



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CÂMPUS DE PORTO NACIONAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS LICENCIATURA

JONAS PEREIRA ALVES

**LEVANTAMENTO RADIOLÓGICO DAS DEFORMIDADES
VERTEBRAIS DE TAMBAQUI *COLOSSOMA MACROPOMUM*
(CUVIER, 1818) (CHARACIFORMES, SERRASALMIDAE) DE
CULTIVO**

Porto Nacional/TO
2021

JONAS PEREIRA ALVES

**LEVANTAMENTO RADIOLÓGICO DAS DEFORMIDADES
VERTEBRAIS DE TAMBAQUI *COLOSSOMA MACROPOMUM*
(CUVIER, 1818) (CHARACIFORMES, SERRASALMIDAE) DE
CULTIVO**

Monografia foi avaliada e apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Porto Nacional, Curso de Ciências Biológicas para obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador: Dr. Lucas Simon Torati

Porto Nacional/TO
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

J761 Alves, Jonas Pereira Alves.

Levantamento radiológico das deformidades vertebrais em tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes, Serrasalminidae) de cultivo. / Jonas Pereira Alves Alves. – Porto Nacional, TO, 2021.

40 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Porto Nacional - Curso de Ciências Biológicas, 2021.

Orientador: Lucas Simon Torati

1. Deformidades. 2. Piscicultura. 3. Tambaqui. 4. Raio-X. I. Título

CDD 570

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FOLHA DE APROVAÇÃO

JONAS PEREIRA ALVES

LEVANTAMENTO RADIOLÓGICO DAS DEFORMIDADES VERTEBRAIS DE TAMBAQUI *COLOSSOMA MACROPOMUM* (CUVIER, 1818) (CHARACIFORMES, SERRASALMIDAE) DE CULTIVO

Monografia foi avaliada e apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Porto Nacional, Curso de Ciências Biológicas para obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 23/07/2021

Banca Examinadora

Dr. Lucas Simon Torati, Embrapa

Prof. Dr. Carine Cavalcante Chamon, UFT

Dr. Luciana Nakaghi Ganeco Kirschnik, Embrapa

Porto Nacional, 2021

Dedico essa monografia a você mãe...

*Pelo exemplo de pessoa que você é!
Corajosa, esforçada, dedicada, nunca desiste
dos seus objetivos. Agradeço muito por ser seu
filho e apesar das lutas e dificuldades, hoje
estou aqui terminando mais um ciclo da minha
vida, de muitos que virão.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar saúde física e mental para superar todos os obstáculos no decorrer dessa graduação.

Aos meus pais, Olizan Pereira de Sousa e Joselho Alves de Sousa por todo apoio e incentivo durante minha jornada na graduação.

Aos meus familiares, em especial as minhas tias: Cirleia Pereira de Sousa, Livia Pereira de Sousa e Olivan Pereira de Sousa, por me acolher em suas casas. As minhas primas, Raylla, Kenya, Bia, Tayres, Talita, Ana Flavia, Larissa, Luana É muita gente! kkkk. Aos demais familiares que não citei, sintam-se agradecidos!

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador Lucas Simon Torati, por todo incentivo, por acreditar no meu potencial, pela sua dedicação do seu escasso tempo ao meu projeto de pesquisa. Saliento o apoio incondicional prestado, a forma interessada, extraordinária e pertinente como acompanhou a realização deste trabalho. As suas críticas construtivas, as discussões e reflexões foram fundamentais ao longo de todo o percurso. Gratidão por todos os momentos na Embrapa, pelas viagens a campo e principalmente por aturar minha procrastinação, rrsrrsrrsrrsrrs.

Agradeço a todas as caronas, foram 4 anos de muita luta, debaixo de chuva e sol, pedindo carona para chegar até a universidade.

A Universidade Federal do Tocantins em especial o campus de Porto Nacional pelo acolhimento. A todos os professores do curso de ciências biológicas da qualidade técnica de cada um, em especial aos professores (as), Dra. Kellen Lagares, Dra. Carine Chamon, Dra. Carla Seibert, Ma. Jemima Queiroz, Dra. Etiene Fabbrin, Dra. Solange Lolis e Dra. Elineide Marques, Dr. Mac David, Dr. Tiago Krolow, Dr. Thiago Nilton e Dr. Fabyano Lopes. Agradeço a todos vocês, por todo apoio, incentivo, amizade, pelas aulas e principalmente por acreditar e no meu potencial.

Agradeço a coordenação do curso de ciências biológicas, exclusivamente a Edileusa Pereira Martins, gratidão Edileuzinha por tamanha gentileza e carinho por todos os estudantes do curso de biologia. Você é uma mãe, o braço direito do curso de ciências biológicas executando seu trabalho com excelência.

A minha turma 2016/2, Italo, Livia, Debora, Leydmara, Rodrigo, Raissa, Aninha, Luana, Kamila, Kássia e Luana Rodrigues, obrigado por todos os momentos vividos, amo vocês. Em especial a minha amiga Sabrina Milhomem Leal, pelos conselhos, companheirismo, por estar comigo nas horas tristes e alegres e por todo apoio que tens me dado no decorrer do curso, gratidão!

A todos os meus amigos e colegas de outros períodos, Sheiline Oliveira, Débora Pereira, Juliana Pereira, Rizia Araújo, Luane Gomes, Caroline Galhardo, Victorina Aires, Leny Cristina Daniele Santos, Milena Falcão, Wabda Silva, Janys Cavalcante e Dianna. Muito obrigado por me aturarem.

Agradeço a Embrapa Pesca e Aquicultura, pela oportunidade de bolsa de iniciação científica. Agradeço pela experiência maravilhosa, pela equipe do “Regem” Dra. Luciana Villela, Dra. Luciana Shitsuki, Dr. Eduardo Varela obrigado a todos em especialmente a Dra. Luciana Nakaghi Ganeco Kirschnik, pessoa acolhedora de um coração enorme.

Agradeço as amizades que conquistei na Embrapa, Naislan, Aurisan, Julia Lopes, Anne, Flávia, Mariana Soares, Thais Demiciano, Thais Gonçalves, Pollyana, Silvério, Fernanda Nunes, Gabriel, Cristina, Jhon, Eder, Sebastiana e Geysa.

À Universidade Católica do Tocantins (UniCatólica), em especial ao Dr. Peter Gaberz Kirschnik e ao técnico Ronivaldo Bento de Souza pela disponibilização do laboratório, equipamento de raio-X e análises realizadas, sem as quais esse trabalho não seria possível.

Ao CNPq, pelas bolsas de Iniciação Científica.

RESUMO

Deformidades esqueléticas são malformações encontradas em peixes que podem afetar o bem-estar animal e impactar negativamente o desempenho zootécnico e o comportamento reprodutivo. Na aquicultura, a incidência de deformidades esqueléticas pode causar prejuízos e desperdícios. No Brasil, o tambaqui *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) é a segunda espécie de peixe mais cultivada na aquicultura continental. Visto que, a incidência de deformidades ainda não foi reportada para tambaqui, e que isso é relevante para caracterização fenotípica em programas de melhoramento da espécie, o objetivo deste trabalho foi descrever a ocorrência dos diferentes tipos de deformidades esqueléticas encontradas em famílias de tambaqui produzidas em cativeiro. Para isso, seis famílias de tambaqui foram produzidas por propagação artificial. Após 90 dias pós-eclosão DPE (peso corporal ~ 50g), foi inserido com um chip intramuscular (*Passive Integrated Transponder* - PIT) em todos os peixes, e os indivíduos foram selecionados com base no tamanho e Comprimento Total (TL) e transferidos para tanques escavados para compor um programa de melhoramento genético. Nesta fase, os peixes que apresentavam qualquer anormalidade externa foram selecionados (n = 660 no total) para o presente estudo, quando foram sacrificados com uma dose letal de Benzocaína (220 mg.L⁻¹), fixado em etanol 100% para posteriores análises de raio-X. As imagens de raio-X em formato Dicom foram tratadas, e uma escala de 20 mm foi adicionada em cada uma delas utilizando o programa ImageJ (v1.51j8). Em seguida, um arquivo em formato (tps) foi gerado (tpsUtil64 v1.76), e landmarks foram “digitalizados” sobre o centro de cada vertebra (tpsDig v2.31). Utilizando as variáveis de família e deformidade, uma análise de componentes principais (ACP) foi feita a partir do programa MorphoJ (v1.06d) a fim de verificar a presença de *outliers* (erros de “digitalização”). Todas as imagens de raio-X foram cuidadosamente examinadas com o objetivo de caracterizar os diferentes tipos de deformidades vertebrais nos espécimes. Como resultados, este estudo identificou 13 tipos de deformidade vertebral, sendo elas: 1) diminuição dos espaços intervertebrais; 2) compressão homogenia; 3) compressão sem “estrutura-X”; 4) compressão unilateral; 5) fusão e compressão; 6) alongamento vertebral; 7) bicôncava superior de centro descalcificado; 8) fusão completa; 9) bicôncava pronunciada; 10) hiper-radiodense; 11) cifose; 12) estrutura interna irregular; 13) deslocamento dorsal ou ventral; e 14) malformação múltipla severa. Essas deformidades foram ilustradas e descritas. Diversos fatores podem influenciar no surgimento de tais deformidades são conhecidos (*i.e.* temperatura de incubação, má nutrição, manejo, triploidização e fatores genéticos). A expectativa é que este estudo promova o avanço no conhecimento existente sobre os tipos de deformidade em tambaqui e possa servir de base para auxiliar futuros trabalhos que investiguem suas causas.

