9	N.S.
C18:0	Cachara	19,7 ± 0,9	22,6 ± 0,9	19,9 ± 0,8	N.S.
	Híbrido	20,7 ± 0,1	20,5 ± 0,8	20,3 ± 2,3	N.S.
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>34,6 ± 1,1</b>	<b>35,3 ± 0,7</b>	<b>32,0 ± 0,9</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>34,0 ± 2,0</b>	<b>33,4 ± 2,3</b>	<b>31,9 ± 2,0</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	1,9 ± 0,6	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	1,9 ± 0,4	1,5 ± 0,2	0,9 ± 0,1	N.S.
C18:1n9	Cachara	15,9 ± 0,8	12,1 ± 0,6	12,1 ± 0,8	N.S.
	Híbrido	14,3 ± 0,7	13,6 ± 0,5	9,1 ± 4,0	N.S.
C18:1n11	Cachara	2,3 ± 0,4	2,5 ± 0,1	2,1 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,2	5,6 ± 3,7	N.S.
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>20,2 ± 0,7 a</b>	<b>15,8 ± 0,8 b</b>	<b>15,3 ± 0,7 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>18,5 ± 1,3</b>	<b>17,4 ± 0,5</b>	<b>15,8 ± 1,4</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	5,7 ± 1,0	4,4 ± 0,4	5,5 ± 0,6	N.S.
	Híbrido	6,5 ± 0,1	4,9 ± 0,8	6,0 ± 0,3	N.S.
C20:2n6	Cachara	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,7 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	1,1 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,0 ± 0,3	N.S.
C20:4n6	Cachara	11,9 ± 0,7	14,2 ± 0,6	14,7 ± 0,5	N.S.
	Híbrido	13,5 ± 0,9	14,2 ± 0,7	14,5 ± 1,5	N.S.
C20:3n6	Cachara	2,9 ± 0,5	2,9 ± 0,2	3,0 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	3,0 ± 0,2	2,7 ± 0,2	4,1 ± 0,2	N.S.
C20:5n3	Cachara	2,2 ± 0,2	1,8 ± 0,0	1,9 ± 0,2	N.S.
	Híbrido	2,9 ± 0,1	1,9 ± 0,4	2,8 ± 0,1	N.S.
C22:4n6	Cachara	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,2	2,4 ± 0,5	N.S.
	Híbrido	1,1 ± 0,3	1,7 ± 0,5	1,3 ± 0,3	N.S.
C22:5n3	Cachara	2,6 ± 0,5	2,2 ± 0,1	3,4 ± 0,1	N.S.
	Híbrido	2,6 ± 0,4	2,9 ± 0,2	1,4 ± 0,0	N.S.
C22:6n3	Cachara	10,1 ± 1,9	14,7 ± 1,0	12,9 ± 0,8	N.S.
	Híbrido	9,0 ± 1,2	8,5 ± 1,7	13,3 ± 2,2	N.S.
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>38,0 ± 1,8 a</b>	<b>42,7 ± 1,4 ab</b>	<b>45,9 ± 1,3 b</b>	<b>&lt; 0,05</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>40,1 ± 3,3</b>	<b>38,7 ± 2,7</b>	<b>44,9 ± 2,4</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	15,0 ± 0,8	18,8 ± 0,2	18,3 ± 0,2	
	Híbrido	14,6 ± 1,5	13,4 ± 1,8	17,6 ± 1,6	
PUFA n6	Cachara	22,9 ± 0,9	23,8 ± 0,9	27,5 ± 1,0	
	Híbrido	25,5 ± 1,7	25,2 ± 1,3	27,2 ± 2,0	
n3/n6	Cachara	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,6 ± 0,0	
	Híbrido	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,1	
Outros	Cachara	7,9	6,4	7,4	
	Híbrido	7,4	10,6	7,2	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 16.** Ácidos graxos totais (%) da fração polar do encéfalo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

