



Programa de Pós-graduação
em Recursos Aquáticos
e Pesca

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO-UEMA
CENTRO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
MESTRADO EM RECURSOS AQUÁTICOS E PESCA-PPGRAP

JOSIELMA DOS SANTOS SILVA

**ANÁLISE DA FORMA POR SÉRIES DE FOURIER EM *Prochilodus spp.* NA
ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DA BAIXADA MARANHENSE**

São Luís - MA

2017

JOSIELMA DOS SANTOS SILVA

**ANÁLISE DA FORMA POR SÉRIES DE FOURIER EM *Prochilodus spp.* NA
ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DA BAIXADA MARANHENSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, da Universidade Estadual do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em recursos aquáticos e pesca.

Orientador: Prof. Dr. Audalio Rebelo Torres Júnior

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Raimunda Nonata Fortes
Carvalho Neta

São Luís - MA

2017

JOSIELMA DOS SANTOS SILVA

**ANÁLISE DA FORMA POR SÉRIES DE FOURIER EM *Prochilodus spp.* NA
ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DA BAIXADA MARANHENSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca, da Universidade Estadual do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em recursos aquáticos e pesca.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Audalio Rebelo Torres Júnior
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof. Dr. Anselmo Cardoso de Paiva
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof. Dr. Ícaro Gomes Antônio
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Prof. Dr. Paulo José Duarte Neto
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Silva, Josielma dos Santos.

Análise da forma por séries de Fourier em *Prochilodus ssp.* na Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense / Josielma dos Santos Silva. – São Luís, 2017.

71 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em *Recursos Aquáticos e Pesca*, Universidade Estadual do Maranhão, 2017.

Orientador: Prof. Dr. Audalio Rebelo Torres Júnior.

1. Harmônicos. 2. Padrões de forma. 3. Peixes. I. Título.

CDU 639.21:517.518.45(812.1)

*“Porque Dele e por Ele, e para Ele,
são todas as coisas; glória, pois a Ele
eternamente”*

(Apóstolo Paulo, Bíblia Sagrada)

Dedico este trabalho a todos que me apoiaram direta ou indiretamente durante a sua realização, especialmente a minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, aquele que me dá vida, me manteve de pé nessa caminhada, e me deu a oportunidade de desenvolver este belo trabalho.

A minha família que é o meu local de proteção, descanso e apoio. Agradeço a Deus por todos que estão comigo, meu pai e minhas duas irmãs. Meu pai, Benedito Franco da Silva, um guerreiro que sustentou nossa casa com o suor do seu rosto e que proporcionou uma educação que me trouxe até aqui.

Minha amada mãe, que descansa no Senhor, me ensinou a ser uma filha e serva de Deus; não pude compartilhar fisicamente com ela a alegria da minha graduação e nem desta pós-graduação, porém eu a carrego em minha vida, no meu caráter e nas minhas ações, que refletem quem eu fui e sou através desta linda mulher, dona Maria da Conceição.

Sou grata a Deus por ter convivido com um irmão, alegre que me deu a honra de ser tia de três lindos sobrinhos; também o carrego em minha vida, mesmo não estando mais conosco. Apesar das perdas na vida e na família, temos muitas alegrias, tenho duas lindas irmãs, Josélia Silva e Josinete Silva que sempre me apoiaram e incentivaram nas decisões tomadas na minha vida, inclusive na vida acadêmica. Sou oriunda de uma família grande e abençoada por Deus, só tenho motivos para agradecer a Ele por ela.

O processo da Pós-graduação (mestrado) foi rápido, intenso e em algumas situações exaustivo. Porém, existiu leveza no desenvolvimento deste percurso, pois as pessoas que compartilharam desta jornada comigo me ajudaram e me ensinaram a seguir por este caminho.

Agradeço ao professor Dr. Audalio Rebelo Torres que me orientou nesta caminhada, me ensinando a questionar os fatos, mudar algumas visões científicas e me motivou a desenvolver juntamente com ele este trabalho, que apresenta uma natureza especulativa e inovadora dentro da pesquisa científica.

Sou grata a professora Dra. Raimunda Fortes, que foi minha orientadora na graduação, sendo uma incentivadora para a minha inclusão na Pós-graduação; no mestrado ela assumiu o papel de co-orientadora, sendo responsável por contribuições essenciais nesta pesquisa, pelo suporte laboratorial e financeiro do projeto.

Agradeço a FAPEMA pelo apoio financeiro concedido ao projeto de pesquisa e pelas bolsas de pesquisa. À UEMA pela formação acadêmica ao longo destes 6 anos.

Agradeço ao programa de Pós-graduação em Recursos Aquáticos e Pesca pelas disciplinas ministradas que contribuíram com a minha formação acadêmica. Agradeço especialmente a todos os professores deste programa e as coordenadoras (Débora Santos e Raimunda Fortes).

Agradeço a minha turma de mestrado (PPGRAP 2016), uma excelente turma, composta por Bruna, Lucenilde (minha amiga e companheira de pesquisa de longas datas), Daniele, Allana, Vivian, Thércia, Luíz, Thiago e Ricardo. Essa turma enfrentou em unidade todas

as disciplinas e os trabalhos associados a cada uma. Foi uma turma companheira e alegre, o que nos ajudou a percorrer essa jornada da Pós-graduação com muita leveza. Conquistei amigos novos e fortaleci amizades antigas durante o mestrado, desejo sucesso a cada um.

Durante esta caminhada, muitas pessoas foram importantes para o desenvolvimento deste trabalho: aqueles que dedicaram tempo nos auxiliando nas dúvidas e questionamentos, aqueles que nos acolheram em seus laboratórios de pesquisas, e gostaria de agradecer especialmente a professora Dra. Lígia Tchaika, que me recebeu no Laboratório de Biodiversidade Molecular (LABimol), onde aprendi muito e desenvolvi uma parte especial deste trabalho, agradeço por cada conselho e ajuda de Thércia Monroe e Hanna Gabriela, que me ensinaram os procedimentos do laboratório de genética.

À todos os alunos que fazem parte do Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq) e que também compõem o grupo de estudo GPMAAq, vocês também contribuíram muito nesta pesquisa, me ajudando nas coletas e no processamento; quero destacar os nomes de Lucenilde Freitas, Wanda Batista, Jucimary, Simone, Bárbara, Edvane, Jhébica, Clarice e Tatiane, assim como todos os graduandos, graduados e mestres que compõem este grupo de pesquisa.

Agradeço aqueles que me ajudaram em oração, foram em algumas situações minha válvula de escape da pós-graduação, minhas amigas de todas as horas, Priscila e Kelen, e os que fazem parte do grupo Agir Uema, em especial a Jhully Santos, Rakel Braga, Dayane Froz, Lucas Soares, Bruno Nunes, Aliny, Rafael Reis, Adriano e Rafael Maia, assim como todos os membros deste grupo que são instrumentos de Deus nesta universidade. Obrigada pelas conversas, reuniões e desabafos, que me fizeram manter o foco nas minhas convicções religiosas e acadêmicas.

O resultado de um grande trabalho depende de muito esforço e dedicação, assim como do suporte de pessoas que te orientem na condução do mesmo. Finalizo esta etapa acadêmica tendo a certeza que o conhecimento adquirido foi fruto da contribuição de muitas pessoas, e este conhecimento pode ser capaz de modificar a realidade dos que estão perto e longe de mim. Cabe a mim, como profissional, saber escolher e ter atitudes que possam trazer e fazer o bem, aos que estão perto e longe. **Muito obrigada a todos!**

RESUMO

O propósito neste estudo foi verificar se o método desenvolvido com as séries de Fourier é capaz de identificar e selecionar diferentes padrões de forma e biológicos em *Prochilodus spp.*, capturados na Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense. Os peixes foram amostrados no rio Mearim nos municípios de Arari e Vitória do Mearim, respectivamente nas comunidades pesqueiras, Curral da Igreja e Engenho Grande, durante o período chuvoso e de estiagem. Foi registrada a biometria dos peixes e imageamento para a análise da forma por séries de Fourier. As gônadas foram retiradas e classificadas para a definição dos estádios de maturação gonadal. Os contornos da forma dos peixes foram obtidos por digitalização no programa TpsDig. A forma foi analisada utilizando a Transformada Discreta de Fourier e os harmônicos foram representados em gráficos de modos e espectros; os harmônicos superiores (2º, 3º e 4º) foram representados indicando as variações e as direções de seus ângulos. Foram observados 4 estádios de desenvolvimento gonadal para machos e 3 para fêmeas. A análise da forma por séries de Fourier identificou variações nos diferentes padrões de formas, expressas pelos harmônicos para os peixes de Curral da Igreja e de Engenho Grande. A avaliação dos ângulos do 2º, 3º e 4º harmônicos foi realizada para alguns espécimes, indicando a região do peixe, onde as variações de forma foram percebidas pela análise. As fêmeas apresentaram as maiores variações de padrões de formas, quando comparadas aos machos, pois a maturação de suas gônadas foi responsável por 20% da sua proporção corporal, e nos machos esse valor foi inferior a 2%. Nossos resultados sugerem que a aplicação da análise da forma por séries de Fourier é uma metodologia capaz de identificar os diferentes padrões de formas e biológicos dos peixes avaliados.

Palavras-chave: Harmônicos, Padrões de forma e Peixes.