Palavras-chave: Deformidade. Piscicultura. Tambaqui. Raio-X. Morfometria.

ABSTRACT

Skeletal deformities are malformations found in fish that can affect animal welfare and negatively impact zootechnical performance and reproductive behavior. In aquaculture, the incidence of skeletal deformities can cause damage and waste. In Brazil, the tambaqui *Colossoma macropomum* (Teleostei: Serrasalminidae) is the second most cultivated fish species in continental aquaculture. Since the incidence of deformities has not yet been reported for tambaqui, and that this is relevant for phenotypic characterization in species improvement programs, the objective of this work was to describe the occurrence of different types of skeletal deformities found in tambaqui families produced in captivity. After 90 days post-hatch DPE (body weight ~ 50g) was inserted with an intramuscular chip (*Passive Integrated Transponder* - PIT) in all fish, and individuals were selected based on size and Total Length (TL) and transferred to excavated tanks to compose a breeding program. At this stage, fish that had any external abnormality were selected (n = 660 in total) for the present study, when they were sacrificed with a lethal dose of Benzocaine (220 mg.L⁻¹), fixed in 100% ethanol for further analysis X-ray. The X-ray images in Dicom format were treated, and a 20 mm scale was added to each one using the ImageJ program (v1.51j8). Then, a file in format (tps) was generated (tpsUtil64 v1.76), and landmarks were “digitized” over the center of each vertebra (tpsDig v2.31). Using the family and deformity variables, a principal component analysis (PCA) was performed using the MorphoJ program (v1.06d) in order to verify the presence of outliers (digitizing errors). All X-ray images were carefully examined in order to characterize the different types of vertebral deformities in the species. As a result, this study identified 13 types of vertebral deformity, namely: 1) reduction of intervertebral spaces; 2) homogeneous compression; 3) compression without “X-structure”; 4) unilateral compression; 5) fusion and compression; 6) spinal stretching; 7) superior biconcave with a decalcified center; 8) complete fusion; 9) pronounced biconcave; 10) hyper-radiodense; 11) kyphosis; 12) irregular internal structure; 13) dorsal or ventral displacement; and 14) severe multiple malformation. These deformities were illustrated and described. This study advances the existing knowledge about the types of deformity in tambaqui, which is necessary for future work to investigate its causes. It is known that several factors can influence the appearance of such deformities (*i.e.* incubation temperature, malnutrition, management, triploidization and genetic factors), which can be better investigated based on this basic work of description.

Key-words: Deformities. Pisciculture. Tambaqui. X-Ray. Morfometry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Digitalização dos landmarks na coluna vertebral do tambaqui.	18
Figura 2- Radiografia e ilustrações dos 14 diferentes tipos de deformidades vertebrais encontrado em famílias de <i>Colossoma macropomum</i> de cativeiro	22
Figura 3- Análise de componentes principais (ACP) realizada com dados morfométricos (LMs) da coluna vertebral de 627 indivíduos de <i>Colossoma macropomum</i> oriundos de seis famílias.	24
Figura 4- Análise de componentes principais (ACP) realizada com dados morfométricos (LMs) da coluna vertebral indivíduos de <i>Colossoma macropomum</i> oriundos de seis famílias (627 indivíduos exceto seis deles que apresentavam deformidades A) tipo 11 B) tipo 14.	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequencia da quantidade de vértebras nos 660 tabaquis analisados por raio-x.

Tabela 2 - Representação dos 14 tipos de deformidades encontradas no tabaqui, distribuídos nas seis famílias..... 23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Análise de Componentes Principais
CT	Comprimento Total
DPE	Dias Pós Eclosão
EHC	Extrato Hipofisário de Carpa
L	Litro
LM	<i>Landmark</i>
Mg	Miligramas
PIT	<i>Passive Integrated Transponder</i>
TPS	<i>Thin Plate Spline</i>
UFT	Universidade Federal do Tocantins

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	METODOLOGIA	17
3.1	Material Analisado	17
3.2	Exames de raio-X e análises das imagens radiográficas.....	18
3.3	Análises morfométricas e estatísticas.....	19
4	RESULTADOS.....	20
4.1	Número de vértebras e deformidades vertebrais.....	20
4.2	Deformidades Vertebrais em Diferentes Famílias	24
4.3	Análises Morfométricas	24
5	DISCUSSÃO	27
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
	REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

O tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Serrasalminidae) é a segunda espécie mais cultivada no Brasil, com uma produção total atingindo 101.079 toneladas em 2019 (PeixeBR, 2020). Os adultos de *C. macropomum* podem atingir até 1 metro de Comprimento Total (CT) e pesar até 30 kg, sendo o segundo maior peixe de escama da América do Sul (Loubens and Panfili, 1997). A espécie é considerada migratória, e está amplamente distribuída em águas ricas em nutrientes das bacias dos rios Amazonas e Orinoco (Lopes et al., 2017). Os representantes da espécie são onívoros e consomem frutas, sementes e invertebrados na sua alimentação natural, além disso, seus filamentos braquiais alongados são utilizados para filtrar o zooplâncton (Guimarães and Martins, 2015; Roubach and Saint-Paul, 1994).

A aquicultura de *C. macropomum* no Brasil é favorecida por características zootécnicas tal como seu potencial de crescimento (Mello et al., 2015; Porto et al., 2018; Sousa et al., 2017), adaptações a baixas concentrações de oxigênio dissolvido nos sistemas de produção (2 mg.L⁻¹ a 30 °C) (Saint-Paul, 1984) e uma indústria moderna para a qual diversos produtos de processamento tem sido desenvolvidos (Bottino et al., 2017).

Em cativeiro, a maturidade sexual de *C. macropomum* é observada após os três anos de idade (Almeida et al., 2016). Para a produção dos alevinos de tambaqui, diferentes terapias hormonais são utilizadas para induzir a maturação final dos ovócitos/ovulação e espermição, possibilitando a coleta de gametas, fertilização artificial e larvicultura (Pires et al., 2017; Pires et al., 2018; Souza et al., 2018; Woynárovich and Anrooy, 2019).

Em muitos lugares do Brasil, híbridos intergenéricos envolvendo fêmeas de *C. macropomum* com machos de *Piaractus brachypomus* ou *Piaractus mesopotamicus* também são usados para produzir os popularmente chamados “tambatinga” e “tambacu”, respectivamente, entre outros híbridos relatados envolvendo *C. macropomum* (Hashimoto et al., 2012; Hashimoto et al., 2016; Hashimoto et al., 2011).

Os novos desafios para a indústria do tambaqui incluem hoje o desenvolvimento de novas linhagens melhoradas a partir de programas de melhoramento genético (Perazza et al., 2019), que poderiam possivelmente ajudar a reduzir ossos intramusculares (Perazza et al., 2017), o desenvolvimento de linhagens monossexo para produção de fêmeas com presumível

taxas de crescimento mais elevadas (Almeida et al., 2016), e também o desenvolvimento de outras biotecnologias (por exemplo, poliploidia) para a produção de peixes estéreis que poderiam minimizar impactos ambientais em tambaquis cultivados e escapes de híbridos em ambientes naturais (Sato et al., 2020).

As deformidades esqueléticas foram relatadas para muitas espécies de peixes de cultivo, assim como para várias espécies de peixes em seu ambiente natural. Embora a produção de *C. macropomum* esteja bem estabelecida e o conhecimento sobre a espécie seja, hoje há informações limitadas sobre as deformidades esqueléticas presentes no tambaqui ao longo da cadeia produtiva e seus possíveis impactos econômicos. (Boglione et al., 2013; Jawad et al., 2018; Messaoudi et al., 2009).

Dependendo do grau e incidência dessas deformidades, impactos econômicos significativos podem ser observados (Boglione et al., 2013). As razões para a incidência de deformidades esqueléticas incluem a redução da diversidade genética de reprodutores propagados (Sawayama and Takagi, 2012), fornecimento nutricional inadequado (Izquierdo et al., 2019), sistema de produção sub-ótimo (Divanach et al., 1997), qualidade de água inadequada (Georgakopoulou et al., 2010; Munday et al., 2018), questões relacionadas à inflação da bexiga natatória (Iwasaki et al., 2018), contaminação da água com metais pesados (Bengtsson and Larsson, 1986; Messaoudi et al., 2009), produção de linhagens triploides (Opstad et al., 2013; Tiwary and Ray, 2004) e produção de peixes monosexo usando esteroides sexuais (Rivero-Wendt et al., 2016), dentre outros possíveis fatores.

