

DESAFIOS NO RECONHECIMENTO DO SEXO EM PIRARUCU (*Arapaima gigas*): UMA REVISÃO DA LITERATURA

CHALLENGES IN THE RECOGNITION OF SEX IN PIRARUCU (*Arapaima gigas*): A LITERATURE REVIEW

Claudinei Xavier de Souza¹

¹Licenciado em Ciências Biológicas pela Fundação Universidade Federal de Rondônia - UNIR, Especialista em Ensino de Biologia, pela Faculdade de Venda Nova do Imigrante - FAVENI, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Conservação e Uso de Recursos Naturais, da Fundação Universidade Federal de Rondônia - UNIR.

<https://doi.org/10.37157/fimca.v7i2.115>

RESUMO

O pirarucu, é o maior peixe de água doce da América do Sul, com um enorme potencial para a piscicultura, portanto um manejo adequado proporciona um melhor aproveitamento comercial. Esse peixe possui uma aparente ausência de dimorfismo juntamente com um comportamento reprodutivo que requer maiores cuidados para a criação. A existência da dificuldade para identificação de gênero nessa espécie fez com que pesquisadores se esforçassem para criar um protocolo de sexagem que viesse facilitar o manejo. Este artigo visa apresentar os estudos realizados sobre o tema nos últimos 60 anos, que tiveram uma abordagem morfológica, fisiológica e molecular.

Palavras chave: *Arapaima gigas*, piscicultura, gênero, determinação de sexo, sexagem.

ABSTRACT

Pirarucu is the largest freshwater fish in South America, with enormous potential for fish farming, so proper management provides better commercial use. This fish has an apparent lack of dimorphism along with a reproductive behavior that requires greater care in breeding. The existence of the difficulty in identifying the genus in this species caused researchers to strive to create a sexing protocol that would facilitate management. This article aims to present the studies carried out on the subject in the last 60 years, which had a morphological, physiological and molecular approach.

Key words: *Arapaima gigas*, aquiculture, gender, sex determination, sexing.

INTRODUÇÃO

O Brasil, em 2019, alcançou a marca de 758.006 toneladas de peixes produzidos por piscicultura. Desses, 288.042,3 toneladas são de peixes nativos do país, sendo o estado de Rondônia o maior produtor, com 68.800 toneladas (PEIXEBR, 2020). Entre os peixes nativos do país está o pirarucu com uma produção de 1.892.650 Kg, sendo Rondônia responsável por 979.457 kg (IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2020).

No final dos 60 e início dos 70 anos, iniciou-se a criação de pirarucu em lagoas na região sudeste no Peru, entretanto no final da década de 70 por ocorrência de enchentes pequenos rios locais entraram em contato com os criadouros e muitos espécimes e estes acabaram por fugir, e por falta de predadores, desconhecimento do peixe por parte dos pescadores e do mercado local o mesmo teve sua expansão e multiplicação facilitada pelos rios peruanos e Bolivianos (MÉNDEZ *et al.*, 2012).

Os resultados da invasão do pirarucu, não ficaram apenas restrito aos rios bolivianos chegando ao Rio Madeira, mas especificamente a Jusante da das UHs de Jirau e Santo Antônio, onde não havia relato de sua aparição antes da década de 80, sendo que estudos recentes demonstraram que a ocorrência do mesmo se dava como uma espécie invasora (DORIA *et al.*, 2020). Mesmo com esses acontecimentos o pirarucu continua na lista da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens Ameaçadas de Extinção (CITES).

O *Arapaima gigas*, um peixe tropical encontrado na Amazônia que é conhecido como pirarucu no Brasil e como paiche no Peru, sendo que, quando em ambiente natural, habita em lagos, planícies alagadas e rios lânticos (CASTELLO, 2008a, b).