ABSTRACT

The purpose of this study was to verify if the method developed with the Fourier series is able to identify and select different shape and biological patterns in *Prochilodus* spp. Captured in the Environmental Protection Area, Baixada Maranhense (Maranhão state). The fish were sampled in the Mearim River in the municipalities of Arari and Vitória do Mearim, respectively in the fishing communities, Curral da Igreja and Engenho Grande, during the rainy and dry season. Fish biometry and image analysis for Fourier series were analyzed. The gonads were removed and classified for the definition of stages of gonadal maturation. The shape contours of the fish were obtained by scanning in the TpsDig program. The shape was analyzed using the Discrete Fourier Transform and the harmonics were represented in modes and spectra graphs and; the upper harmonics (2°, 3° and 4°) were represented indicating the variations and directions of their angles. Four stages of gonadal development were observed for males and 3 for females. The analysis of the shape by Fourier series identified variations in the different patterns of shapes, expressed by the harmonics for the Curral da Igreja fish and Engenho Grande. The evaluation of the angles of the 2nd, 3rd and 4th harmonics was reported for some specimens, indicating the fish region, where the shape variations were perceived by the analysis. Females showed the greatest variation in shape patterns when compared to males, since maturation of their gonads was responsible for 20% of their body proportion, and in males this value was less than 2%. Our results suggest that the application of form analysis by Fourier series is a methodology capable of identifying the different patterns of biological forms of fish evaluated.

Key words: Harmonics, Patterns and Fishes.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Delimitação das Bacias Hidrográficas do Estado do Maranhão. **FONTE:** GEPLAN-MA.....22
- Figura 2.** Delimitação dos pontos de coleta (em vermelho), Curral da Igreja e Engenho Grande pertencentes aos municípios de Arari e Vitória do Mearim, que fazem parte da APA da Baixada Maranhense23
- Figura 3.** Vista de um trecho do rio Mearim nos locais de coleta, em (A) comunidade Curral da Igreja (Arari) em (B), Engenho Grande (Vitória do Mearim)24
- Figura 4.** (A) Esquema das medidas biométricas mensuradas (**FONTE:** Elaborado pela autora). (B) Registro do comprimento da cabeça CC a partir de um paquímetro digital de precisão.....25
- Figura 5.** (A) Espécime posicionado para captura da forma; Identificação do peixe ID=1 e Valor de referência em cm (régua). (B) Captura digital da forma dos peixes.....25
- Figura 6.** (A) Digitalização do contorno da forma, através do software TPSDig. (B) Contorno da forma finalizado.....26
- Figura 7.** Etapas da análise e histologia das gônadas. Gônadas maduras dos peixes, machos e fêmeas, respectivamente (A e B); Diferentes concentrações de etanol (C); Inclusão do tecido gonadal em parafina (D e E); Lâminas histológicas, confeccionadas com os cortes dos tecidos gonadais (F) e Análise em microscópio ótico das lâminas (G).....27
- Figura 8.** (A) Contorno da forma de um peixe digitalizado. (B) Contorno de 23 peixes digitalizados.....29
- Figura 9.** (A) Primeiro harmônico do primeiro peixe digitalizado; (B) Primeiro harmônico de todos os peixes digitalizados; (C) Gráfico dos ângulos entre o primeiro harmônico dos peixes digitalizados.....30
- Figura 10.** (A) Representação do primeiro peixe normalizado e rotacionado; (B) Representação de todos os peixes normalizados e rotacionados.....30
- Figura 11.** (A) Representação do contorno da forma de um peixe com o primeiro harmônico, no centro da forma, as elipses do 2, 3 e 4 harmônicos; (B) Representação das elipses dos 2, 3 e 4 harmônicos e (C) Representação da direção dos harmônicos (2, 3 e 4), na forma dos peixes.....31

- Figura 12.** Estádios de maturação gonadal de fêmeas e machos de *Prochilodus spp.* A. Imaturo/Virgem, B; Em maturação/Em desenvolvimento; C. Maduro/Desenvolvido e D. Esvaziado.....34
- Figura 13.** Classificação histológica dos ovários de *Prochilodus spp.* (A) Cortes de um ovário em maturação; (B) Ovário Maduro; (C) Cortes de um ovário esvaziado. Coloração HE.....35
- Figura 14.** Classificação histológica dos testículos de *Prochilodus spp.* (A) Corte de um testículo Imaturo; (B) em maturação; (C) maduro e (D) esvaziado. Coloração HE.....35
- Figura 15.** Exemplares de *Prochilodus lacustris* (A,B,C,D) identificados pela análise genética utilizando o sistema de identificação BOLD.....38
- Figura 16.** Exemplares de *Prochilodus nigricans* (A, B, C, D) identificados pela análise genética utilizando o sistema de identificação BOLD..... 38
- Figura 17.** Sobreposição dos contornos dos peixes com o número de harmônicos. A. Primeiro harmônico sobreposto ao peixe digitalizado; B. Quinto harmônico sobreposto ao peixe digitalizado; C. Décimo harmônico sobreposto ao peixe digitalizado.....39
- Figura 18.** Espectro das 23 fêmeas coletadas em Curral da Igreja, no eixo das abcissas valores que correspondem aos peixes representados pelos IVGs 1 ao 23 e no eixo das ordenadas, os harmônicos de 1 a 10. Os peixes indicados pelos IVGs: 8, 11, 13 e 19 apresentaram alteração na forma indicadas no primeiro harmônico. E os peixes com IVGs: 3,5,7,9,10,14,15,18, 20 e 23 foram representados pelo segundo harmônico.....40
- Figura 19.** Harmônicos das fêmeas de *P.nigricans* de Curral da Igreja destacando os valores que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças nos harmônicos. (A) Peixe indicado no espectro com o IVG:1_ID:29; (B) Peixe indicado no espectro com IVG:2_ID:33; (C) Peixe indicado no espectro com IVG:3_ID:17; (D) Peixe indicado no espectro com IVD:4_ID:35. (E) Harmônicos de todas as fêmeas *P. nigricans*.....42
- Figura 20.** Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG:1_ID:29; (B) Harmônicos do peixe de IVG:2_ID:33; (C) Harmônicos do peixe de IVG:3_ID:17 e (D) Harmônicos do peixe de IVD:4_ID:35.....44
- Figura 21.** Contorno das formas e imagens dos peixes 29, 33, 17 e 35(ID de coleta) que apresentaram variações na análise harmônica, esses organismos são indicados pelo IVG: 1, 2, 3 e 4.....44
- Figura 22.** Harmônicos dos peixes de Curral da Igreja destacando os valores que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 1º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro com o IVD:8_ID:6; (B) Peixe indicado no espectro com IVD:11_ID:54; (C) Peixe indicado no espectro com IVD:13_ID:52; (D) Peixe indicado no espectro com IVD:19_ID:60.....45

Figura 23. Contorno das formas e imagens dos peixes 6, 54, 60 e 71 (ID de coleta) que apresentaram variações na análise, expressas no 1º harmônico avaliado, no espectro esses organismos são indicados pelo IVG: 8, 11, 19 e 23.....46

Figura 24. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG8_ID:6; (B) Harmônicos do peixe de IVG11_ID:54; (C) Harmônicos do peixe de IVG 13_ID:52 e (D) Harmônicos do peixe de IVG19_ID:60.....47

Figura 25. Harmônicos dos peixes de Curral da Igreja destacando os valores que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 2º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro com o IVG:5_ID:7; (B) Peixe indicado no espectro com IVG:12_ID:58; (C) Peixe indicado no espectro com IVG: 14_ID:39; (D) Peixe indicado no espectro com IVG: 21_ID:64.....48

Figura 26. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 5; (B) Harmônicos do peixe de IVG12; (C) Harmônicos do peixe de IVG 14 e (D) Harmônicos do peixe de IVG21.....49

Figura 27. Espectro das 20 fêmeas coletadas em Engenho Grande, no eixo das abcissas os peixes representados pelo IVG: 3 e 11 apresentaram alteração na forma indicadas no primeiro harmônico. E os peixes representados nos IVG: 1,2,4,5,7,8,12,13,15,17,19 e 20 foram indicados no segundo harmônico.....50

Figura 28. Harmônicos dos peixes de Engenho Grande destacando os valores dos harmônicos que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 1º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro IVG:3_ID:15. (B) Peixe indicado no espectro com o IVG:11_ID:8.....51

Figura 29. Contorno das formas e imagens dos peixes 15 e 8 ID (de coleta) que apresentaram variações na análise, expressas no 1º harmônico avaliado, no gráfico do espectro esses organismos são indicados com o IVG: 3 e 11.....51

Figura 30. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 3_ID:15 e (B) Harmônicos do peixe de IVG11_ID:8.....52

Figura 31. Harmônicos dos peixes de Engenho Grande destacando alguns valores que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 2º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro IVG 4_ID 7; (B) Peixe indicado no espectro IVG 8_ID 26; (C) Peixe indicado no espectro IVG 12_ID 34 e (D) Peixe indicado no espectro IVG 17_ID 35.....53

Figura 32. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 4_ID 7; (B) Harmônicos do peixe de IVG 8_ID 26; (C) Harmônicos do peixe de IVG 12_ID 34 e (D) Harmônicos do peixe de IVG 17_ID 35.....54