Em muitos casos, as questões relativas às deformidades esqueléticas são de investigação muito desafiadora, e seus problemas para a aquicultura podem incluir um crescimento reduzido devido a restrições corporais e mortalidades acima da média normal (Toften and Jobling, 1996), e têm interesses de comercialização reduzidos, especialmente quando peixes inteiros (deformados) são vendidos (Afonso et al., 2000; Iwasaki et al., 2018). Deformidades esqueléticas em peixes de viveiro podem ser evidentes também em diferentes estágios de produção, como no início da criação de larvas (Hansen et al., 2019), na fase de alevinagem ou mais tarde na fase de crescimento/engorda (Daoulas et al., 1991).

Dentre as deformidades frequentemente observadas em peixes de cativeiro, destaca-se com grande frequência a lordose (aumento da curvatura lombar) (Hansen et al., 2019; Lovett et al., 2019; Negrín-Báez et al., 2015), mas também o aumento anormal na concavidade

posterior da coluna (cifose) (Hayashi et al., 2019; Izquierdo et al., 2019; Munday et al., 2016), a inclinação lateral da coluna (escoliose) (Boursiaki et al., 2019; Munday et al., 2018; Perrott et al., 2018), todos estes sendo geralmente associados a diferentes tipos e intensidades de fusão vertebral (Davie et al., 2019; Iwasaki et al., 2018; Jawad et al., 2018). A caracterização morfológica dos diferentes tipos de deformidades esqueléticas de uma espécie cultivada é o primeiro passo para investigar eventuais correlações e possíveis causas, especialmente visando empregar diferentes protocolos biotecnológicos (*i.e.* monosexo, triploidização, melhoramento genético) que podem aumentar a incidência destas deformidades. Atualmente, ainda são poucas as informações sobre as deformidades esqueléticas em *C. macropomum*, seus diferentes tipos, possíveis causas e reais impactos econômicos.

Para investigar as deformidades esqueléticas nos peixes, os ictiólogos contam com uma ampla gama de técnicas, dependendo dos objetivos do estudo, número e tamanho dos peixes a serem analisados, tipos de deformidades e recursos disponíveis. Essas técnicas incluem o clareamento da musculatura e tecidos moles e coloração de cartilagens e ossos (diafanização) (Gómez et al., 2016), tomografia computadorizada de varredura (Chidakwa, 2019), dissecação anatômica convencional (Chin et al., 2017), e análise de raio-X (Bogliione et al., 2013). Embora as disseções convencionais e a diafanização forneçam excelentes resoluções das estruturas analisadas, essas são técnicas de trabalho intenso que são frequentemente usadas em um número limitado de peixes. Por outro lado, as análises radiográficas têm se mostrado resolutivas nas observações anatômicas das deformidades esqueléticas, com a vantagem de serem aplicadas na análise de um grande número de animais facilitando posterior aplicação de análises morfométricas sobre as imagens radiográficas.

Considerando as deformidades esqueléticas em *Colossoma macropomum* que são frequentemente observadas em manejos nas pisciculturas, e que pesquisas a respeito são escassas, este estudo teve como objetivo identificar, classificar e descrever os diferentes tipos de deformidades vertebrais em *C. macropomum* por meio de análises radiológicas e morfométricas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi diagnosticar, classificar e descrever os diferentes tipos de deformidades vertebrais em famílias de *Colossoma macropomum* por meio de análises radiológicas e morfométricas.

2.2 Objetivos específicos

O objetivo geral se desmembra nos seguintes objetivos específicos:

- 1) Analisar imagens radiográficas de diferentes famílias de *Colossoma macropomum* e descrever os diferentes tipos de anomalias vertebrais com base na literatura disponível;
- 2) Ilustrar os diferentes tipos de deformidade vertebral com base nas imagens radiográficas;
- 3) Analisar o padrão morfométrico da coluna vertebral de *C. macropomum* e verificar se os diferentes tipos de deformidade podem ser identificados/representados por meio de análises multivariadas.

3 METODOLOGIA

3.1 Material Analisado

Seis famílias diferentes de *C. macropomum* foram produzidas na Fazenda São Paulo (Brejinho de Nazaré-TO) após estimulação da maturação ovocitária, ovulação / espermiacção utilizando protocolo convencional de indução com Extrato Hipofisário de Carpa (EHC) (Woynárovich and Anrooy, 2019), permitindo a fertilização artificial e propagação de larvas. Denominamos o termo família, para subpopulações de tambaqui de cativeiro, no qual, são provenientes da fertilização de ovócitos de uma fêmea com sêmen de um único macho. As larvas das diferentes famílias foram criadas em incubadoras individuais de 200 L e alimentadas com *nauplii* de *Artemia* (HIGH 5, INVE Aquaculture INC., BEL) 7 vezes ao dia até 14 dias após a eclosão (DPE). Após 14 DPE, os alevinos foram alimentados 6 vezes ao dia com ração em pó (Guabi S.A, Brasil) e transição para alimentação extrusada 0,8-1,0 mm (45% proteína bruta, Nanolis / SOCIL, Brasil) e 1,3-1,5 mm (45% proteína bruta, Acqua Line / Supra, Brasil) 4 vezes ao dia, quando os alevinos foram então transferidos para diferentes Tanques de 1000 L compostos por um sistema de fluxo contínuo de água.

Após 90 DPE (peso corporal ~ 50g), todos os peixes foram identificados com um chip intramuscular (*Passive Integrated Transponder* - PIT). Os indivíduos de maior CP foram selecionados e transferidos para tanques escavados para composição de um futuro programa de melhoramento genético (Shiotsuki et al., 2019). Os peixes que apresentaram qualquer anormalidade possível de ser observada externamente foram selecionados (n = 660 no total) sacrificados com uma dose letal de Benzocaína (220 mg.L⁻¹) e fixados em etanol 100% para análises posteriores de raios-X. Nesta fase quando foram estudados, os peixes das seis famílias estavam com 229 DPE, pesavam cerca de 147.28 ± 33.52 g e mediam cerca de 19.74 ± 1.44 cm em CT (Família 1), 153.33 ± 37.34 g e 19.92 ± 1.81 cm CT (Família 2), 241.73 ± 58.29 g e 23.62 ± 2.19 cm CT (Família 3), 235.56 ± 85.81 g e 24.93 ± 1.79 cm CT (Família 4), 262.02 ± 49.87 g e 25.25 ± 1.53 cm CT (Família 5) e 152.26 ± 36.73 g e 19.26 ± 1.54 cm CT (Família 6).

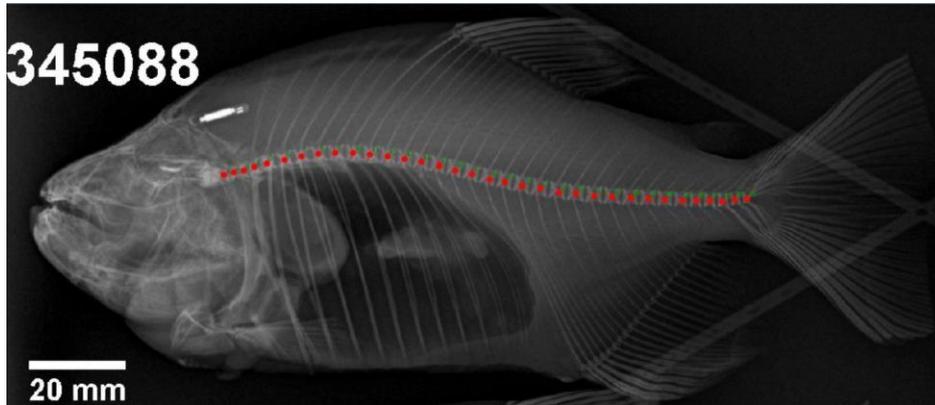
3.2 Exames de raio-X e análises das imagens radiográficas

Os 660 indivíduos de *Colossoma macropomum* visualmente deformados foram examinados com um equipamento portátil de Raio-X veterinário (RX 110/100 Ecoray) do Hospital Veterinário da Universidade Católica do Tocantins (UniCatólica, Palmas-TO). Para isso, os chips de cada peixe foram lidos e os indivíduos foram etiquetados e colocados em uma bandeja plástica, então radiografados de seis a seis. As imagens foram enviadas via Bluetooth (extensão Dicom) para um computador, quando a identidade do número do chip de cada peixe foi adicionada a cada mosaico de imagens radiográficas (formato dicom). Em seguida, radiografias individuais (extensão jpg) foram cortadas dos mosaicos usando-se o software ImageJ (v1.51j8) (Schneider et al., 2012), onde foi replicada a escala original do mosaico (20 mm) e os arquivos foram numerados sequencialmente.