O pirarucu, em sua fase adulta, pode alcançar comprimento superior a 2,5 m e massa corporal que ultrapassa 140 kg. Por

este motivo é reconhecido como o maior peixe de água doce do planeta (SAINT-PAUL, 1986). Além do seu tamanho, traz consigo outras vantagens que lhe dão alto valor comercial e grande potencial dentro da piscicultura, tais como o aproveitamento da sua carcaça, na ordem 57%, e um rápido crescimento no primeiro ano de vida, podendo alcançar 10 kg (IMBIRIBA, 2001), além de possuir uma carne sem espinhos intramusculares, de ótimo sabor, baixa quantidade de gordura podendo ser seca e salgada o que facilita seu armazenamento (FONTENELE, 1948; IMBIRIBA, 2001, 1991).

O manejo adequado está diretamente vinculado a uma boa produção tanto dentro da piscicultura (LIMA *et al.*, 2017) quanto em áreas naturais (AMARAL, E.; ALMEIDA, 2013). Dessa forma, é essencial o conhecimento de todas as características biológicas e comportamentais da espécie cultivada, para, assim, se conseguir bons resultados de produtividade. No caso do pirarucu, essas características são bem particulares, como por exemplo quanto aos hábitos reprodutivos, ocorrendo a formação de casais e a construção ninhos. Outra característica marcante na espécie é o cuidado parental realizado pelo casal, entretanto durante o processo de migração lateral, que ocorre no período das cheias dos rios amazônicos, prepondera o cuidado do macho (CASTELLO, 2008a, b). A formação de casais do *Arapaima gigas* cria uma necessidade de manter uma equidade entre machos e fêmeas no momento do manejo reprodutivo (LIMA, 2018). Todavia a espécie apresenta uma impressionante ausência de dimorfismo sexual, prejudicando o reconhecimento de gênero, com dificuldades voltadas ao nível morfológico e genético, pois em algum ponto da evolução os cromossomos sexuais foram perdidos (MARQUES; VENERE; GALETTI JUNIOR, 2006).

O pirarucu não apresenta diferenças morfológicas distintas entre machos e fêmeas nos estágios de alevino e juvenis, mas apresenta sutis diferenças na fase adulta, como uma pequena

faixa lateral avermelhada na lateral do corpo próximo ao período da escolha de parceiros de reprodução, que acontece perto dos cinco anos de vida, assunto que será tratado no escopo deste artigo (CHU-KOO *et al.*, 2009; IMBIRIBA, 2001).

O reconhecimento sexual nos estágios iniciais de vida do alevino contribuiria com uma distribuição mais equitativa por gênero, e devido as características reprodutivas da espécie, esta distribuição aumentaria as chances do sucesso reprodutivo e do crescimento populacional tanto em ambiente natural quanto em cativeiro.

Os desafios encontrados no reconhecimento sexual geraram a necessidade de criação de um protocolo de sexagem, e, por isso, esta proposta de uma revisão bibliográfica com intuito de apresentar os principais relatos científicos relacionados ao assunto, e demonstrar que a sexagem no estágio inicial de alevinos ainda necessitam de mais estudos.

Considerando que o problema foi analisado de diferentes formas e iremos aqui tratar da sexagem com base nas seguintes áreas: Morfologia, Fisiologia e Biologia Molecular.

METODOLOGIA

Este artigo trata de um estudo de revisão bibliográfica sobre a definição de gênero em peixes da espécie *Arapaima gigas*, utilizando como base de pesquisa artigos científicos sobre o assunto, que foram obtidos por meio de pesquisa no Portal de Periódicos CAPES/MEC, via direta ao banco de dados online: SCIELO (Scientific Electronic Library Online), usando os seguintes descritores em Ciências Biológicas e Agrárias: Arapaima definition of gender, Arapaima definition of sex, Arapaima reproductive aspects, Arapaima gonadal development.

Os critérios de inclusão utilizados neste estudo foram: artigos em português e inglês, do ano de 1980 até o ano de 2020, e todos de forma integral. Os critérios para exclusão foram: publicações fora do período estipulado, citado anteriormente, e sem acesso ao conteúdo de forma integral. Foram rastreados 20 artigos, 01 artigo foi desconsiderado por ser uma pré-publicação e 19 foram utilizados para a revisão.