Ac. Gr.	Grupo	32 DAF	39 DAF	45 DAF	Estatística
C16:0	Cachara	14,4 ± 1,2	16,1 ± 1,9	9,8 ± 5,4	
	Híbrido	13,5 ± 1,4	11,8 ± 1,8	13,1 ± 1,0	
C18:0	Cachara	22,9 ± 2,2	23,8 ± 3,6	22,1 ± 1,8	
	Híbrido	23,6 ± 1,4	22,4 ± 0,2	23,3 ± 0,6	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>37,4 ± 3,2</b>	<b>40,0 ± 2,8</b>	<b>31,9 ± 4,3</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>37,2 ± 0,9</b>	<b>34,3 ± 1,9</b>	<b>36,5 ± 1,1</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	1,1 ± 0,1	0,9 ± 0,2	0,7 ± 0,2	
	Híbrido	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,0	0,8 ± 0,4	
C18:1n9	Cachara	17,7 ± 0,5	19,7 ± 2,8	17,6 ± 1,7	
	Híbrido	17,0 ± 1,9	16,1 ± 1,8	15,8 ± 2,1	
C18:1n11	Cachara	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	
	Híbrido	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,0	1,5 ± 0,3	
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>20,5 ± 0,9</b>	<b>22,1 ± 2,7</b>	<b>19,6 ± 1,5</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>18,8 ± 2,3</b>	<b>18,0 ± 0,8</b>	<b>18,3 ± 0,3</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	1,5 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,3 ± 0,2	
	Híbrido	1,2 ± 0,1	0,6 ± 0,2	1,9 ± 0,8	
C20:4n6	Cachara	7,1 ± 0,4	5,5 ± 0,5	6,7 ± 0,6	
	Híbrido	6,9 ± 0,5	6,9 ± 0,3	7,4 ± 0,8	
C20:3n6	Cachara	2,0 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1	
	Híbrido	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,0	1,6 ± 0,1	
C22:5n3	Cachara	2,7 ± 0,6	1,6 ± 0,2	2,4 ± 0,4	
	Híbrido	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,0	2,3 ± 0,3	
C22:5n6	Cachara	2,0 ± 0,4	1,7 ± 0,2	2,3 ± 0,2	
	Híbrido	2,2 ± 0,2	2,4 ± 0,3	2,0 ± 0,0	
C22:6n3	Cachara	19,9 ± 2,7	20,1 ± 2,8	27,5 ± 2,8	
	Híbrido	22,9 ± 1,0	26,5 ± 2,6	21,3 ± 1,6	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>35,4 ± 4,1</b>	<b>31,3 ± 3,4</b>	<b>42,1 ± 4,3</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>37,4 ± 2,3</b>	<b>40,1 ± 2,7</b>	<b>36,7 ± 1,1</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	22,7 ± 1,2	21,8 ± 0,3	29,9 ± 0,8	
	Híbrido	25,2 ± 1,4	28,6 ± 2,1	23,7 ± 1,4	
PUFA n6	Cachara	12,7 ± 1,2	9,5 ± 0,6	12,2 ± 1,1	
	Híbrido	12,1 ± 1,1	11,5 ± 0,6	12,9 ± 1,2	
n3/n6	Cachara	1,7 ± 0,0	2,2 ± 0,0	2,4 ± 0,0	
	Híbrido	2,0 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,8 ± 0,3	
Outros	Cachara	6,8	6,7	6,9	
	Híbrido	6,5	7,4	8,4	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 17.** Ácidos graxos totais (%) da fração polar do músculo de alevinos de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) com 32, 39 e 45 dias após a fertilização (DAF).