Em uma primeira etapa, as imagens foram analisadas visualmente de forma individual com o objetivo de identificar e categorizar possíveis diferentes anormalidades vertebrais em *C. macropomum*. Para isso, a nomenclatura proposta por Witten et al. (2009) foi adotada e modificada, de forma que 14 diferentes tipos de deformidades vertebrais foram observados nos 660 indivíduos. Em seguida, essas deformidades vertebrais foram ilustradas (Adobe Illustrator v. 22.0.1), e a presença das deformidades tabulada nas diferentes famílias. Gerou-se nesse momento também um arquivo classificador qualitativo para análises morfométricas posteriores.

Para análises morfométricas, um arquivo TPS (*Thin Plate Spline*) foi inicialmente criado usando-se o programa TPS Util64 v 1.76 (Rohlf, 2008) na localização da pasta contendo os 660 arquivos (jpg) das imagens radiográficas. Então, o programa TPS Dig v. 2.31 (Rohlf, 2001) foi usado para digitalizar *landmarks* (LMs) no centro vertebral das vertebrae de cada peixe (Figura 1). Peixes com fusão vertebral foram considerados com 34 vertebrae, uma vez que nestes casos foi possível identificar o centro vertebral de cada uma das vertebrae fundidas. Para as análises morfométricas, os peixes que possuíam 33 (n = 27 peixes) ou 35 (n = 6 peixes) vertebrae foram excluídos do conjunto de dados, que permaneceu com 627 indivíduos possuindo 34 vértebras cada. No ato da digitização dos LMs, o arquivo TPS original foi alimentado automaticamente com informações sobre o número de LMs, suas coordenadas bidimensionais individuais, o nome do arquivo de imagem, a identidade do peixe e o fator de escala usada para a digitização.

Figura 1. Digitização dos landmarks no centro de cada vértebra da coluna vertebral



Fonte: Alves, 2021.

3.3 Análises morfométricas e estatísticas

Após a digitalização dos LMs, diferentes análises morfométricas foram conduzidas usando MorphoJ v. 1.06d (Klingenberg, 2011). Inicialmente, um projeto bidimensional foi criado e preenchido com o arquivo TPS (descrito acima), e também com dois arquivos adicionais contendo dados qualitativos dos 627 indivíduos: origem familiar e tipo (s) de deformidade das vértebras conforme descrição ilustrada na Figura 2. Em seguida, os dados dos landmarks foram alinhados através da sobreposição de Procrustes com o objetivo de eliminar variações relacionadas à rotação, translação e tamanho (Claude, 2008), e uma matriz de covariância produzida para outras Análises de Componentes Principais (ACP).

4 RESULTADOS

4.1 Número de vértebras e deformidades vertebrais

Dos 660 indivíduos analisados, 27 (4,1%) apresentaram 33 vértebras, 627 (95,0%) 34, e seis (0,9%) 35 (Tabela 1). O número de vértebras nos peixes das seis famílias foi representado na Tabela 1.

Tabela 1. Frequencia da quantidade de vértebras nos 660 peixes analisados

Família	Número de vértebras		
	33	34	35
1	16	264	1
2	1	154	3
3	0	24	0
4	6	33	0
5	2	75	0
6	2	77	2
Total	27 (4.1%)	627 (95.0%)	6 (0.9%)

Fonte: Alves, 2021.

Seguindo a classificação proposta por Witten et al. (2009), as análises de raio-X permitiram a identificação de 14 diferentes tipos de deformidades vertebrais em *C. macropomum* (Figura 2, Tabela 2). Essas deformidades podem ser descritas como:

Tipo 1. Espaço intervertebral diminuído. Caracterizado pela diminuição geral do espaço intervertebral que, portanto, encurta a coluna vertebral. Esse tipo de deformidade foi encontrado em apenas um indivíduo (0,2%) da Família 01.

Tipo 2. Compressão homogênea. Caracteriza-se pelo encurtamento da coluna vertebral devido à compressão homogênea dos corpos vertebrais. Nesse tipo, os corpos vertebrais exibem uma curvatura para dentro das bordas das placas terminais vertebrais. Esse tipo de deformidade foi encontrado em quatro indivíduos (0,6%) das famílias 01 e 05.

Tipo 3. Corpos vertebrais comprimidos sem estrutura em X. As placas da extremidade vertebral mostram sinais de mineralização intensificada. Listras radiodensas frequentemente

aparecem no espaço intervertebral, devido às vértebras serem mais radiantes que as normais. Esse tipo de deformidade foi encontrado em sete indivíduos (1,1%) das famílias 1, 2, 4, 5 e 6.

Tipo 4. Compressão unilateral. A morfologia das vértebras comprimidas mostra um aspecto da letra K. Isso ocorre quando apenas um lado das placas vertebrais é comprimido. Esse tipo de deformidade foi encontrado em 37 indivíduos (5,6%). A única família onde essa deformidade não foi relatada foi a família 5.

Tipo 5. Compressão vertebral. As vértebras são comprimidas uma na outra, de forma que os espaços intervertebrais deixam de existir. Esse tipo de deformidade foi encontrado em dois indivíduos (0,3%) das famílias 1 e 6.

Tipo 6. Alongamento vertebral. Caracterizado por vértebras mais alongadas, que podem ou não estar associadas à fusão vertebral. Esse tipo de deformidade foi encontrado em 16 indivíduos (2,4%) das famílias 1, 4 e 6.

Tipo 7. Bicôncava superior de centro desmineralizado. O tipo é caracterizado pela curvatura vertical da placa dos corpos vertebrais, resultando em vértebras com aspectos côncavos. Além disso, observamos que a cúspide vertebral possui uma cavidade intravertebral desmineralizada, talvez relacionada à osteopenia, causada pela perda de cálcio (ver tipo 9). Esse tipo de deformidade foi encontrado em oito indivíduos (1,2%) das famílias 5 e 6.

Tipo 8. Fusão completa. Ocorre quando dois ou mais corpos vertebrais se fundem, apresentando mais de uma coluna neural nas vértebras fundidas. Esse tipo de deformidade foi encontrado em 21 indivíduos (3,1%) de todas as famílias estudadas (Tabela 2).

Tipo 9. Bicôncava pronunciada. Caracterizado pelas vértebras, cujas bordas das placas vertebrais estão voltadas para dentro. Esse tipo de deformidade pode estar relacionado ao desgaste do cálcio nas vértebras. Esse tipo de deformidade foi encontrado em 188 indivíduos (28,5%) e apenas na família 3, nenhuma evidência dessa deformidade foi encontrada (Tabela 2).

Tipo 10. Vértebras hiper-radiodensas. Eles podem ser causados por vértebras que inibem a passagem da radiação eletromagnética, dando a aparência de vértebras brancas e opacas. Isso pode ser devido ao aumento da mineralização das vértebras ou das cartilagens que inibem a passagem dos raios-x. Esse tipo de deformidade foi encontrado em um indivíduo (0,2%) da família 6 (Tabela 2).

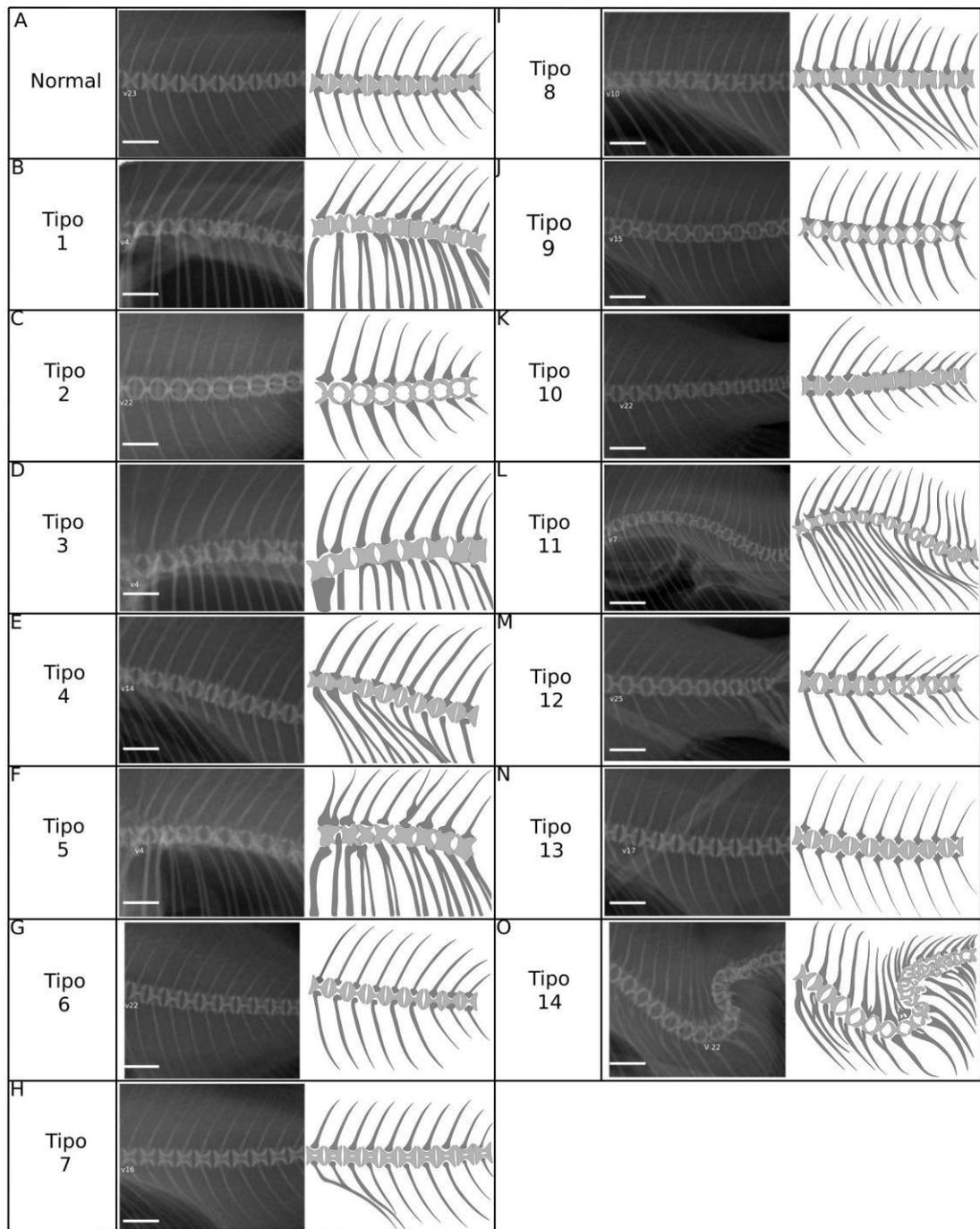
Tipo 11. Cifose. É caracterizada pela curvatura dorsal da coluna vertebral. É facilmente detectado em radiografias. Esse tipo de deformidade foi encontrado em um indivíduo (0,2%) da família 4 (Tabela 2).