REVISÃO DA LITERATURA

Identificação de sexo via análise gonadal

Os aspectos reprodutivos do *Arapaima gigas* tiveram seus estudos iniciais em um sistema fechado de açudes nordestinos, no final dos anos 40 e início dos anos 50 (FONTENELE, 1948, 1953). Nos anos oitenta, no Peru, foram divulgados estudos sobre a morfologia gonadal de fêmeas e seus estágios de desenvolvimento (FLORES, 1980), sendo complementado, em 2005, com uma descrição demonstrando desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas (GODINHO *et al.*, 2005). Em 2020, estudos demonstraram que a formação de ovariana ocorre primeiro que a formação testicular (AMARAL *et al.*, 2020).

As gônadas dessa espécie sofrem uma série de transformações até diferenciarem-se em testículo ou ovário, sendo que o desenvolvimento ocorre apenas da gônada esquerda (FONTENELE, 1948; MIGDALSKI, 1957; GODINHO *et al.*, 2005; LOPES; QUEIROZ, 2009), a direita é ausente ou é atrofiada.

Os estudos do desenvolvimento gonadal do pirarucu trouxeram à luz uma série de informações sobre as características

reprodutivas e a morfologia do gênero, entretanto esses estudos foram realizados em espécimes não-vivas, o que não auxilia no planejamento do manejo. Por outro lado, essas informações serviram de base para as técnicas de reconhecimento de sexo em espécies *in vivo*, quando o desenvolvimento tecnológico tornou possível a utilização de equipamentos endoscópicos e de ultrassonografia.

Em 1986, no Canadá, com o intuito de melhorar o manejo reprodutivo de trutas do ártico (*Salvelinus alpinus*), pesquisadores utilizaram um aparelho de endoscópio para a identificação de gênero da espécie (ORTENBURGER; JANSEN; WHYTE, 1996), técnica que foi utilizada também em 2005, nos Estados Unidos, em duas espécies de esturção: *Scaphirhynchus albus* (Forbes & Richardson) e *Scaphirhynchus platyrhynchus* (Rafinesque) (WILDHABER *et al.*, 2005).

No Brasil, a técnica laparoscópica foi adaptada para a utilização em *A. gigas* com a criação de um protocolo de anestesia, usando clorofórmio como anestésico, dado ao tipo característico de respiração utilizado pela espécie.

O procedimento laparoscópico obteve imagens de alta qualidade e precisão o permitiu identificar de forma as gônadas e femininas e masculinas de espécimes muito jovens de *A. gigas*, o método é invasivo, entretanto se for realizado por alguém capacitado, poderá ser de grande auxílio no manejo de produção de alevinos. Nesse mesmo experimento, foi utilizada uma forma adicional para testar a sexagem dos peixes, a ultrassonografia (CARREIRO *et al.*, 2011).

Em 2016, ocorreram inovações tecnológicas como o surgimento de endoscópios mais modernos e compactos. Dessa forma, foi possível criar técnicas menos invasivas utilizadas em estudos em 2016 (TORATI *et al.*, 2016), validada por outro estudo em 2019 (TORATI *et al.*, 2019), com resultados similares aos estudos de Carreiro (2011).

Identificação de sexo por coloração externa

A população ribeirinha tem uma convivência com o pescado existente nos rios amazônicos, tendo dependência dele (FABRE; ALONSO, 1998).

Os pescadores tradicionais, ao longo da sua história, conseguiram observar e compreender eventos naturais e muitas vezes usar esse conhecimento ao seu favor (PANTOJA *et al.*, 2020; ZACARDI, 2020). Destacamos aqui, a ajuda desse povo à ciência com as informações recolhidas ao longo do tempo.

A ausência de um dimorfismo sexual no pirarucu (CHU-KOO *et al.*, 2009; IMBIRIBA, 2001) fez com que se abrisse uma busca por um método de reconhecimento de gênero da espécie, levando os pesquisadores a realizarem um estudo junto aos pescadores da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá – RDSM sobre reconhecimento de sexo, utilizando como padrão a coloração das escamas (LOPES; QUEIROZ, 2010). Infelizmente, a acurácia de acertos entre os pescadores foi muito baixa. Em 2020, uma técnica também com padrões de cores de escama foi utilizada, entretanto, ao invés de contar com o reconhecimento visual de um pescador tradicional como no estudo anterior, foi elaborado um protocolo utilizando-se a contagem de escamas a partir da cabeça do peixe como padrão diferencial entre machos e fêmeas (LIMA; RODRIGUES ALVES; SIMON TORATI, 2020). Os resultados foram satisfatórios, com uma média de

79% de acertos, sendo 72% de acertos para os machos e 82% para as fêmeas.