Ac. Gr.	Grupo	32 DAF	39 DAF	45 DAF	Estatística
C16:0	Cachara	15,8 ± 0,7	12,8 ± 0,3	13,4 ± 0,9	
	Híbrido	14,7 ± 0,3	15,8 ± 0,8	13,7 ± 0,8	
C17:0	Cachara	1,0 ± 0,3	1,1 ± 0,3	1,1 ± 0,3	
	Híbrido	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	
C18:0	Cachara	16,6 ± 0,1	18,8 ± 0,5	17,0 ± 1,1	
	Híbrido	19,8 ± 0,1	19,5 ± 0,3	19,1 ± 0,7	
<b>Σ SAT</b>	<b>Cachara</b>	<b>33,6 ± 1,4</b>	<b>32,8 ± 1,8</b>	<b>31,6 ± 1,5</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>35,5 ± 1,3</b>	<b>36,4 ± 0,8</b>	<b>33,8 ± 0,4</b>	<b>N.S.</b>
C16:1	Cachara	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,5	1,7 ± 0,5	
	Híbrido	1,3 ± 0,0	1,6 ± 0,2	1,1 ± 0,0	
C18:1n9	Cachara	15,5 ± 0,4	12,1 ± 1,1	11,5 ± 0,8	
	Híbrido	13,3 ± 0,5	13,0 ± 0,2	12,3 ± 0,1	
C18:1n11	Cachara	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,2	2,3 ± 0,4	
	Híbrido	3,1 ± 0,0	2,9 ± 0,1	3,1 ± 0,1	
<b>Σ MONO</b>	<b>Cachara</b>	<b>20,2 ± 0,4*</b>	<b>16,7 ± 1,6</b>	<b>15,6 ± 0,9</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>17,7 ± 0,7<sup>ab</sup></b>	<b>17,7 ± 0,0</b>	<b>16,6 ± 0,1</b>	<b>N.S.</b>
C18:2n6	Cachara	5,7 ± 1,2	4,6 ± 0,5	4,8 ± 0,8	
	Híbrido	4,7 ± 0,1	6,5 ± 0,2	5,9 ± 0,9	
C20:4n6	Cachara	11,0 ± 0,4	11,3 ± 2,0	13,0 ± 0,8	
	Híbrido	12,0 ± 0,2	7,4 ± 0,5	11,5 ± 0,2	
C20:3n6	Cachara	2,3 ± 0,3	3,2 ± 0,7	2,2 ± 0,2	
	Híbrido	1,7 ± 0,4	1,3 ± 0,0	2,3 ± 0,0	
C20:5n3	Cachara	2,3 ± 0,1	1,6 ± 0,4	1,9 ± 0,4	
	Híbrido	1,8 ± 0,0	2,6 ± 0,5	2,0 ± 0,4	
C22:4n6	Cachara	1,4 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,3 ± 0,5	
	Híbrido	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,7 ± 0,2	
C22:5n3	Cachara	4,3 ± 0,5	5,0 ± 0,2	5,3 ± 0,9	
	Híbrido	4,2 ± 0,2	4,3 ± 0,4	4,4 ± 0,2	
C22:5n6	Cachara	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,3	1,4 ± 0,4	
	Híbrido	1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,1	2,0 ± 0,3	
C22:6n3	Cachara	10,6 ± 0,3	11,9 ± 2,5	10,6 ± 2,6	
	Híbrido	13,0 ± 0,0	12,1 ± 0,9	14,5 ± 0,6	
<b>Σ PUFA</b>	<b>Cachara</b>	<b>39,6 ± 1,1</b>	<b>41,3 ± 3,3</b>	<b>40,8 ± 2,3</b>	<b>N.S.</b>
	<b>Híbrido</b>	<b>41,1 ± 1,9</b>	<b>37,3 ± 0,8</b>	<b>44,6 ± 0,5</b>	<b>N.S.</b>
PUFA n3	Cachara	17,3 ± 0,1	18,6 ± 1,4	17,8 ± 1,1	
	Híbrido	19,2 ± 1,0	19,2 ± 1,6	21,0 ± 0,2	
PUFA n6	Cachara	22,3 ± 0,5	22,7 ± 0,7	22,9 ± 4,1	
	Híbrido	21,9 ± 0,9	18,0 ± 1,0	23,5 ± 0,7	
n3/n6	Cachara	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,0	
	Híbrido	0,8 ± 0,0	1,0 ± 0,2	0,8 ± 0,0	
Outros	Cachara	8,5	12,9	23,2	
	Híbrido	5,5	8,4	4,9	

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento

DAF: Dias após a fertilização SAT: Saturado; Mono: Monoinsaturado; PUFA: Polinsaturado; NS: Diferença não significativa.

**Tabela 18.** Atividade de protease inespecífica em pH 2,0 (U/miligramas de proteína) de ovos (Fase I), larvas (Fase II, III, IV) e estômago e intestino de alevinos (Fase V) de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) (Média ± EP).