Tipo 12. Estrutura interna irregular. Corpos vertebrais simetricamente desiguais, observando a estrutura interna da vértebra, percebe-se que não apresentam simetria em sua estrutura em X. Segundo (Witten et al., 2009) a característica deste fenótipo, não corresponde a nenhum tipo de deformidade. Esse tipo de deformidade foi encontrado em sete indivíduos (1,1%) da Família 1 e 4 (Tabela 2).

Tipo 13. Deslocamento dorsal ou ventral. Esse tipo de anormalidade vertebral é caracterizado pelo deslocamento dorsal do centro vertebral, tornando as extremidades das placas vertebrais assimétricas. Esse tipo de deformidade foi encontrado em quatro indivíduos (0,6%) da Família 1, 3 e 6 (Tabela 2).

Tipo 14. Malformação múltipla severa. É caracterizada por vários graus de fusões vertebrais. Este tipo de anomalia, pode ou não estar associado a fraturas ósseas. Este tipo de deformidade foi encontrado em dois indivíduos (0,2%) da Família 1 e 2 (Tabela 2).

Figura 2. Radiografia e ilustrações dos 14 diferentes tipos de deformidades vertebrais, encontrado em famílias de *Colossoma macropomum* de cativeiro.



Fonte: Alves, 2021.

Tabela 2. Representação dos 14 tipos de deformidades vertebrais por família de tambaqui.

		Tipos de Deformidades Vertebrais														
Família	Normal	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total
<i>I</i>	169	1	1	1	21	1	11	0	4	72	0	0	6	2	1	290
<i>2</i>	93	0	0	2	9	0	0	0	6	47	0	0	0	0	1	158
<i>3</i>	9	0	0	0	3	0	0	0	5	0	0	0	0	1	0	18
<i>4</i>	9	0	0	1	3	0	3	0	3	17	0	1	1	0	0	38
<i>5</i>	43	0	3	1	0	0	0	4	1	23	0	0	0	0	0	75
<i>6</i>	38	0	0	2	1	1	2	4	2	29	1	0	0	1	0	81
	361	1	4	7	37	2	16	8	21	188	1	1	7	4	2	660
Total	54.7%	0.2	0.6	1.1	5.6	0.3	2.4	1.2	3.2	28.5	0.2	0.2	1.1	0.6	0.3	100
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%

Fonte: Alves, 2021.

4.2 Deformidades Vertebrais em Diferentes Famílias

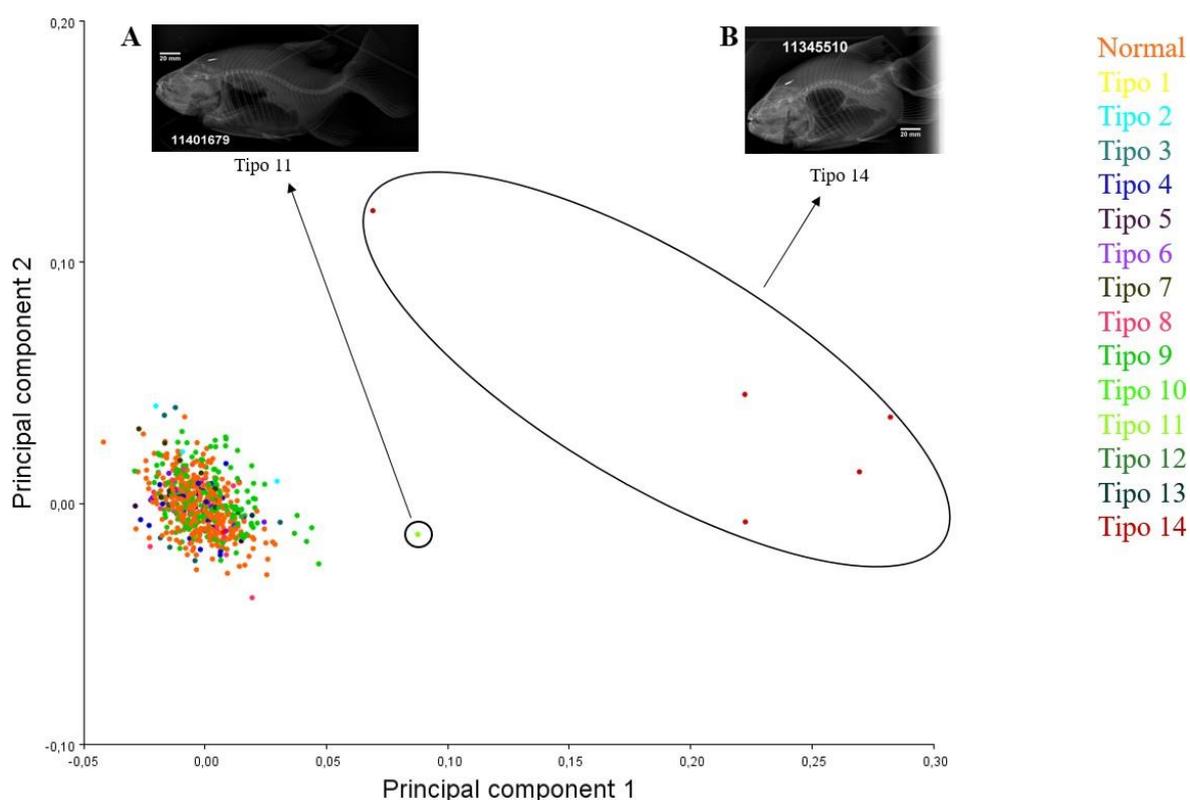
A Tabela 2 sumariza os 14 tipos de deformidades encontradas nas seis famílias de tambaqui analisadas. A densidade maior de peixes está concentrada na família 1 totalizando 290 peixes. Dos 660 peixes, 361 (54,7%) foram classificados como normais e os outros (55,3%) apresentaram algum dos 14 tipos de deformidades, sendo 28,9% do tipo bicôncava pronunciada (tipo 9), 5,6% com compressão unilateral (tipo 4), 2,4% alongamento vertebral (tipo 6), 1,2% bicôncava superior de centro desmineralizado (tipo 7) e 1,1% com compressão sem estrutura X (tipo 3). Os demais tipos de anormalidades apresentaram uma frequência inferior a (1,0%) nas famílias analisadas.

4.3 Análises Morfométricas

A Figura 3 mostra os resultados da ACP entre os 627 indivíduos que apresentaram 34 vértebras. Para os dados dos LMs alocados no centro vertebral de cada um desses indivíduos, a PC1 explicou 61,395% da variância total, enquanto a PC2 17,461% da variância total dos dados. Cada ponto distribuído no morfoespaço deste gráfico bidimensional, representa um indivíduo. Quanto mais afastados os pontos do conjunto de indivíduos classificados como “normais”, maior a probabilidade desse indivíduo apresentar alguma condição de deformidade

vertebral. Na Figura 3, destaca-se os pontos (indivíduos) que apresentaram as deformidades do tipo 11 e tipo 14.