Identificação por meio de marcadores bioquímicos

O uso de biomarcadores em peixes é algo que vem sendo utilizado como base para os mais diversos estudos, como por exemplo de avaliações de estresse oxidativo (PASCUAL *et al.*, 2003), ação das filoquinonas, 2-metil-3-fitol-1,4-naftoquinona e menaquinonas na reprodução de teleosteis (BEATO; TOLEDO-SOLÍS; FERNÁNDEZ, 2020) e, também, para o presente artigo na identificação de sexo em *A. gigas* (CUVIER; SCHINZ, 1821).

A glicoproteína vitelogenina (VTG) faz parte de um grupo de proteínas encontradas no plasma do sangue de fêmeas e a sua presença no pirarucu indica que o espécime pertence ao gênero feminino. Nesse exame sua purificação foi realizada por meio de eletroeluição de material colhido após a realização de eletroforese em gel de poliacrilamida, sendo este um experimento realizado na forma de ensaio em 2008 (DUGUÉ *et al.*, 2008) e certificado em 2009 (CHU-KOO *et al.*, 2009), que obtiveram ótimos resultados de identificação.

Este método logrou resultados quanto a identificação e contribuiu para aumento do conhecimento sobre a fisiologia do *A. gigas*, entretanto sua viabilidade em campo ou em uso de piscicultura torna-se frágil, dado que foi necessário sacrificar os peixes para realizar a análise.

Identificação por meio de marcadores genéticos

Esforços dentro da genética para a sexagem do *A. gigas* iniciaram pela caracterização cromossômica (MARQUES; VENERÉ; GALETTI JUNIOR, 2006), demonstrando nesta caracterização que ele não possui dimorfismo sexual aparente (IMBIRIBA, 2001, 1991).

Os marcadores moleculares para sexagem de peixes foram utilizados em diversos estudos com uma variedade de espécies, tais como a tilápia, *Oreochromis niloticus* (LEE; DONALDSON, 2001), o bagre amarelo, *Pelteobagrus fulvdraco* (WANG *et al.*, 2009), pregado, *Psetta máxima* (CASAS; SÁNCHEZ; ORBÁN, 2011). Em *A. gigas*, a primeira técnica de marcadores genéticos a ser utilizada para sexagem foi a análise segregante em massa (BSA), com primers de DNA polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD) (ALMEIDA *et al.*, 2013), uma técnica relativamente barata, mas que os resultados foram pouco reveladores, pois nenhum locus determinante do sexo (SDL), caso exista, foi grande o suficiente para ser localizado. Isto se deve provavelmente a série de modificações sofridas pelos cromossomos ao longo de milhões de anos (LAVOUÉ; SULLIVAN, 2004).

Tabela 1. Genes ativos identificados.

Tecido	Genes ativos ♂	Genes ativos ♀	Genes ativos ♀♂
Fígado	3.066	3.884	2.601
Pele	11.807	2.388	2.623

Em 2018, tecidos do fígado e da pele do *A. gigas* foram utilizados em um estudo baseado em análises transcriptoma *de novo*, utilizando-se sequenciamento de próxima geração (NGS), os resultados foram a identificação de 9.551 genes no fígado e 16.818 genes na pele (WATANABE *et al.*, 2018).

Estes estudos forneceram bons resultados de dimorfismo sexual em pirarucus principalmente em juvenis, com ênfase com resultados obtidos de tecidos da pele.