Figura 33. Espectro dos 57 machos coletados em Curral da Igreja, no eixo das abcissas encontram-se os contornos da forma dos peixes representados pelos IVGs: 10, 11, 26, 27 e 34 apresentaram alteração na forma indicadas no primeiro harmônico. O IVG 26 apresentou alteração no primeiro e segundo harmônico de Fourier e IVG 36 se destacou

no espectro para o segundo harmônico, enquanto que os outros contornos foram representados pelos harmônicos superiores.....55

Figura 34. Harmônicos dos peixes de Curral da igreja destacando os valores dos harmônicos que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 1º harmônico. (A) *P. nigricans* indicado no espectro com o IVG:10_ID:25 (B) *P. nigricans* indicado no espectro com o IVG:11_ID:36. (C) *P. lacustris* indicado no espectro com o IVG:27_ID:8 e (D) *P. lacustris* indicado no espectro com o IVG 34_ID:74.....56

Figura 35. Contorno das formas e imagens dos peixes. (A) *Prochilodus nigricans* IVGs 10 e 11 e IDs 25 e 26. (B) *Prochilodus lacustris* IVGs 27 e 34 e IDs 8 e 74 que apresentaram variações na análise, expressas no 1º harmônico avaliado.....57

Figura 36. Harmônicos dos peixes de Curral da igreja, destacando os valores dos harmônicos que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 2º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro IVG:26_ID:5. (B) Peixe indicado no espectro com o IVG:36_ID:4. (C) Peixe indicado no espectro IVG 49_ID:8 e (D) Peixe indicado no espectro IVG 57_ID:77.....58

Figura 37. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 26_ID 5; (B) Harmônicos do peixe de IVG 36_ID 4; (C) Harmônicos do peixe de IVG 49_ID 8 e (D) Harmônicos do peixe de IVG 57_ID 77.....59

Figura 38. Espectro dos 25 peixes machos coletados em Engenho Grande, no eixo das abcissas encontram-se os contornos da forma do peixe representado pelos IVGs de cada peixe, no primeiro harmônico o IVG:11, foi melhor avaliado, enquanto que os demais foram melhor avaliados pelos IVGs superiores.....60

Figura 39. Harmônicos dos peixes de Engenho Grande, destacando os valores dos harmônicos que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças nos 1º e 2º harmônicos. (A) Peixe indicado no espectro IVG:10_ID:5. (B) Peixe indicado no espectro com o IVG:11_ID:17. (C) Peixe indicado no espectro IVG 18_ID:23 e (D) Peixe indicado no espectro IVG 24_ID:37.....61

Figura 40. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 10_ID:5; (B) Harmônicos do peixe de IVG 11_ID:17; (C) Harmônicos do peixe de IVG 18_ID:23 e (D) Harmônicos do peixe de IVG 24_ID:37.....62

Figura 41. Contorno da forma digitalizada e imagens dos peixes machos de Engenho Grande, IVGs 10,11, 18 e 24, correspondendo aos IDs 5, 17, 23 e 37.....62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados biométricos e teste de Student das fêmeas de *Prochilodus spp.* coletadas em dois pontos do rio Mearim (Curral da igreja e Engenho Grande) pertencentes a APA da Baixada Maranhense, durante a estação chuvosa e seca.....31

Tabela 2: Dados biométricos e teste de Student de machos de *Prochilodus spp.* coletados em dois pontos do rio Mearim (Curral da igreja e Engenho Grande) pertencentes a APA da Baixada Maranhense, durante a estação chuvosa e seca.....32

Tabela 3: Índice gonadosomático (IGS) e Média do peso gonadal (Wg) de fêmeas e machos de *Prochilodus spp.*.....36

Tabela 4. Espécies de *Prochilodus spp.* identificadas com o grau de similaridade entre as sequências genéticas dos peixes com as depositadas no sistema de identificação Bold.....37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1 Análise da Forma por Séries de Fourier.....	19
3.2 Aspectos reprodutivos de <i>Prochilodus spp.</i>	20
4. METODOLOGIA.....	21
4.1. Área de estudo.....	21
4.2 Procedimentos.....	23
4.2.1 Determinação das áreas amostrais na APA da Baixada Maranhense e coleta dos peixes.....	23
4.2.2 Registro dos dados biométricos.....	24
4.2.3 Imageamento e digitalização da forma dos peixes.....	25
4.2.4 Análise e histologia das gônadas.....	26
4.2.5 Identificação genética dos peixes.....	28
4.2.6 Tratamento dos dados.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1 Dados biométricos de <i>Prochilodus spp.</i>	31
5.2 Estádios de maturação de <i>Prochilodus spp.</i>	34
5.4. Identificação genética dos peixes.....	36
5.5 Análise da forma dos peixes.....	39
6. CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS.....	66

1 INTRODUÇÃO

A riqueza de formas corporais dos peixes, nos desperta para um relacionamento entre arte e biologia. Muitos profissionais dessas duas áreas, buscaram inspiração na natureza para suas criações. Os peixes geralmente apresentam uma forma com simetria bilateral, com exceção de alguns assimétricos, como por exemplo o peixe linguado (BEMVENUTI; FISCHER, 2010). As formas predominantes na natureza são a fusiforme, achatada lateralmente, achatada dorso-ventralmente, anguliforme, globular e outras formas não definidas, exemplo dos cavalos-marinhos (BEMVENUTI; FISCHER, 2010).

Essa diversidade de formatos exige do observador uma percepção e interpretação visual da forma, expressando uma associação entre artes visuais e ciência. Historicamente esse relacionamento existe desde antes do Renascimento e continua até hoje; um ponto em comum entre essas áreas é o uso das ilustrações naturalistas, utilizadas para representar as espécies e as interações do homem com a natureza (PARRILHA DA SILVA; DANHONI NEVES, 2015).

Os registros históricos das pinturas rupestres, das obras de artes do período naturalista, assim como as ilustrações e representações de espécies realizadas por Charles Darwin, foram alguns exemplos da percepção das formas. Recentemente o uso de fotografias, vídeos, animações, encenações e experimentação, são utilizados na biologia e na arte, mantendo o vínculo entre essas áreas (PARRILHA DA SILVA; DANHONI NEVES, 2015).

Na tentativa de avaliar as variações de formas, frequentemente os estudos em biologia, utilizam a morfometria que visa identificar as métricas obtidas das diferentes formas, com enfoque nas variações anatômicas e ou descrição ecológica das espécies (MONTEIRO; REIS, 1999; ADAMS; ROHLF; SLICE, 2004).

Em alguns trabalhos, as séries elípticas de Fourier, são aplicadas para obter informações da forma de um objeto, utilizando uma função decomposta em harmônicos de senos e cossenos. Em biologia de peixes as séries de Fourier são muito utilizadas em estudos sobre a forma de otólitos (LESTREL, 1997; FERGUSON, *et al.*, 2011; LESTREL, 2015; RODGVELLER *et al.*, 2017).

As análises que usam as séries de Fourier poderão auxiliar na identificação dos diferentes padrões de forma dos peixes e relacioná-los com aspectos fisiológicos e biológicos, pois os peixes apresentam semelhanças morfológicas entre as espécies

pertencentes ao mesmo gênero, sendo classificados por meio de caracteres morfológicos (CASTRO; VARI, 2003). No entanto, existe uma carência de informações sobre alguns gêneros, tais como os da família Prochilodontidae (MELO et al., 2016). Essa falta de definição advém da notável semelhança morfológica entre as espécies dentro de cada gênero, que usualmente são diferenciados por caracteres merísticos (MELO et al., 2016).

Outras aplicações em estudos com a série de Fourier, podem ser encontradas em processamento computacional de imagens para o reconhecimento de padrões da forma dos peixes (ZHANG; LU, 2001; GHOSH *et al.*, 2013). Em Biologia são amplamente usados em animais e estruturas biológicas como escamas, otólitos, asas de insetos, crânio, mandíbula (KUHL; GIARDINA, 1982; FERGUSON *et al.*, 2011; LESTREL, 2015; SOUTO; GADOTTI, 2016). Porém, na forma corporal dos peixes esta é uma abordagem interessante e alternativa por se tratar de uma metodologia menos invasiva que não causa necessariamente a morte dos organismos estudados.

As principais implicações de se estudar a forma dos peixes consistem em ampliar o entendimento dos diferentes padrões de formato corporal e dos aspectos biológicos, tendo como exemplo o desenvolvimento gonadal e os diferentes estádios de maturação. Essas informações, sobre as formas, podem ser úteis para auxiliar na interpretação de respostas fisiológicas, como a reprodução, ajudando na definição do período de “defeso da pesca” dos peixes, com futuras implicações na conservação destas espécies e assim como nas práticas de manejo em piscicultura, proporcionando um manejo mais adequado para os peixes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Verificar se o método desenvolvido com as séries de Fourier é capaz de identificar e selecionar os diferentes padrões de forma e biológicos em *Prochilodus spp*, capturados na área de proteção ambiental da baixada maranhense.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Classificar, a partir de séries de Fourier, os estádios de maturação gonadal dos peixes dos municípios de Vitória do Mearim e Arari com base em duas descrições propostas na literatura;

- ✓ Realizar a análise da forma por séries de Fourier com os exemplares dos peixes coletados;
- ✓ Buscar relações entre os padrões biológicos e parâmetros da análise da forma por séries de Fourier.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Análise da Forma por Séries de Fourier

Observar a forma de um determinado objeto ou organismo é uma prática antiga, que tem sido adotado por muitos, em diferentes campos da Ciência: exatas, naturais, humanas, sociais, arte ou na filosofia. Esses estudos geralmente referem-se a forma e ao tamanho de um objeto, sendo extremamente importante definir previamente ambos os termos (LOMBARDE; TUSET, 2015). O tamanho é a relação absoluta ou relativa entre duas proporções e se expressa com unidades de medidas; enquanto forma é a configuração de um objeto, que se expressa por meio da geometria (LOMBARDE; TUSET, 2015).