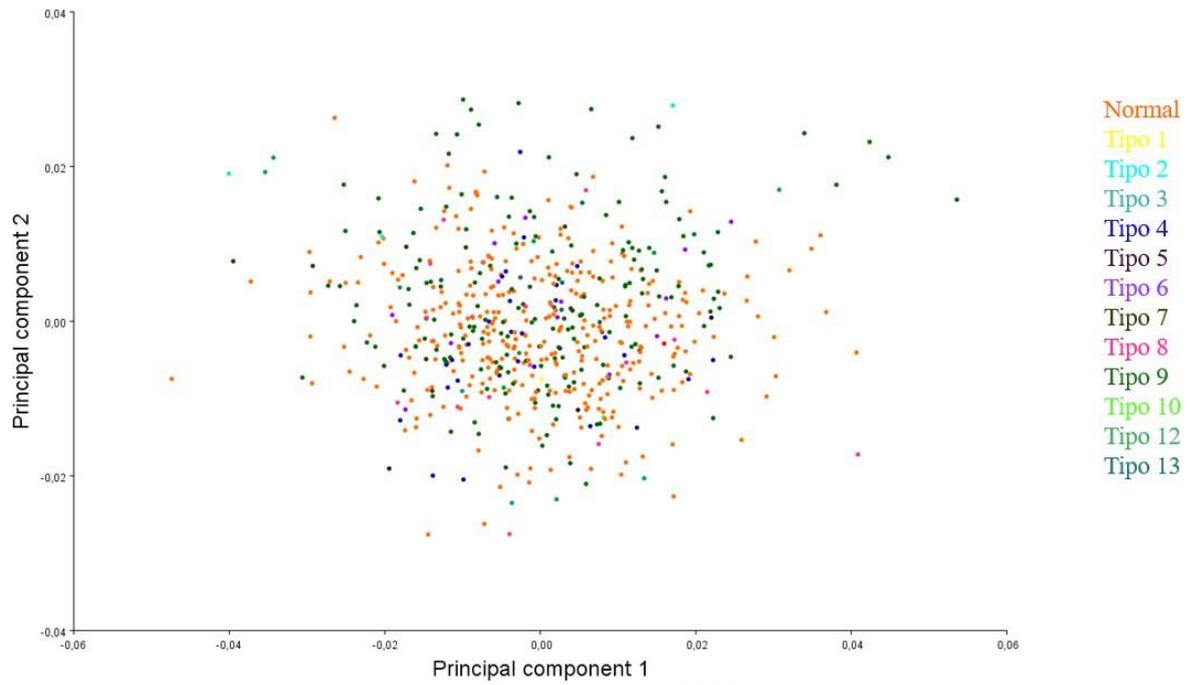
Figura 3. Análises de componentes principais (ACP), realizada com dados morfométricos (LMs) da coluna vertebral de 627 indivíduos, oriundos de seis famílias diferentes de tambaqui.



Fonte: Alves, 2023.

Uma vez que os indivíduos com as deformidades tipo 11 e 14, apresentaram a maior variância e distinguiram-se abruptamente da grande maioria dos indivíduos, uma nova ACP foi realizada, mas desta vez excluindo-se esses indivíduos (ID= 209, 243, 456, 645, 648 e 659), visando obter maior resolução gráfica para os indivíduos com os demais tipos de deformidade vertebral (Figura 4).

Figura 4. Análise de componentes principais (ACP) realizada com dados morfométricos (LMs) da coluna vertebral indivíduos de *Colossoma macropomum* oriundos de seis famílias (627 indivíduos exceto seis deles que apresentavam deformidades A) tipo 11 B) tipo 14.



Fonte: Alves, 2023.

5 DISCUSSÃO

Embora o tambaqui seja uma espécie de grande interesse na aquicultura, até o momento, não há uma categorização para os tipos de deformidades encontradas na espécie. Embora uma coleção de trabalhos (Opstad et al., 2006; Negrín-Báez et al., 2015; Perrott et al., 2018) apresente uma série de informações sobre o aparecimento de deformidades esqueléticas e sua relação com fatores abióticos em peixes marinhos, a literatura sobre deformidades esqueléticas em tambaqui é incipiente, especificamente no que diz respeito à classificação dos tipos de deformidades para a espécie. No presente trabalho, analisou-se pela primeira vez peixes de diferentes famílias de tambaqui e cultivados nas mesmas condições ambientais desde o nascimento.

O presente estudo nos mostra que no conjunto de 660 peixes, foi possível observar animais com 33, 34 e 35 vértebras, sendo 34 o mais frequente além disso, categorizamos 14 tipos de deformidades para o tambaqui. O número de vértebras em teleósteos varia de acordo com a espécie. Segundo (Araújo Lima e Donald, 1988) o modo de distribuição do número de vértebras em *C. macropomum* é de 34 vértebras, e a amplitude varia de 33 a 34 vértebras, corroborando com os dados obtidos neste estudo. Em outros gêneros/espécies de Serrasalmidae, como *Mylossoma aureum* e *M. duriventre* a amplitude do número de vértebras varia, sendo que em *M. aureum* a amplitude é 33-35 vértebras e *M. duriventre* a amplitude do número de vértebras é 31-32 vértebras (Mateussi, 2015). Os dados encontrados indicam a existência de variação no número vertebral em animais contemporâneos em praticamente todas as famílias estudadas, entretanto devemos levar em consideração as vertebrae inseridas no aparelho de weber e as que estão presentes nas vértebras caudais. que podem passar despercebidas na contagem das vertebrae.

É muito comum encontrar deformidades vertebrais em peixes teleósteos, principalmente em espécies marinhas talvez, por que, a maioria dos estudos estão relacionados com espécies comerciais marinhas (Sanches et al., 2013; Bourbaki et al., 2019). A literatura mostra alguns estudos sobre o desenvolvimento esquelético de deformidades, em espécies filogeneticamente muito próximas ao tambaqui, porém, muitos desses estudos não estão centrados na categorização, enfocando mais nas deformidades dos tipos, lordose, cifose e escoliose. Lopes, et al., 2014 avaliaram anomalias esqueléticas em 1310 larvas de reprodutores nativos de *Piaractus mesopotamicus*, nas quais foram identificados Lordose, Cifose e Escoliose. Ferreri et al., (2000) classificou 25 tipos de anomalias esqueléticas no peixe-zebra *Danio rerio* selvagens e comerciais, sugerindo assim um modelo esquelético útil no estudo dos efeitos do ambiente e mudanças em elementos merísticos e anomalias

esqueléticas em peixes. Em comparação, Witten et al. (2009) analisou 5000 espécimes de salmão do Atlântico (*Salmo solar* L.) por meio de radiografias. A partir daí, classificou 20 tipos de deformidades para a espécie. Diante do exposto, para as espécies estudadas neste trabalho, encontramos 14 tipos de deformidades, número relativamente alto se comparado aos estudos de Ferreri et al. (2000) e Witten et al. (2009).

Ao analisar o conjunto de dados, podemos verificar que, das seis famílias, os tipos de deformidades que mais refletem sobre elas são: tipo 4, tipo 6, tipo 8 e tipo 9 ver (tabela 2). A deformidade tipo 4 ou compressão unilateral das vértebras ocorreu em 37 indivíduos (5,6%), a família mais acometida por esta anomalia é a família 1, com 21 indivíduos. Este tipo de deformidade possui uma estrutura vertebral interna, em forma de letra K, e pode ser um futuro precursor de uma fusão vertebral (Sullivan et al., 2007). O alongamento intervertebral, classificado como deformidade tipo 6, apareceu em três famílias, sendo 1, 4 e 6, totalizando 16 peixes (2,6%). A família 1 destaca-se por possuir o maior número de peixes com este tipo de anomalia, 11 indivíduos. Witten et al., 2009 relataram que o alongamento das vértebras pode estar associado ao grau de encurtamento / fusão das demais partes ao longo da coluna, podendo-se relacionar esta deformidade, com platispondia, sendo uma anomalia congênita consistindo em alongamento da coluna (Hillestad et al., 2000). Caracterizado como fusão completa, o tipo 8 ocorreu em 3,2% dos peixes analisados. Resumindo, em todas as famílias foi encontrado pelo menos um indivíduo com vértebras fundidas. A condição desse tipo de deformidade pode ou não estar associada ao tipo 6, uma vez que o alongamento vertebral pode resultar em fusões completas (Witten et al., 2009). A deformidade do tipo 9, morfológicamente denominada de vértebras bicôncavas pronunciadas, representou 28,5% dos indivíduos. A única família onde este tipo de vértebra não foi relatado foi a família 3. Talvez essa patologia esteja associada com o desenvolvimento da cartilagem heterotópica ou submineralização das vértebras, dando condições, para que, as placas das bordas vertebrais se curvem para dentro ou para fora (Witten et al., 2009).