Em 2019, um estudo utilizou-se da plataforma Illumina para sequenciamento 54% do genoma total de *A. gigas*, de ambos os sexos, foram analisados de 30 RAD-tag que forneceram sequências específicas para machos e para fêmeas (DU *et al.*, 2019). Os resultados obtidos nestes estudos de sequenciamento tem o potencial de servir como base para pesquisas que poderão produzir marcadores moleculares que serão para a sexagem, e auxiliarão na criação de peixes em cativeiro e manejo de estoque selvagem.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao final desta revisão, podemos verificar que os pesquisadores, ao longo dos anos tem utilizado diferentes técnicas para resolver o difícil problema do dimorfismo sexual do pirarucu.

Algumas das técnicas utilizadas podem ser aplicadas apenas em espécimes não vivas (FLORES, 1980; GODINHO *et al.*, 2005) e contribuíram para o entendimento do desenvolvimento morfológica gonadal da espécie.

As técnicas apresentadas neste artigo e que obtiveram êxito no reconhecimento sexual podem ser aplicadas em espécimes adultas e no caso reconhecimento por coloração em adultos no período reprodutivo.

O reconhecimento sexual na fase pode ser mais adequado ao manejo de estoques naturais principalmente se houver a utilização de criadouros, que poderão fornecer as matrizes necessárias dependendo da necessidade da população.

Para o manejo de pirarucu em piscicultura o ideal seria o reconhecimento da sexagem em estágios mais juvenis. O que contribuiria para uma distribuição mais equânime das matrizes, o que poderia contribuir de forma mais efetiva na produtividade.

Com o avanço das inovações tecnológicas e das técnicas de marcadores de DNA espera-se estejamos cada vez mais próximos de solucionarmos esse impasse.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, I.; IANELLA, P.; FARIA, M.; PAIVA, S.; CAETANO, A. Bulk segregant analysis of the pirarucu (*Arapaima gigas*) genome for identification of sex-specific molecular markers. **Genetics and Molecular Research**, vol. 12, no. 4, p. 6299–6308, 2013. DOI 10.4238/2013.December.4.17.
- AMARAL, A. C.; LIMA, A. F.; GANECO-KIRSCHNIK, L. N.; ALMEIDA, F. L. Morphological characterization of pirarucu *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) gonadal differentiation. **Journal of Morphology**, vol. 281, no. 4–5, p. 491–499, 21 Apr. 2020. DOI 10.1002/jmor.21116.
- AMARAL, E.; ALMEIDA, O. PRODUTIVIDADE E EFICIÊNCIA ECOLÓGICA DA PESCA DE PIRARUCU (*Arapaima gigas*) NAS ÁREAS DE MANEJO DAS RESERVAS AMANÁ E MAMIRAUÁ. **Biologia, conservação e manejo participativo de pirarucus na PanAmazônia**. 1ª Edição. Manaus: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, 2013. p. 151–162.
- BEATO, S.; TOLEDO-SOLÍS, F. J.; FERNÁNDEZ, I. Vitamin k in vertebrates' reproduction: Further puzzling pieces of evidence from teleost fish species. **Biomolecules**, vol. 10, no. 9, p. 1–26, 1 Sep. 2020. DOI 10.3390/biom10091303.
- CARREIRO, C. R. P.; FURTADO-NETO, M. A. de A.; MESQUITA, P. E. C.; BEZERRA, T. A. Sex determination in the Giant fish of Amazon Basin, *Arapaima gigas* (Osteoglossiformes, Arapaimatidae), using laparoscopy. **Acta Amazonica**, vol. 41, no. 3, p. 415–419, 2011. DOI 10.1590/S0044-59672011000300012.
- CASAS, L.; SÁNCHEZ, L.; ORBÁN, L. Sex-associated DNA markers from turbot. **Marine Biology Research**, vol. 7, no. 4, p. 378–387, May 2011. DOI 10.1080/17451000.2010.515226.