Os coeficientes ou harmônicos de Fourier têm sido utilizados para o reconhecimento da forma de objetos e organismos, como insetos, peixes e estruturas biológicas, como otólitos, crânios e escamas (ROHLF; ARCHIE 1984; FERGUSON *et al.*, 2011; LOMBARDE; TUSET, 2015).

Em 1822 o matemático Jean Batiste Fourier propôs uma série convergente, uma função com uma combinação infinita de senos e cossenos, que se ajusta a qualquer função independentemente das descontinuidades ou singularidades das mesmas; essa série herdou seu nome sendo conhecida como série de Fourier (LESTREL, 2015; SOUTO; GADOTTI, 2016).

As séries de Fourier são compostas de termos sinusoidais, senos e cossenos, que, quando somados, convergem para a forma, que são usados para demarcar seus contornos, levando em consideração o número de termos (harmônicos) definidos para as formas (LESTREL, 2015). A série discreta de Fourier ou transformada discreta de Fourier (TDF), representada com uma formulação cartesiana é apresentada a seguir:

$$f(x) = a_0 + \sum_{n=1}^N \alpha_n \cos nx + \sum_{n=1}^N b_n \sin nx$$

Onde a_0 é a constante ou média, a_n e b_n são os coeficientes de Fourier, n é o número do harmônico, x refere-se ao domínio ao longo do eixo das abscissas (x) e N é o número máximo de harmônicos utilizados (LESTREL, 2015).

A análise harmônica refere-se à decomposição de uma série em componentes sinusoidais múltiplos internos que descrevem as feições associadas aos comprimentos ou qualquer caráter da forma avaliada (LESTREL, 2015).

Esta técnica, baseia-se no método da TDF que geralmente tem sido aplicado às análises das formas biológicas, tais como otólitos (FERGUSON *et al.*, 2011), asas de insetos (KUHLE; GIARDINA, 1982) e estudos com aplicações em peixes (LESTREL, 2015; SOUTO; GADOTTI, 2016; TORRES JÚNIOR *et al.*, 2017).

Os avanços científicos com a TDF foram aplicados aos dados biológicos de periodicidade e foram úteis até a década de 1950, e posteriormente, em 1970, as aplicações abordavam o enfoque da forma das estruturas e organismos (LESTREL, 2015). Em 1982 Kuhl e Giardina utilizaram as séries de Fourier ao estudo dos contornos fechados, permitindo explorar as diferentes formas, ampliando assim as pesquisas científicas (KUHLE; GIARDINA, 1982; LESTREL, 2015).

O uso das séries de Fourier tem muitas implicações. No campo das Ciências Biológicas são utilizados em análises associadas à forma de estruturas ou organismos, para o entendimento da ecomorfologia, ecologia e ontologia dos organismos (KUHLE; GIARDINA, 1982; FERGUSON *et al.*, 2011; RUSSO; SCARDI; CAUTADELLA, 2014; LESTREL, 2015; SOUTO; GADOTTI, 2016; TORRES JÚNIOR *et al.*, 2017).

A análise da forma com as séries de Fourier foi aplicada neste estudo com a finalidade de detectar e ou distinguir os diferentes padrões de forma dos peixes, tais como os diferentes estádios de maturação sexual.

3.2 Aspectos reprodutivos de *Prochilodus spp.*

Os peixes selecionados para este estudo apresentam como característica em sua fisiologia e aspectos biológicos o crescimento das gônadas femininas a ponto de deformar o peixe. Esse comportamento nos instigou a investigar os diferentes padrões de formas. Durante o período reprodutivo das curimatás acontece a maturação das gônadas proporcionando uma grande diferenciação entre os machos e fêmeas (ANDRADE *et al.*, 2015). Embora, não exista dimorfismo sexual definido no grupo, a época reprodutiva

permite esta separação, visto que as fêmeas, em sua maioria, são maiores e possuem a região ventral abaulada em detrimento da maturação das gônadas e compressão dos órgãos internos (NASCIMENTO *et al.*, 2012; ANDRADE *et al.*, 2015).

Os peixes da família Prochilodontidae que fazem parte da ordem Characiformes, encontram-se distribuídos por toda América do Sul, com ocorrência nas bacias hidrográficas do território nacional, destacando-se por sua representatividade na pesca comercial e artesanal da região neotropical; esta família distribui-se nos gêneros *Prochilodus* (Agassiz, 1829), *Semaprochilodus* (Fowler, 1941), e *Ichthyoelephas* (Posada Arango, 1909) (CASTRO *et al.*, 2003; CASTRO; VARI, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2011; MELO *et al.*, 2013; MOTA *et al.*, 2014).

O gênero *Prochilodus* é composto de espécies que apresentam características morfológicas distintas como a presença de fileiras de dentes falciformes ou espatulados e maxilas superiores e inferiores que se estendem e projetam-se externamente auxiliando na sua alimentação detritívora (CASTRO *et al.*, 2003; CASTRO; VARI, 2004).

A família Prochilodontidae popularmente conhecida como curimbatás, curimatás, curimatã, é composta por um grupo de peixes reofílicos, espécies migratórias que percorrem grandes trajetos até as áreas de reprodução onde desovam nas águas abertas; esta etapa do seu ciclo de vida também é conhecida por piracema (ARAÚJO *et al.*, 2003; RAMOS *et al.*, 2010; MELO *et al.*, 2016).

As alterações na forma dos peixes, de um modo geral, são estudadas com um enfoque taxonômico e ecológico, porém, o aspecto reprodutivo ainda carece de mais investigações científicas que definam os padrões da forma desses organismos durante o período da reprodução.

4 METODOLOGIA

4.1 Área de estudo

A APA da Baixada Maranhense é importante do ponto de vista ecológico, pois seu território se caracteriza por planícies inundáveis, que constituem a formação de lagos durante o período chuvoso, representando um dos maiores sistemas lacustres do país, abastecido pela bacia hidrográfica do Rio Mearim (Fig.1) (CARVALHO-NETA *et al.*, 2015). É uma zona úmida de interesse internacional protegida pela Convenção de Ramsar que tem como propósito primordial preservar e conservar as áreas úmidas mundiais e sua

biodiversidade (CARVALHO-NETA *et al.*, 2015; RAMSAR CONVENTION SECRETARIAT, 2017).



Figura 1. Delimitação das Bacias Hidrográficas do Estado do Maranhão. **FONTE:** GEPLAN-MA, 2017.

A APA da Baixada Maranhense foi implementada pelo Governo Estadual, em 11 de junho de 1991 a partir do Decreto nº 11.900, localiza-se na porção norte do estado maranhense, sendo composta por 35 municípios, incluindo Arari e Vitória do Mearim (MARANHÃO, 1991; SILVA; MOURA, 2004; CARVALHO-NETA *et al.*, 2015; IBGE, 2016; RAMSAR CONVENTION SECRETARIAT, 2017).

Os municípios de Arari e Vitória do Mearim apresentam respectivamente uma população de 29.200 habitantes com uma área total de 1.100,275 km² e 32.046 habitantes com uma área total de 716,719 km², sendo que ambos são banhados pelo rio Mearim (IBGE, 2016). O desenvolvimento do presente estudo foi realizado em dois pontos distintos do rio Mearim apresentados na figura 2.

O primeiro encontra-se na cidade de Arari, em uma comunidade pesqueira conhecida como Curral da Igreja (03° 27' 64.1"S, 044° 46' 79.7"O); o segundo, encontra-

se na cidade de Vitória do Mearim, na comunidade Engenho Grande (03° 27' 64.1"S, 044° 46' 79.7"O).