A prevalência dessas deformidades vertebrais no tambaqui cultivado levanta questões sobre o bem-estar animal. Uma vez que, para outros grupos de teleósteos a ocorrência dessas anomalias promovem o encurtamento da coluna vertebral, déficit de crescimento em relação a indivíduos normais, impossibilitando o animal de realizar funções essenciais como a captura de alimento (Fjellidal et al., 2007). Para a indústria, essas deformidades trazem perdas em relação a produção de pescado, uma vez que, peixes deformados não produzem a mesma quantidade de filé em comparação a peixes normais, reduzindo o valor final do peixe no mercado consumidor. Deformidades vertebrais em peixes de cultivo, são bem comuns, visto que, no tambaqui as causas dessas deformidades ainda permanecem uma incógnita. Alguns estudos, correlacionam as deformidades esqueléticas com a inflação da bexiga natatória,

deficiência nutricional de vitaminas e aminoácidos, condição ambiental e segundo alguns estudos a etiologia das deformidades vertebrais estão relacionadas com herança genética (Bardon et al., 2009) (Peruzzi et al., 2007) (Fernández et al., 2008) (Mhalhel et al., 2020). Em Gadiformes, que inclui o bacalhau do atlântico *Gadus morhua* e *Melanogrammus aeglefinus*, a principal causa das deformidades vertebrais estão associadas com a deficiência nutricional, já que, a carência de alguns compostos como fósforo, potássio e vitamina K, reduzem o conteúdo mineral dos ossos (Opstad et al., 2006; Roy et al., 2002; Roy and Lall, 2007).

O uso de ferramentas tecnológicas para detecção de deformidades esqueléticas é muito importante. A utilização de exames de raio-X possibilita uma análise rápida e precisa das deformidades esqueléticas em peixes, já que, não há necessidade de sacrificar os animais (possibilitando a observação dos peixes para o valor de mercado), mostrando patologias graves nas estruturas vertebrais, tal como, fusões vertebrais/ compressões, que passam despercebidos em exames da estrutura externa, feita nos manejos em pisciculturas (Boursiaki et al., 2019; Davie et al., 2019; Fjellidal et al., 2009). Além disso, a ferramenta é bastante útil para avaliação da composição esquelética pensando-se em seleção de animais sadios (sem deformidades) em programas de seleção para melhoramento genético. Neste ponto, as análises morfométricas demonstradas neste trabalho seriam bastante úteis para auxiliar na classificação dos indivíduos e diferentes graus de deformidade.

Os diferentes tipos de deformidades encontradas em *C. macropomum* foram descritos e caracterizados de acordo com classificação prévia (Witten et al., 2009), com adição da deformidade tipo 7, que foi observada e descrita neste estudo. Além disso, as deformidades vertebrais foram caracterizadas por meio de análises de morfometria geométrica (*landmark analysis*), que permitiu distinguir os padrões das diferentes deformidades na coluna vertebral bem como nas diferentes famílias. Frente à lacuna atual de conhecimento acerca da presença de deformidades vertebrais no tambaqui e o potencial prejuízo econômico que sua incidência pode ter nas diversas etapas da cadeia de valor (Andrades, et al, 1996) este estudo servirá de base metodológica e de conhecimento para estudos futuros sobre deformidades vertebrais na espécie.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por ser um estudo inédito sobre os tipos de deformidades no tambaqui, este trabalho focou em uma análise comparativa com outras espécies de teleósteos. Os dados desta pesquisa são muito importantes, pois permitirão no futuro a realização de estudos mais aprofundados sobre fatores bióticos e abióticos, que potencialmente influenciam no aparecimento de deformidades esqueléticas em *C. macropomum*, bem como provê dados sobre o uso de equipamentos de raio-X utilizados pela primeira vez na espécie para essa finalidade.

As deformidades esqueléticas em tambaqui, obtidas a partir de exames de raio-X se diferenciam, havendo 14 tipos distintos. Contudo, quando avaliadas uma por uma, percebe-se que todas elas estão relacionadas com certo grau de fusão vertebral. Diversos fatores podem gerar deformidades esqueléticas, porém, para o tambaqui esses fatores permanecem cheios de incertezas. Dessa forma, estudos mais focados nas causas são necessários, a fim de reduzir os prejuízos no setor produtivo do pescado.

REFERÊNCIAS

AFONSO, J. M. et al. Association of a lordosis-scoliosis-kyphosis deformity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) with family structure. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 22, p. 159–163, 2000.

ALMEIDA, F. L. et al. Early puberty of farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*): Possible influence of male sexual maturation on harvest weight. **Aquaculture**, v. 452, p. 224-232, 2016. ISSN 00448486.

ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; DONALD, E. Número de vértebras de characiformes do rio Amazonas e seu uso na identificação de larvas do grupo. **Acta Amazonica**, v. 18, n. 1-2, p. 351-358, 1988.

BENGTSSON, B. E.; LARSSON, A. Vertebral deformities and physiological effects in fourhorn sculpin (*Myoxocephalus quadricornis*) after long-term exposure to a simulated heavy metal-containing effluent. **Aquatic Toxicology**, v. 9, p. 215-229, 1986.

BOGLIONE, C. et al. Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: Main typologies, occurrences and causative factors. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, n. 1, p. S121–S167, 2013.

BOTTINO, F. O. et al. Influence of uv-c radiation on shelf life of vacuum package tambacu (*Colossoma macropomum* X *Piaractus mesopotamicus*) filets. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 4, p. e13003, 2017.

BOURSIAKI, V. et al. Skeletal deformity of scoliosis in gilthead seabreams (*Sparus aurata*): Association with changes to calcium-phosphor hydroxyapatite salts and collagen fibers. **Water (Switzerland)**, v. 11, n. 257, p. 1-13, 2019.

CHIDAKWA, V. **Non- invasive prediction of vertebral deformities and mineral deposition using Computed Tomography (CT) for the advancement in breeding of Atlantic salmon**. 2019. 94 Master thesis (Masters). Department of Animal and Aquaculture Sciences, Norwegian University of Life Science (NMBU), Norway.

CHIN, H. N. et al. Case studies of spinal deformities in ornamental koi, *Cyprinus carpio* L. **Journal of Fish Diseases**, v. 40, n. 1, p. 65-71, 2017.

CLAUDE, J. **Morphometrics with R**. New York: Springer, 2008. ISBN 978-0-387-77789-4.

DAOULAS, C.; ECONOMOU, A. N.; BANTAVAS, I. Osteological abnormalities in laboratory reared sea-bass (*Dicentrarchus labrax*) fingerlings. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 97, p. 169-180, 1991.

DAVIE, P. S. et al. Vertebral fusions in farmed Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in New Zealand. **Journal of Fish Diseases**, v. 42, p. 965-974, 2019.

DIVANACH, P. et al. Effect of water currents on the development of skeletal deformities in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with functional swimbladder during postlarval and nursery phase. **Aquaculture**, v. 156, p. 145-155, 1997.

FERNÁNDEZ, I. et al. Larval performance and skeletal deformities in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed with raded levels of Vitamin A enriched rotifers (*Brachionus plicatilis*). **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 283, n. 1-4, p. 102-115, 2008.

FERRERI, F. et al. Skeletal characterization of wild and reared zebrafish: anomalies and meristic characters. **Journal of Fish Biology**, v. 56, n. 5, p. 1115-1128, 2005.

FJELLDAL, P. G.; HANSEN, T. J.; BERG, A. E. A radiological study on the development of vertebral deformities in cultured Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, v. 273, n. 4, p. 721-728, 2007. ISSN 00448486.

FJELLDAL, P. G. et al. A radiological study on vertebral deformities in cultured and wild Atlantic cod (*Gadus morhua*, L.). **Aquaculture**, v. 289, n. 1-2, p. 6-12, 2009. ISSN 00448486.

GEORGAKOPOULOU, E. et al. Effect of temperature on the development of skeletal deformities in Gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). **Aquaculture**, v. 308, n. 1-2, p. 13-19, 2010. ISSN 00448486.

GÓMEZ, M. C. R. et al. Evaluación del efecto de tres hidróxidos en la calidad de diafanización de peces de cola de espada (*Xiphophorus helleri*). **Revista AquaTIC**, v. 46, p. 1-9, 2016.

GUIMARÃES, I. G.; MARTINS, G. P. Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini review. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 31, p. 57-66, 2015. ISSN 01758659.

HANSEN, B. H. et al. Developmental effects in fish embryos exposed to oil dispersions – The impact of crude oil micro-droplets. **Marine Environmental Research**, v. 150, p. 104753, 2019.

HASHIMOTO, D. T. et al. Molecular diagnostic methods for identifying Serrasalmid fish (Pacu, Pirapitinga, and Tambaqui) and their hybrids in the Brazilian aquaculture industry. **Aquaculture**, v. 321, p. 49-53, 2011.

HASHIMOTO, D. T. et al. Molecular identification of intergenus crosses involving catfish hybrids: Risks for aquaculture production. **Neotropical Ichthyology**, v. 14, n. 2, p. e150139, 2016.