- CASTELLO, L. Lateral migration of *Arapaima gigas* in floodplains of the Amazon. **Ecology of Freshwater Fish**, vol. 17, no. 1, p. 38–46, 1 Mar. 2008a. DOI 10.1111/j.1600-0633.2007.00255.x.
- CASTELLO, L. Nesting habitat of *Arapaima gigas* (Schinz) in Amazonian floodplains. **Journal of Fish Biology**, vol. 72, no. 6, p. 1520–1528, 1 Apr. 2008b. DOI 10.1111/j.1095-8649.2007.01778.x.
- CHU-KOO, F.; DUGUÉ, R.; ALVÂN AGUILAR, M.; CASANOVA DAZA, A.; ALCANTARA BOCANEGRA, F.; CHÁVEZ VEINTEMILLA, C.; DUPONCHELLE, F.; RENNO, J.-F.; TELLO, S.; NUÑEZ, J. Gender determination in the Paiche or Pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 β -estradiol, and 11-ketotestosterone levels. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, n. 1, p. 125–136, 2009. DOI 10.1007/s10695-008-9211-8.
- CUVIER, G.; SCHINZ, H. **Das Tierreich, eingetheilt nach dem Bau der Thiere als Grundlage ihrer Naturgeschichte und der vergleichenden Anatomie von den Herrn Ritter von Cuvier**. Stuttgart und Tübingen: in der J.G. Cotta'schen Buchhandlung, 1821. DOI 10.5962/bhl.title.120173.
- DORIA, C. R. da C.; CATÂNEO, D. T. B. dos S.; VILARA, G. T.; VITULE, J. R. S. Is there a future for artisanal fishing in the Amazon? The case of *Arapaima gigas*. **Management of Biological Invasions**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2020. DOI 10.3391/mbi.2020.11.1.01.
- DU, K.; WUERTZ, S.; ADOLFI, M.; KNEITZ, S.; STÖCK, M.; OLIVEIRA, M.; NÓBREGA, R.; ORMANN, J.; KLOAS, W.; FERON, R.; KLOPP, C.; PARRINELLO, H.; JOURNOT, L.; HE, S.; POSTLETHWAIT, J.; MEYER, A.; GUIGUEN, Y.; SCHARTL, M. The genome of the arapaima (*Arapaima gigas*) provides insights into gigantism, fast growth and chromosomal sex determination system. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 5293, 2019. DOI 10.1038/s41598-019-41457-x.
- DUGUÉ, R.; CHU-KOO, F.; ALCANTARA, F.; DUPONCHELLE, F.; RENNO, J.-F.; NUÑEZ, J. Purification and assay of *Arapaima gigas* vitellogenin: Potential use for sex determination. **Cybium**, v. 32, n. 2, p. 111, 2008. DOI <https://doi.org/10.26028/cybium/2008-322SP-049>.
- FABRE, N. N.; ALONSO, J. C. Recursos ícticos no Alto Amazonas: sua importância para as populações ribeirinhas. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, sér. Zool.**, v. 14, n. 1, p. 19–55, 1998. Available at: https://www.researchgate.net/profile/Nidia_Fabre/publication/284662378_Recursos_Icticos_no_Alto_Amazonas_Sua_Importancia_para_as_populacoes_ribeirinhas/links/568ddae08ae987e5661cd4/Recursos-Icticos-no-Alto-Amazonas-Sua-Importancia-para-as-populacoes-rib.
- FLORES, H. G. Desarrollo sexual del paiche (*arapaima gigas*) en las zonas reservadas del estado (ríos Pacaya y Samiria) 1971 - 1975. **Informe Instituto del Mar del Peru-Imarpe**, v. 67, p. 1-21p, 1980.
- FONTENELE, O. Contribuição para o conhecimento da biologia do pirarucu, “*Arapaima gigas*” (Cuvier), em cativeiro. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 8, n. 4, p. 445–459, 1948.
- FONTENELE, O. **Hábitos de desova do pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier) e evolução de sua larva**. Fortaleza: Departamento Nacional de Obras Contra as Secas – Serviço de piscicultura, 1953.