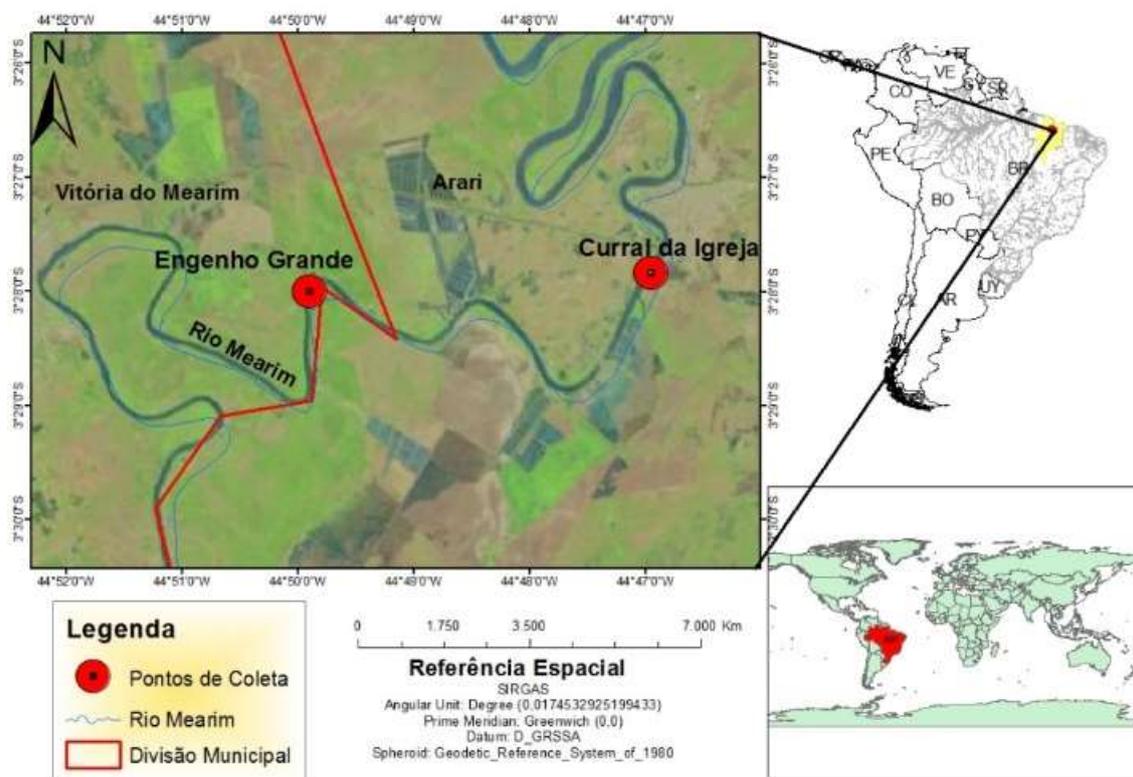


Figura 2. Delimitação dos pontos de coleta (em vermelho), Comunidades Curral da Igreja e Engenho Grande pertencentes aos municípios de Arari e Vitória do Mearim, que fazem parte da APA da Baixada Maranhense.

4.2 Procedimentos

4.2.1 Determinação das áreas amostrais na APA da Baixada Maranhense e coleta dos peixes

Os peixes foram coletados na APA da Baixada Maranhense nos seguintes locais: a) Arari (Comunidade Curral da Igreja); b) Vitória do Mearim (Comunidade de Engenho Grande) (Fig.3). Os locais de coletas foram georreferenciados por GPS (*Global Position System*). Os peixes foram capturados trimestralmente no período de estiagem e no período chuvoso de 2016/2017 com redes de emalhar. Foram realizadas 5 coletas, totalizando 125 exemplares de Curimatás, 80 espécimes em Curral da Igreja e 45 em Engenho Grande.

No planejamento das coletas os pesquisadores agendavam uma data com um pescador de cada comunidade que capturava previamente os organismos. Os peixes

coletados foram armazenados em caixas de isopor contendo gelo. Após as coletas, os indivíduos foram mantidos refrigerados em laboratório até o processamento: biometria, captura digital, observação e extração das gônadas e extração de amostra do tecido muscular, realizados no mesmo dia em laboratório.



Figura 3. Trechos do rio Mearim nos locais de coleta (A) comunidade Curral da Igreja (Arari) em (B), Engenho Grande (Vitória do Mearim).

4.2.2 Registro dos dados biométricos

Após as coletas os peixes foram transportados para a Universidade Estadual do Maranhão – (UEMA) e analisados no Laboratório de Biomarcadores em Organismos Aquáticos (LABOAq). Os espécimes foram numerados para o registro da biometria (Fig.4) medidos dados como: comprimento total (LT), comprimento padrão (LP), comprimento furcal (LF), comprimento da cabeça (CC), diâmetro do olho (DO), altura da cabeça (AC), comprimento do focinho (CFo), altura da linha do olho (ALo), altura máxima do corpo (AMC), comprimento do pedúnculo (CPe), altura do pedúnculo (APe), largura do pedúnculo (LPe), peso total (WT) e peso das gônadas (WG).

Os dados de comprimento foram quantificados em centímetros com uma régua e paquímetro digital e os dados referentes ao peso quantificados em gramas com balança digital de precisão de 0,01g.

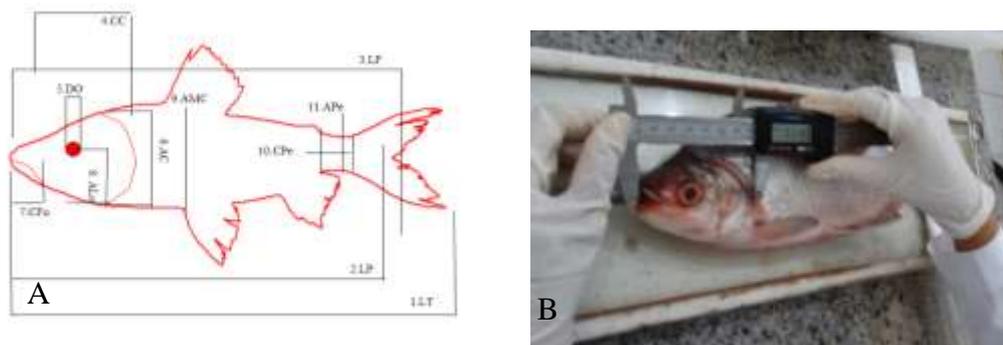


Figura 4. (A) Esquema das medidas biométricas mensuradas (**FONTE:** elaborado pela autora). (B) Registro do comprimento da cabeça CC a partir de um paquímetro digital de precisão.

4.2.3 Imageamento e digitalização da forma dos peixes

Os espécimes foram posicionados com o lado esquerdo do corpo virado para cima, contendo um número de identificação (ID) para cada peixe sendo que essa numeração foi utilizada na análise da forma; uma régua sob cada peixe com o valor de referência em centímetros e as nadadeiras foram devidamente esticadas para que a morfologia externa do exemplar fosse preservada no processo de captura digital (Fig.5). Uma câmera SONY modelo DSC-HX300 resolução 350 dpi e dimensão de 5184 x 3088 elementos de imagens, foi utilizada sendo estabelecida uma distância focal de 4 mm para cada registro (Fig. 5).

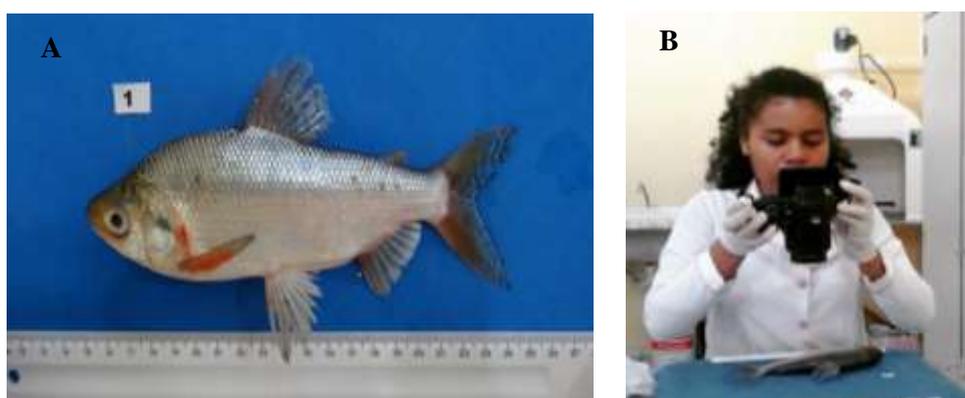


Figura 5. (A) Espécime posicionado para captura da forma; Identificação do peixe ID=1 e Valor de referência em cm (régua). (B) Captura digital da forma dos peixes.

O contorno da forma de cada peixe foi obtido através da digitalização da imagem utilizando o programa TpsDig (ROHLF, 2016). A digitalização produz um conjunto de pontos que são os pares ordenados em coordenadas cartesianas que representam o

contorno da forma de cada peixe em unidades ou elementos de imagens (Fig.6). O conjunto de dados obtido foi analisado pelo método das Séries de Fourier para a identificação das possíveis variações nos padrões de forma dos peixes capturados.

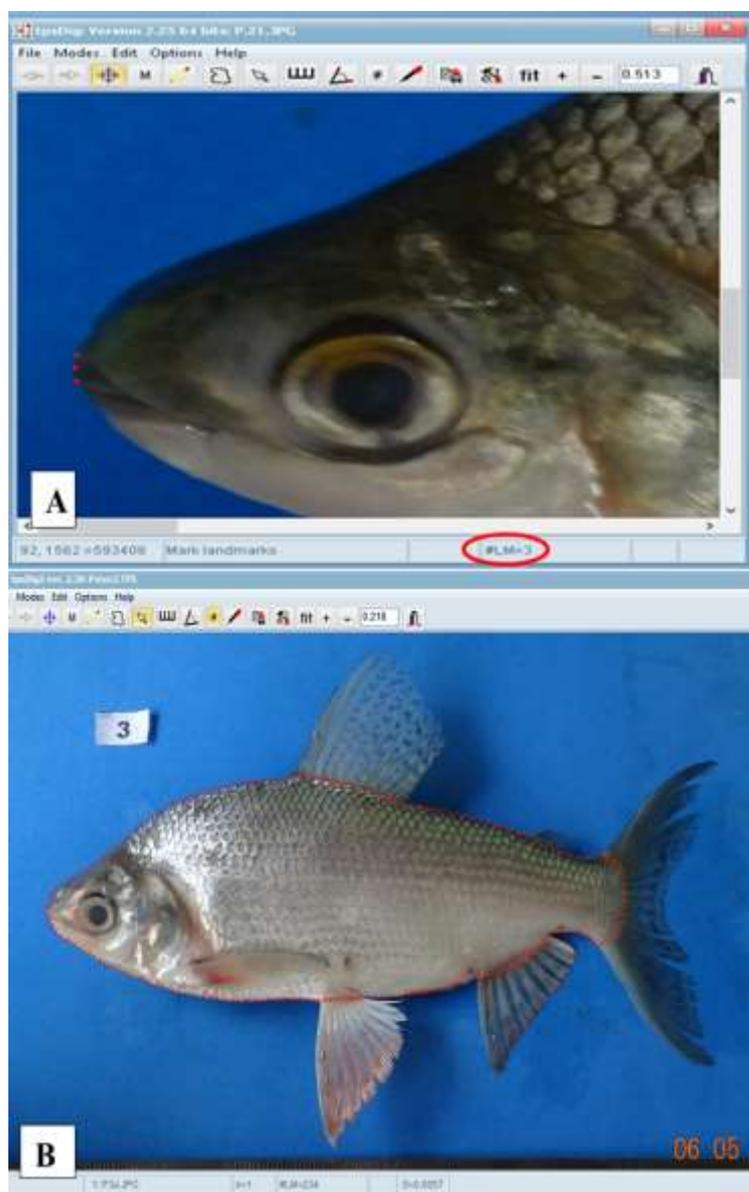


Figura 6. (A) Digitalização do contorno da forma utilizando o programa TpsDig. (B) Contorno da forma finalizado.