HASHIMOTO, D. T. et al. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, v. 4, p. 108-118, 2012.

HAYASHI, D.; MIURA, C.; MIURA, T. Characteristics of kyphotic vertebrae in the cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata*. **Aquaculture**, v. 506, p. 380-386, 2019.

IWASAKI, T. et al. Osteological development and deformities in hatchery-reared longtooth grouper (*Epinephelus bruneus*): Vertebral column, dorsal-fin supports and caudal-fin skeleton. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 10, p. 3245–3257, 2018.

IZQUIERDO, M. et al. Interaction between taurine, vitamin E and vitamin C in microdiets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 498, p. 246-253, 2019.

JACOMETO, C. B. et al. Genetic variability of tambaqui (Teleostei: Characidae) from different regions of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 5, p. 481-487, 2010.

JAWAD, L. A. et al. Vertebral column deformity in adult wild haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). **Journal of Fish Diseases**, v. 41, n. 12, p. 1909-1915, 2018.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, p. 353-357, 2011.

KVELLESTAD, A. et al. Platyspondyly and shortness of vertebral column in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* in Norway--description and interpretation of pathologic changes. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 14, n. 39, p. 97-108, 2000.

LOPES, T. M. et al. Two sides of a coin: Effects of climate change on the native and non-native distribution of *Colossoma macropomum* in South America. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0179684, 2017.

LOUBENS, G.; PANFILI, J. Biologie de *Colossoma macropomum* (Teleostei : Serrasalminidae) dans le bassin du Mamoré (Amazonie bolivienne). **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 8, n. 1, p. 1-20, 1997.

LOVETT, B. A. et al. Investigating a relationship between body composition and spinal curvature in farmed adult New Zealand king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): A novel application of dual-energy X-ray absorptiometry. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 502, p. 48-55, 2019.

MATEUSSI, N. T. B. **Revisão taxonômica das espécies cisandinas de *Mylossoma Eigenmann & Kennedy, 1903 (Characiformes: Serrasalminidae)***. 2005. 69 (Mestrado). Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-Brasil.

MELLO, F. et al. Growth curve by Gompertz nonlinear regression model in female and males in tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 4, p. 2309-2315, 2015.

MESSAOUDI, I. et al. Association of spinal deformities with heavy metal bioaccumulation in natural populations of grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* Pallas, 1811 from the Gulf of Gabes (Tunisia). **Environmental Monitoring Assessment**, v. 156, n. 1-4, p. 551-560, Sep 2009. ISSN 1573-2959 (Electronic)

0167-6369 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18709433> >.

MHALHEL, K. et al. The Effect of Orally Supplemented Melatonin on Larval Performance and Skeletal Deformities in Farmed Gilthead Seabream (*Sparus aurata*). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, p. 1-18, 2020.

MUNDAY, J. S. et al. Unilateral perivertebral fibrosis associated with lordosis, kyphosis and scoliosis (LKS) in farmed Chinook salmon in New Zealand. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 121, n. 3, p. 211-221, 2016.

MUNDAY, J. S. et al. Prevalence of spinal abnormalities in Chinook salmon smolt and influence of early rearing temperature and growth rates. **Journal of Fish Diseases**, v. 41, n. 7, p. 1111-1116, 2018.

NEGRÍN-BÁEZ, D. et al. Detection of QTL associated with three skeletal deformities in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.): Lordosis, vertebral fusion and jaw abnormality. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 448, p. 123-127, 2015.

OPSTAD, I. et al. The effect of triploidization of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) on survival, growth and deformities during early life stages. **Aquaculture**, v. 388-391, p. 54-59, 2013. ISSN 00448486.

OPSTAD, I. et al. Growth, survival, and development of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) weaned onto diets containing various sources of marine protein. **CES Journal of Marine Science**, v. 63, n. 2, p. 320-325, 2006.

PEDROZA-FILHO, M. X.; RODRIGUES, A. P. O.; REZENDE, F. P. Dinâmica da produção de tambaqui e demais peixes redondos no Brasil. **CNA Brasil Ativos Aquicultura**, v. 2, n. 5, p. 1-5, 2016.

PEIXEBR. **Anuário Brasileiro da Piscicultura Peixe BR 2020**. PeixeBR. São Paulo-SP, p.135. 2020

PERAZZA, C. A. et al. Genetic parameters for loin eye area and other body traits of an important Neotropical aquaculture species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Aquaculture Research**, v. 50, p. 2907-2916, 2019.

PERAZZA, C. A. et al. Lack of intermuscular bones in specimens of *Colossoma macropomum*: An unusual phenotype to be incorporated into genetic improvement programs. **Aquaculture**, v. 472, p. 57-60, 2017.

PERROTT, M. R. et al. Spinal curvatures and onset of vertebral deformities in farmed Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum, 1792) in New Zealand. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 34, n. 2, p. 501-511, 2018.

PERUZZI, S.; WESTGAART, J. I.; CHATAIN, B. Genetic investigation of swimbladder inflation anomalies in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 265, n. 1-4, p. 102-108, 2007.

PIRES, L. B. et al. *Colossoma macropomum* females can reproduce more than once in the same reproductive period. **Anim Reprod Sci**, Jul 22 2018. ISSN 1873-2232 (Electronic)

0378-4320 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30064825> >.

PIRES, L. B. et al. Semen characteristics of *Colossoma macropomum* from three successive sample collections in the same reproductive cycle. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 9, p. 1-7, 2017.

PORTO, M. O. et al. Performance of Juvenile tambaqui in cage, under different feed rates. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 2, p. 1-7, 2018.

RIVERO-WENDT, C. L. G. et al. Steroid androgen 17 β -methyltestosterone induces malformations and biochemical alterations in zebrafish embryos. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 44, p. 107-113, 2016.

ROHLF, F. J. **TPSDig**. State University of New York at Stony Brook: Department of Ecology and Evolution 2001.

_____. **tpsUtil, file utility program**. State University of New York at Stony Brook: Department of Ecology and Evolution 2008.

ROUBACH, R.; SAINT-PAUL, U. Use of fruits and seeds from Amazonian inundated forests in feeding trials with *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Pisces, Characidae). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 10, p. 134-140, 1994.

ROY, P. K.; LALL, S. P. Vitamin K deficiency inhibits mineralization and enhances deformity in vertebrae of haddock *Melanogrammus aeglefinus* L.). **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 148, n. 2, p. 174-183, 2007.

ROY, P. K. et al. Effects of dietary phosphorus on bone growth and mineralisation of vertebrae in haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 27, p. 35-48, 2002.

SAINT-PAUL, U. Physiological adaptation to hypoxia of a neotropical characoid fish *Colossoma macropomum*, Serrasalminidae. **Environmental Biology of Fishes**, v. 11, n. 1, p. 53-62, 1984.

SANCHES, E. G.; MELLO, G. L.; AMARAL JR., H. Primeira Ocorrência De Malformação Na Coluna Vertebral Em Juvenis De Robalo-Flecha. **Boletim do Instituto Pesca de São Paulo**, v. 39, n. 1, p. 77-83, 2013.

SATO, L. S. et al. Triploidy in tambaqui *Colossoma macropomum* identified by chromosomes of fish larvae. 2020.

SAWAYAMA, E.; TAKAGI, M. Genetic investigation of artificially raised red sea bream with abnormal vertebrae formation. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 78, n. 1, p. 62-68, 2012.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, p. 671-675, 2012.

SHIOTSUKI, L. et al. Fundação das bases genéticas para um futuro Programa de Melhoramento de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture Brasil**, v. 17, p. 11-14, 2019.

SOUSA, R. G. C. et al. Effects of mechanical aeration on tambaqui farming (*Colossoma macropomum*) in excavated tanks. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 5, n. 3, p. 122-128, 2017.

SOUZA, F. N. et al. Ovopel® and carp pituitary extract for induction of reproduction in *Colossoma macropomum* females. **Animal Reproduction Science**, May 4 2018. ISSN 1873-2232 (Electronic) 0378-4320 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29753535> >.

SULLIVAN, M. et al. Spinal deformation in commercially cultured Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: a clinical and radiological study. **Journal of Fish Diseases**, v. 30, n. 12, p. 745-752, 2007.

TIWARY, B. K.; RAY, A. K. Alterations in air-sac and skeleton of triploid *Heteropneustes fossilis*. **Journal of Fish Biology**, v. 64, p. 268–272, 2004.

TOFTEN, H.; JOBLING, M. Development of spinal deformities in Atlantic salmon and Arctic charr fed diets supplemented with oxytetracycline. **Journal of Fish Biology**, v. 49, p. 668-677, 1996.

WITTEN, P. E. et al. Towards a classification and an understanding of developmental relationships of vertebral body malformations in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, v. 295, n. 1-2, p. 6-14, 2009. ISSN 00448486.

WOYNÁROVICH, A.; ANROOY, R. V. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). **Food And Agriculture Organization Of The United Nations**, 2019.