- GODINHO, H. P.; SANTOS, J. E.; FORMAGIO, P. S.; GUIMARÃES-CRUZ, R. J. Gonadal morphology and reproductive traits of the Amazonian fish *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Acta Zoologica**, v. 86, n. 4, p. 289–294, 2005. DOI 10.1111/j.1463-6395.2005.00213.x.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da aquicultura, por tipo de produto. 2020. **Tabela 3940**. Available at: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940#resultado>. Accessed on: 2 Dec. 2020.
- IMBIRIBA, E. P. Potencial de criação de Pirarucu, *Arapaima gigas*, em cativeiro. **Acta Amazonica**, v. 31, n. 2, p. 299–299, 2001. DOI 10.1590/1809-43922001312316.
- IMBIRIBA, E. P. Produção e manejo de alevinos de pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier). **Embrapa – CPATU. Circular Técnica 57**, Belém, p. 1-19p, 1991.
- KARLSEN, O.; HOLM, J. Ultrasonography, a non-invasive method for sex determination in cod (*Gadus morhua*). **Journal of Fish Biology**, v. 44, n. 6, p. 965–971, 1994. DOI 10.1111/j.1095-8649.1994.tb01268.x.
- LAVOUÉ, S.; SULLIVAN, J. P. Simultaneous analysis of five molecular markers provides a well-supported phylogenetic hypothesis for the living bony-tongue fishes (Osteoglossomorpha: Teleostei). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 33, n. 1, p. 171–185, 2004. DOI 10.1016/j.ympev.2004.04.021.
- LEE, C. S.; DONALDSON, E. M. General discussion on “Reproductive biotechnology in finfish aquaculture.” **Aquaculture**, v. 197, n. 1–4, p. 303–320, 2001. DOI 10.1016/S0044-8486(01)00591-9.
- LIMA, A. F. The influence of sex ratio on the reproduction of pirarucu, *Arapaima gigas*, in captivity. **Acta Amazonica**, v. 48, n. 1, p. 38–41, 2018. DOI 10.1590/1809-4392201701181.
- LIMA, A. F.; RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, L. K. F. de; MACIEL, P. O.; REZENDE, F. P.; FREITAS, L. E. L. de; TAVARES-DIAS, M.; BEZERRA, T. A. **Alevinagem, recria e engorda de pirarucu**. 1ª Edição. Brasília, 2017. Available at: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1071140>.
- LIMA, A. F.; RODRIGUES ALVES, R.; SIMON TORATI, L. Efficiency of color pattern as a method for sex identification in *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, vol. 15, no. 2, p. 87–92, 2020. .
- LOPES, K.; QUEIROZ, H. L. de. Avaliação do conhecimento tradicional dos pescadores da RDSM aplicado à identificação do sexo de pirarucus. **UAKARI**, v. 5, n. 2, p. 59–66, 2010. DOI 10.31420/uakari.v5i2.67.
- LOPES, K.; QUEIROZ, H. L. Uma revisão das fases de desenvolvimento gonadal de pirarucus *Arapaima gigas* (Achinz, 1822) por meio da análise macroscópica como uma proposta para unificação destes conceitos e sua aplicação prática. **UAKARI**, v. 5, p. 39–48, 2009. DOI 10.31420/uakari.v5i1.53. Available at: <https://uakari.miraua.org.br/UAKARI>.
- MARQUES, D. K.; VENERE, P. C.; GALETTI JUNIOR, P. M. Chromosomal characterization of the bonytongue *Arapaima gigas* (Osteoglossiformes: Arapaimidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 4, n. 2, p. 215–218, 2006. DOI 10.1590/S1679-62252006000200007.
- MARTIN-ROBICHAUD, D. J.; ROMMENS, M. Assessment of sex and evaluation of ovarian maturation of fish using ultrasonography. **Aquaculture Research**, v. 32, n. 2, p. 113–120, 2001. DOI 10.1046/j.1365-2109.2001.00538.x.
- MATTSON, N. S. A new method to determine sex and gonad size in live fishes by using ultrasonography. **Journal of Fish Biology**, v. 39, n. 5, p. 673–677, 1991. DOI 10.1111/j.1095-8649.1991.tb04397.x.