Etapas de coleta	Fases do desenvolvimento	Grupo Cachara	Grupo Híbrido
Fase I	0 HAF	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	8 HAF	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	16 HAF	0,00 ± 0,00	0,09 ± 0,07
Fase II	24 HAF	0,10 ± 0,02	0,03 ± 0,02
	32 HAF	0,01 ± 0,01	0,10 ± 0,04
	40 HAF	0,13 ± 0,06	0,09 ± 0,01
Fase III	2 DAF	0,05 ± 0,03	0,16 ± 0,04
	3 DAF	0,14 ± 0,04	0,00 ± 0,00
	4 DAF	0,01 ± 0,01	0,04 ± 0,03
	5 DAF	0,09 ± 0,04	0,05 ± 0,05
	6 DAF	0,07 ± 0,03	0,10 ± 0,09
Fase IV	7 DAF	0,00 ± 0,00a	0,06 ± 0,05a
	8 DAF	0,00 ± 0,00a	0,39 ± 0,21
	9 DAF	0,06 ± 0,04	0,08 ± 0,05
	10 DAF	0,00 ± 0,00a*	0,07 ± 0,03b**
	15 DAF	0,44 ± 0,09a	0,59 ± 0,10
	20 DAF	1,46 ± 0,14b	1,72 ± 0,19b
Fase V	25 DAF	1,61 ± 0,09b	1,68 ± 0,20b
	ET 32 DAF	72,75 ± 5,42	64,76 ± 10,75
	ET 39 DAF	54,66 ± 4,27	45,70 ± 2,78
	ET 45 DAF	66,39 ± 1,59*	46,82 ± 3,05**
	IN 32 DAF	0,00 ± 0,00	0,16 ± 0,14
	IN 39 DAF	0,13 ± 0,12	0,77 ± 0,08
	IN 45 DAF	0,12 ± 0,10	0,53 ± 0,03

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento.

HAF: Horas após a fertilização ; DAF: Dias após a fertilização; ET: Estômago; IN: Intestino.

**Tabela 19.** Atividade de protease inespecífica em pH 8,0 (U/miligramas de proteína) de ovos (Fase I), larvas (Fase II, III, IV) e estômago e intestino de alevinos (Fase V) de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) (Média ± EP).

Etapas de coleta	Fases do desenvolvimento	Grupo Cachara	Grupo Híbrido
Fase I	0 HAF	1,21 ± 0,07	0,94 ± 0,26
	8 HAF	0,69 ± 0,08	1,15 ± 0,08
	16 HAF	1,15 ± 0,07	1,89 ± 0,10
Fase II	24 HAF	1,54 ± 0,05	1,60 ± 0,20
	32 HAF	1,42 ± 0,26	2,11 ± 0,18
	40 HAF	2,12 ± 0,20	2,20 ± 0,14
Fase III	2 DAF	2,62 ± 0,30a	3,33 ± 0,44a
	3 DAF	11,81 ± 3,45b	10,66 ± 2,05ab
	4 DAF	9,58 ± 0,20ab	17,39 ± 1,60b
	5 DAF	9,81 ± 0,61ab*	16,62 ± 2,86b**
	6 DAF	20,23 ± 5,83b	15,57 ± 2,05b
Fase IV	7 DAF	9,86 ± 1,37b	12,04 ± 2,04
	8 DAF	9,28 ± 1,43b	12,54 ± 1,35
	9 DAF	9,61 ± 1,24b	13,15 ± 0,90
	10 DAF	9,47 ± 1,57ab	12,39 ± 1,80
	15 DAF	5,01 ± 0,18ab*	11,80 ± 1,31**
	20 DAF	4,88 ± 0,81ab*	10,50 ± 0,41**
	25 DAF	3,51 ± 0,38a*	7,29 ± 0,51**
Fase V	ET 32 DAF	11,89 ± 7,86*	5,85 ± 1,02**
	ET 39 DAF	8,22 ± 4,69*	3,39 ± 0,89**
	ET 45 DAF	8,31 ± 4,33*	3,68 ± 0,77**
	IN 32 DAF	47,65 ± 5,17	41,21 ± 4,55
	IN 39 DAF	32,99 ± 11,16	18,55 ± 6,58
	IN 45 DAF	45,78 ± 10,17	17,26 ± 7,19

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento.

HAF: Horas após a fertilização ; DAF: Dias após a fertilização; ET: Estômago; IN: Intestino.

**Tabela 20.** Atividade de tripsina (U/miligramas de proteína) de ovos (Fase I), larvas (Fase II, III, IV) e estômago e intestino de alevinos (Fase V) de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) (Média ± EP).