4.2.4 Análise e histologia das gônadas

Para classificar as gônadas os peixes foram eviscerados por meio de uma incisão abdominal à altura do poro genital, estendendo-se em direção as nadadeiras peitorais até a câmara branquial. As gônadas foram retiradas e observadas para a classificação e pesagem, considerando-se a escala de estádios de desenvolvimento gonadal dada por Vazoller (1996): A (imaturo), B (em maturação), C (maduro) e D (esvaziado) e E

(repouso) e Fonteles-Filho (2011): I (virgem), II (em desenvolvimento), III (desenvolvido), IV (maduro) e V (esvaziado).

As gônadas de cada exemplar (Fig. 7A e 7B) foram fixadas em formol a 10% por 24 horas. Em seguida lavadas e mantidas em etanol 70% até o processamento histológico. O tecido das gônadas foi desidratado em concentrações crescentes de etanol (Fig. 7C), posteriormente foram diafanizados em xilol e impregnados e incluídos em parafina (Fig. 7D e 7E). Cortes transversais, de aproximadamente 5 µm de espessura foram corados com Hematoxilina e Eosina (Fig. 7F) e analisados em microscópio óptico para confirmar o estágio de maturação gonadal de cada animal (Fig.7G).

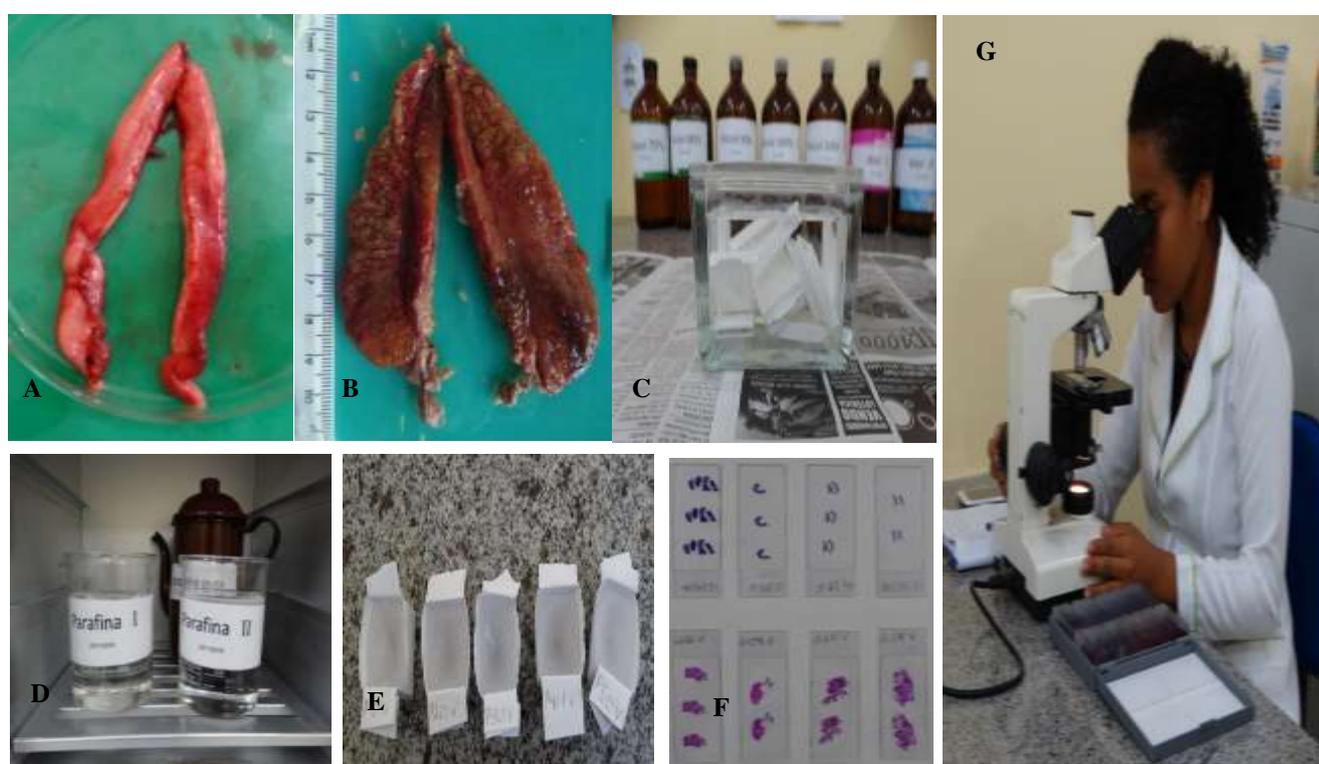


Figura 7. Etapas da análise e histologia das gônadas. Gônadas maduras dos peixes, machos e fêmeas, respectivamente (A e B); Diferentes concentrações de etanol (C); Inclusão do tecido gonadal em parafina (D e E); Lâminas histológicas, preparadas com os cortes dos tecidos gonadais (F) e Análise das lâminas em microscópio óptico (G).

O índice gonadossomático (IGS) foi calculado para os peixes machos e fêmeas, utilizando os pesos das gônadas a fim de verificar a proporção entre peso das gônadas e peso corporal de cada exemplar. O índice foi calculado pela fórmula: $Wg / Wt \times 100$. Com o resultado do IGS, foi transformado em valor percentual indicando o impacto do peso das gônadas sobre a forma dos peixes.

4.2.5 Identificação genética dos peixes

Os peixes coletados neste estudo foram submetidos a uma identificação taxonômica tradicional, com auxílio de chave de identificação. No entanto, não alcançamos bons resultados, por se tratar de um grupo de peixes que apresenta incertezas taxonômicas, sendo difícil avançar na identificação tradicional. Diante dessa dificuldade, incerteza taxonômica, resolvemos realizar a identificação utilizando o ADN (ácido desoxirribonucléico) dos peixes.

Durante o procedimento laboratorial uma amostra de tecido da musculatura de cada peixe foi retirada e armazenada em tubos tipo Eppendorf, contendo etanol absoluto (99,9%). Esse material foi tombado na Coleção de Tecidos e DNA da Fauna Maranhense (CoFauMA) vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos e Pesca (UEMA). Posteriormente, foi realizada a extração do (ácido desoxirribonucléico) ADN destes tecidos.

O ADN foi extraído seguindo o protocolo salino. Os produtos da extração foram visualizados por eletroforese e gel de agarose a 1%. As amplificações da região do gene citocromo oxidase subunidade I (COI) foram realizadas por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) executado em um termociclador utilizando os *primers* universais FISHF1 e FISHR1 descritos por Ward *et al.* (2005).

Os produtos oriundos da PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1% e purificados utilizando a enzima polietilenoglicol (PEG) sendo utilizado 1µl de PEG para cada µl de produto de PCR. Os produtos oriundos da purificação em um primeiro momento foram enviados à Ludwig Biotecnologia LTDA, empresa que realizou o serviço de sequenciamento. Recentemente 23 amostras foram enviadas para o sequenciamento, realizado em parceria com o Campus Universitário de Bragança no Pará. As sequências obtidas do primeiro sequenciamento foram analisadas, editadas e alinhadas no software MEGA (KUMAR; STECHER; TAMURA, 2015).

Esses dados foram comparados com sequências depositadas no banco de dados BOLD (The Barcode of Life Data Systems) (RATNASINGHAM; HEBERT, 2007) para identificação molecular dos exemplares de peixes analisados.

4.2.6 Tratamento dos dados

Os dados obtidos na biometria foram submetidos a teste de normalidade e as médias para machos e fêmeas das áreas estudadas foram diferenciadas no Teste de Student.

A aquisição de dados da forma é realizada com a discretização do contorno usando coordenadas cartesianas, e a partir dos pares ordenados obtém-se as séries de Fourier (LESTREL, 1997; MONTEIRO; REIS, 1999; ADAMS; ROHLF; SLICE, 2004; TORRES JÚNIOR *et al.*, 2017).