- MÉNDEZ, C. C.; LÓPEZ, G. R.; CARVAJAL-VALLEJOS, F. M.; PEDREDO, R. S.; WOJCHIECHOWSK, J. M. ; VAN DAMME, P. A. Las especies nativas y el paiche (*Arapaima gigas*) - Historia de su introducción en Bolivia. **La cadena de valor del pescado en el norte amazónico de Bolivia Contribución de especies nativas y de una especie introducida (el paiche-Arapaima gigas)**. Edit. PIEB, 2012. p. 44–47.
- MIGDALSKI, E. C. Contribution to the Life History of the South American Fish *Arapaima gigas*. **Copeia**, v. 1957, n. 1, p. 54, 1957. DOI 10.2307/1440526.
- ORTENBURGER, A. I.; JANSEN, M. E.; WHYTE, S. K. Nonsurgical videolaparoscopy for determination of reproductive status of the Arctic charr. **Canadian Veterinary Journal**, v. 37, n. 2, p. 96–100, 1996.
- PANTOJA, G. F.; CORDEIRO, Y. E. M.; SILVA, S. G.; DE SOUSA, R. L. Uso e aplicações medicinais da mamorana (Pachira aquatica Aublet) pelos ribeirinhos de São Lourenço, Igarapé-Miri, estado do Pará, Amazônia. **Interações (Campo Grande)**, v. 21, n. 3, p. 647–662, 2020. DOI 10.20435/inter.v21i3.2146.
- PASCUAL, P.; PEDRAJAS, J. R.; TORIBIO, F.; LÓPEZ-BAREA, J.; PEINADO, J. Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). **Chemico-Biological Interactions**, v. 145, n. 2, p. 191–199, 2003. DOI 10.1016/S0009-2797(03)00002-4.
- PEIXEBR. Anuário. 2020. Available at: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020/>. Accessed on: 11 Oct. 2020.
- SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: A review. **Aquaculture**, v. 54, n. 3, p. 205–240, 1986. DOI 10.1016/0044-8486(86)90329-7.
- SHIELDS, R. J.; DAVENPORT, J.; YOUNG, C.; SMITH, P. L. Oocyte maturation and ovulation in the Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), examined using ultrasonography. **Aquaculture Research**, v. 24, n. 2, p. 181–186, 1993. DOI 10.1111/j.1365-2109.1993.tb00539.x.
- TORATI, L. S.; LIMA, A. F.; KIRSCHNIK, L. N. G.; MIGAUD, H. Endoscopy and Cannulation as Non-Invasive Tools to Identify Sex and Monitor Reproductive Development in *Arapaima gigas*. **Copeia**, v. 107, n. 2, p. 287, 2019. DOI 10.1643/OT-18-127.
- TORATI, L. S.; VARGES, A. P. S.; GALVÃO, J. A. S.; MESQUITA, P. E. C.; MIGAUD, H. Endoscopy application in broodstock management of *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 32, n. 2, p. 353–355, 2016. DOI 10.1111/jai.12988.
- WANG, D.; MAO, H.-L.; CHEN, H.-X.; LIU, H.-Q.; GUI, J.-F. Isolation of Y- and X-linked SCAR markers in yellow catfish and application in the production of all-male populations. **Animal Genetics**, v. 40, n. 6, p. 978–981, 2009. DOI 10.1111/j.1365-2052.2009.01941.x.
- WATANABE, L.; GOMES, F.; VIANE, J.; NUNES, M.; CARDOSO, J.; LIMA, C.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. De novo transcriptome based on nextgeneration sequencing reveals candidate genes with sex-specific expression in *Arapaima gigas* (Schinz, 1822), an ancient Amazonian freshwater fish. **PLoS ONE**, v. 13, n. 10, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206379>.
- WILDHABER, M. L.; PAPOULIAS, D. M.; DELONAY, A. J.; TILLITT, D. E.; BRYAN, J. L.; ANNIS, M. L.; ALLERT, J. A. Gender identification of shovelnose sturgeon using ultrasonic and endoscopic imagery and the application of the method to the pallid sturgeon. **Journal of Fish Biology**, v. 67, n. 1, p. 114–132, 2005. DOI 10.1111/j.0022-1112.2005.00719.x.
- ZACARDI, D. M. A pesca artesanal em áreas de inundação no baixo amazonas, para: técnicas de captura e composição pesqueira. **Aquicultura e Pesca: Adversidades e Resultados 3**. Atena Editora, 2020. p. 1–16. DOI 10.22553/at.ed.7732028051.