Etapas de coleta	Fases do Desenvolvimento	Grupo Cachara	Grupo Híbrido
Fase I	0 HAF	0,46 ± 0,11a*	2,20 ± 0,41**
	8 HAF	0,39 ± 0,09a*	1,65 ± 0,40**
	16 HAF	2,39 ± 0,34b	2,41 ± 0,42
Fase II	24 HAF	0,83 ± 0,19	0,73 ± 0,16
	32 HAF	0,76 ± 0,06*	1,01 ± 0,06**
	40 HAF	0,60 ± 0,08	0,65 ± 0,11
Fase III	2 DAF	0,91 ± 0,29a	0,77 ± 0,05b
	3 DAF	2,23 ± 0,36b	3,64 ± 0,49a
	4 DAF	1,23 ± 0,10ab	1,13 ± 0,02b
	5 DAF	0,94 ± 0,18a*	1,58 ± 0,17b**
	6 DAF	2,17 ± 0,32b*	1,23 ± 0,19b**
Fase IV	7 DAF	1,29 ± 0,14*	0,90 ± 0,30**
	8 DAF	1,36 ± 0,37	1,32 ± 0,24
	9 DAF	0,70 ± 0,25*	1,79 ± 0,27**
	10 DAF	1,23 ± 0,34	1,39 ± 0,30
	15 DAF	1,24 ± 0,07	1,13 ± 0,24
	20 DAF	1,42 ± 0,10	1,44 ± 0,40
Fase V	25 DAF	1,13 ± 0,24	1,68 ± 0,40
	ET 32 DAF	1,29 ± 0,12	1,46 ± 0,24
	ET 39 DAF	1,21 ± 0,21	1,29 ± 0,19
	ET 45 DAF	1,90 ± 0,30	1,37 ± 0,25
	IN 32 DAF	1,33 ± 0,13	1,32 ± 0,24
	IN 39 DAF	0,85 ± 0,20	1,22 ± 0,26
	IN 45 DAF	0,91 ± 0,05	0,82 ± 0,12

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento.

HAF: Horas após a fertilização; DAF: Dias após a fertilização; ET: Estômago; IN: Intestino.

**Tabela 21.** Atividade de quimiotripsina (U/miligramas de proteína) de ovos (Fase I), larvas (Fase II, III, IV) e estômago e intestino de alevinos (Fase V) de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e do híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma reticulatum*) (Média ± EP).

Etapas de coleta	Fases do desenvolvimento	Grupo Cachara	Grupo Híbrido
Fase I	0 HAF	0,64 ± 0,08	0,86 ± 0,07
	8 HAF	0,67 ± 0,06	1,12 ± 0,27
	16 HAF	1,31 ± 0,34	1,25 ± 0,24
Fase II	24 HAF	0,60 ± 0,05	0,47 ± 0,08
	32 HAF	0,52 ± 0,09	0,80 ± 0,24
	40 HAF	0,47 ± 0,05	0,56 ± 0,09
Fase III	2 DAF	0,87 ± 0,28	0,72 ± 0,13a
	3 DAF	1,27 ± 0,21	1,60 ± 0,22b
	4 DAF	0,86 ± 0,27	0,98 ± 0,18ae
	5 DAF	0,75 ± 0,20	0,49 ± 0,07d
	6 DAF	1,66 ± 0,43	0,70 ± 0,17e
Fase IV	7 DAF	1,19 ± 0,19*	0,62 ± 0,09**
	8 DAF	0,95 ± 0,17	0,74 ± 0,17
	9 DAF	0,45 ± 0,09	0,78 ± 0,17
	10 DAF	0,61 ± 0,14	0,64 ± 0,14
	15 DAF	0,63 ± 0,09	0,82 ± 0,16
	20 DAF	0,69 ± 0,12	0,54 ± 0,08
	25 DAF	1,01 ± 0,23	0,80 ± 0,06
Fase V	ET 32 DAF	1,03 ± 0,21*	0,37 ± 0,09**
	ET 39 DAF	0,99 ± 0,22*	0,39 ± 0,05**
	ET 45 DAF	1,12 ± 0,18*	0,20 ± 0,02**
	IN 32 DAF	0,59 ± 0,03ab	0,47 ± 0,04
	IN 39 DAF	0,47 ± 0,04a	0,55 ± 0,09
	IN 45 DAF	0,72 ± 0,08b	0,53 ± 0,06

<sup>ab</sup> Letras diferentes significa valores estatisticamente diferentes dentro do mesmo grupo ao longo das fases do desenvolvimento.

\* Símbolos diferentes significam valores estatisticamente diferentes entre os grupos dentro da mesma fase de desenvolvimento.

HAF: Horas após a fertilização; DAF: Dias após a fertilização; ET: Estômago; IN: Intestino.