Para a análise da forma dos peixes foi realizado a digitalização do contorno da forma de cada espécime no programa TpsDig para a obtenção de um conjunto pontos de pares ordenados em coordenadas cartesianas. Este contorno pode ser visualizado na figura 8 sendo para um peixe digitalizado em 8A e para 23 peixes em 8B.

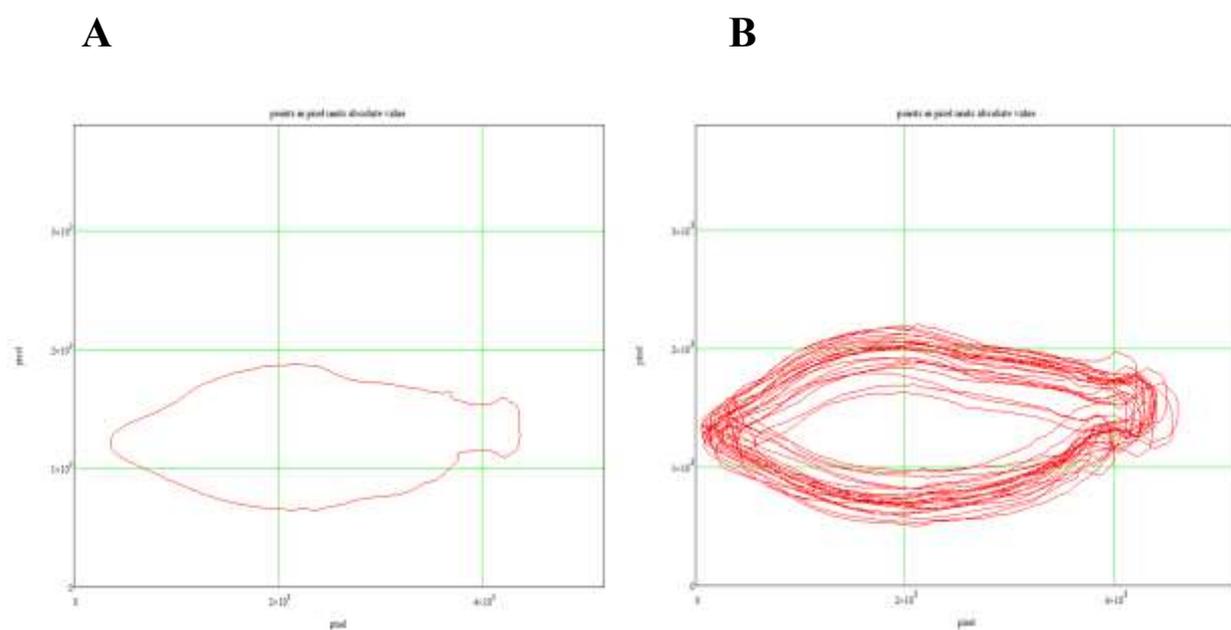


Figura 8. (A) Contorno da forma de um peixe digitalizado. (B) Contorno de 23 peixes digitalizados.

Posteriormente, foi realizada uma análise de Fourier (TDF) desse conjunto, para normalizar o número de pontos dos contornos dos peixes, gerando um novo conjunto de pares ordenados de todos os peixes contendo 256 valores. Uma nova TDF foi realizada nos peixes, calculados os coeficientes da série de Fourier, e o primeiro harmônico, representado por uma elipse de cada contorno dos peixes, encontra-se na figura 9, que apresenta uma elipse para cada peixe (9A e 9B). O gráfico na figura 9C indica o tamanho

do grau de inclinação de cada elipse dos peixes. Esses ângulos foram corrigidos, alinhando assim, todos os organismos.

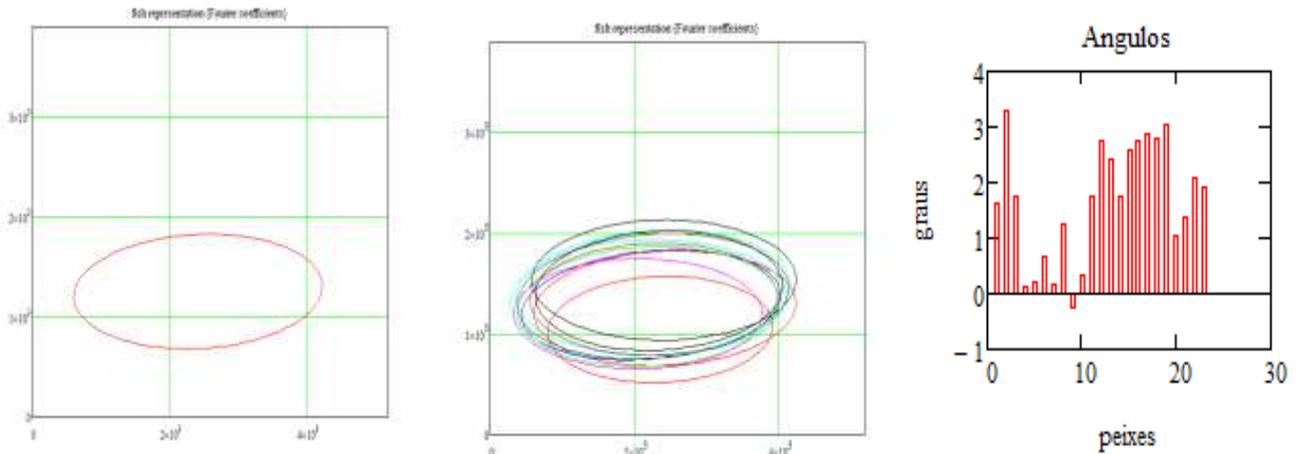


Figura 9. (A) Primeiro harmônico do primeiro peixe digitalizado; (B) Primeiro harmônico de todos os peixes digitalizados; (C) Gráfico dos ângulos entre o primeiro harmônico dos peixes digitalizados.

Após o alinhamento das formas, todos os contornos foram ajustados em relação ao tamanho. Os peixes normalizados e alinhados foram representados na figura 10A e 10B e aplicado outra TDF para comparar as formas dos peixes através dos harmônicos, sendo representada por um espectro de modos.

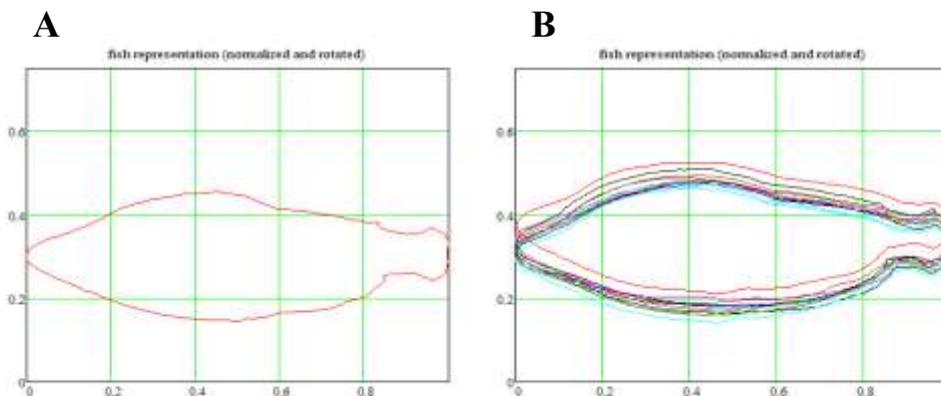


Figura 10. (A) Representação do primeiro peixe normalizado e rotacionado; (B) Representação de todos os peixes normalizados e rotacionados.

Posteriormente, foram calculados os ângulos das elipses do segundo, terceiro e quarto harmônicos (Fig.11A e 11B). Estes ângulos foram observados sobre a forma de cada peixe, mostrando a direção de cada harmônico onde diferenças foram percebidas no contorno de cada forma (Fig. 11C).

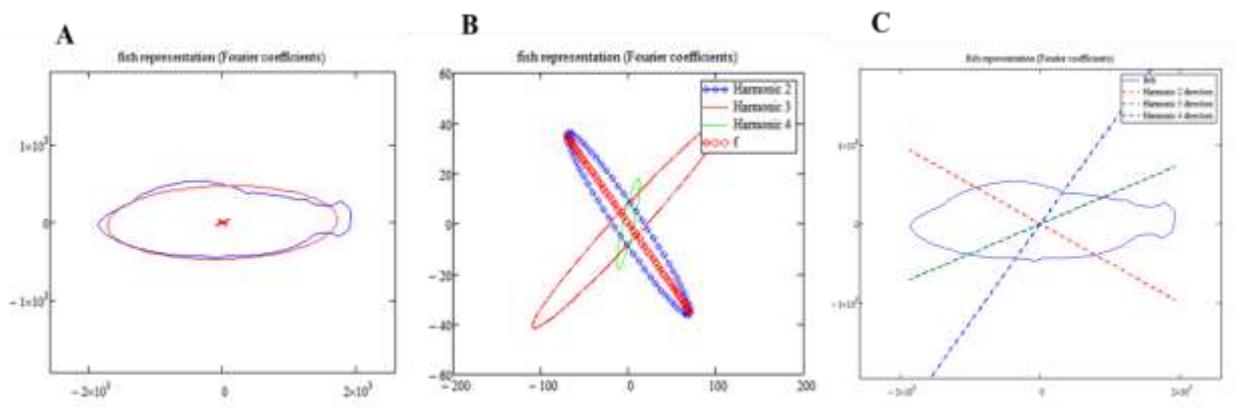


Figura 11. (A) Representação do contorno da forma de um peixe com o primeiro harmônico, no centro da forma, as elipses do 2, 3 e 4 harmônicos; (B) Representação das elipses dos 2, 3 e 4 harmônicos e (C) Representação da direção dos harmônicos (2, 3 e 4), na forma dos peixes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Dados biométricos de *Prochilodus spp.*

Os dados biométricos das fêmeas de *Prochilodus spp.* coletadas em Curral da Igreja e Engenho Grande, durante a estação chuvosa e seca, estão elencados na tabela 1. Em todas as medidas biométricas analisadas, as fêmeas coletadas em Curral da Igreja (A1) foram maiores que as fêmeas coletadas em Engenho grande (A2).

A comparação entre as estações chuvosa e seca de cada área, indicou diferenças nos valores das fêmeas de A1. As medidas de comprimento total (LT), padrão (LP), furcal (LF) e comprimento do pedúnculo caudal (APe) foram maiores na estação seca. Na A2 todas as fêmeas da estação chuvosa apresentaram maiores medidas.

Tabela 1: Dados biométricos e Teste de Student das fêmeas de *Prochilodus spp.* coletadas em dois pontos do rio Mearim (Curral da igreja e Engenho Grande) pertencentes a APA da Baixada Maranhense, durante a estação chuvosa e seca.

Variáveis biométricas	Média ± Desvio Padrão				Teste de Student Fêmeas
	Curral da Igreja (A1)		Engenho Grande (A2)		
	Estação Chuvosa	Estação Seca	Estação Chuvosa	Estação Seca	
LT (cm)	32,21 ± 5,35	34,48±7,23	23,59±3,21	22,25±1,50	2,063
LP (cm)	25,62 ± 5,01	27,3±6,33	18,58±2,38	16,83±1,19	5,489
LF (cm)	28,42 ± 4,79	30,18±6,53	21,25±2,70	19,18±1,14	5,242
CC (cm)	7,69 ± 0,57	7,47±1,62	5,80±0,70	4,91±0,45	0,078
DO (cm)	1,56 ± 0,13	1,45±0,22	1,28±0,09	1,15±0,27	0,389
AC (cm)	5,79 ± 0,39	5,47±1,03	4,20±0,38	3,30±0,12	0,034*

CFo (cm)	2,67 ± 0,06	2,21±0,63	1,63±0,32	1,53±0,44	0,063
ALo (cm)	3,47 ± 0,37	3,06±0,89	2,27±0,28	1,84±0,39	0,255
AMC (cm)	13,44 ± 1,36	10,66±3,68	7,49±1,09	6,10±0,59	0,013*
CPe (cm)	1,86 ± 0,19	2,74±0,87	1,61±0,26	1,51±0,35	0,001*
APe (cm)	2,14 ± 2,02	3,36±0,79	2,47±0,36	2,02±0,36	0,023*
WT (g)	732,42±487,18	825,56±463,29	265,91±125,19	138,37±57,30	1,156
WG (g)	202,85±185,10	135,53±122,31	63,87±42,23	16,5±11,4	0,001*

* Indica diferença estatística destas medidas em relação às áreas amostradas A1 e A2, considerando o $P < 0.05$.

Os dados biométricos dos machos de *Prochilodus spp.* coletados em Curral da Igreja (A1) e Engenho Grande (A2) durante a estação chuvosa e seca, estão elencados na tabela 2. Em todas as medidas biométricas analisadas, os machos coletados em Curral da Igreja foram maiores que os indivíduos coletados em Engenho Grande.

A comparação entre as estações chuvosa e seca da A1, indicou maiores medidas para o comprimento do pedúnculo caudal (CPe) e peso total (WT). Na A2 foi observado que durante a estação seca o comprimento do pedúnculo caudal (CPe) foi maior que o observado no período chuvoso.

Tabela 2: Dados biométricos e teste de Student de machos de *Prochilodus spp.* coletados em dois pontos do rio Mearim (Curral da igreja e Engenho Grande) pertencentes a APA da Baixada Maranhense, durante a estação chuvosa e seca.

Variáveis Biométricas	Média ± Desvio Padrão				Teste de Student Machos
	Curral da Igreja (A1)		Engenho Grande (A2)		
	Estação Chuvosa	Estação Seca	Estação Chuvosa	Estação Seca	
LT (cm)	30,02 ± 2,79	29,25±5,22	24,96±2,49	20,76±1,75	5,185
LP (cm)	23,37 ± 2,41	22,94±4,66	18,97±1,87	16,65±2,43	6,993
LF (cm)	25,88 ± 2,99	25,52±4,59	21,66±1,71	18,41±1,04	5,467
CC (cm)	6,82 ± 0,38	6,33±1,18	6,01±0,82	4,65±0,30	1,120
DO (cm)	1,54± 0,07	1,29±0,19	1,34±0,14	1,21±0,12	0,011*
AC (cm)	4,95 ± 0,81	4,55±0,89	4,26±0,45	3,21±0,45	3,881
CFo (cm)	2,36 ± 0,93	1,71±0,58	1,67±0,20	1,33±0,24	1,304
ALo (cm)	3,03± 0,30	2,49±0,77	2,33±0,25	1,75±0,43	1,566
AMC (cm)	9,52± 0,44	8,39±2,24	6,82±0,51	5,42±0,90	1,574
CPe (cm)	2,71± 0,47	3,00±4,74	1,62±0,21	1,65±0,21	0,109
APe (cm)	3,16 ± 0,17	2,77±0,66	2,57±0,22	1,91±0,20	7,315
WT (g)	402,59±146,23	413,80±263,13	240,5±58,87	141,00±26,35	7,370
WG (g)	7,57±6,27	4,10±5,43	7,84±3,05	1,71±2,51	0,120

* Indica diferença estatística destas medidas em relação às áreas amostradas A1 e A2, considerando o $P < 0.05$.

Uma análise das medidas biométricas das fêmeas e machos das áreas A1 e A2 elencadas nas tabelas 1 e 2, mostrou que as fêmeas foram maiores em todas as medidas ao serem comparadas com os machos.

Entre as áreas A1 e A2 também foi realizado o teste de Student nas medidas biométricas (Tab 1 e 2), e diferenças estatísticas para a altura da cabeça (AC), altura máxima do corpo (AMC), comprimento do pedúnculo caudal (CPe), altura do pedúnculo caudal (APe) e peso das gônadas (Wg) foram observadas para as fêmeas. Nos machos a única variável que diferiu significativamente foi o diâmetro do olho (DO) como indicado na tabela 2.

Existem muitas diferenças entre os peixes machos e fêmeas. Geralmente essas diferenças são influenciadas por múltiplos fatores, dentre eles: disponibilidade alimentar, depósito de gordura, desenvolvimento gonadal, ciclo reprodutivo e suscetibilidade às mudanças ambientais (LE CREN, 1951; VAZZOLER, 1996; FONTELES-FILHO, 2011; NASCIMENTO et al., 2012; SOUZA et al., 2016). Nos peixes avaliados, o desenvolvimento gonadal das fêmeas foi o responsável pelas diferenças significativas entre fêmeas e machos, conforme foi indicado pelos resultados do teste de Student (Tab. 1 e 2).

Em um estudo sobre o rendimento corporal e as características biométricas de *Prochilodus lineatus* realizado por Reidel *et al.* (2004) no município de Toledo-PR, que analisaram os pesos e comprimentos dos peixes na estação chuvosa e seca, os autores obtiveram maiores valores para os peixes capturados na estação chuvosa. Nascimento *et al.* (2012), ao avaliarem a biologia reprodutiva de *Prochilodus brevis*, coletadas no Rio Grande do Norte, encontraram resultados semelhantes aos indicados por Reidel *et al.* (2004) em que os comprimentos e pesos das fêmeas foram maiores na estação chuvosa e maiores que os pesos dos machos. As informações mencionadas nestes trabalhos, corroboram o padrão observado em Curral da Igreja e Engenho Grande.

Os valores de pesos (WT e WG) e comprimentos (CC, DO, AC, CFo, ALo, AMC e APe) das fêmeas de Curral da igreja, coletadas na estação chuvosa (Tab.1), foram menores que os coletados na estação seca. Isso pode ter acontecido em função do número de exemplares coletados em cada estação, na estação chuvosa sete fêmeas, enquanto que na estação seca foram capturadas dezesseis fêmeas. O comportamento migratório dos curimatás pode ter contribuído para o número reduzido de fêmeas capturadas na estação

chuvosa, pois elas realizam a piracema durante esta estação (VAZZOLER, 1996; FONTELES-FILHO, 2011; NASCIMENTO et al., 2012; ANDRADE *et al.*, 2015).

3.2 Estádios de maturação de *Prochilodus spp.*

A análise visual das gônadas foi realizada seguindo os critérios das classificações adotadas. Para as fêmeas foi observado o tamanho dos ovários, a disposição na cavidade abdominal, a coloração, a transparência e a irrigação sanguínea superficial. Nos machos foi observado o tamanho dos testículos, a disposição na cavidade abdominal, a liberação de sêmen e a coloração. Após análise, as gônadas de fêmeas e machos indicaram quatro estádios de desenvolvimento (Fig.12) que foram confirmados pela análise histológica que definiu três estádios de maturação para as fêmeas e quatro para os machos (Fig.13 e 14).

Os diferentes estádios de desenvolvimentos fazem parte do ciclo reprodutivo, quando os ovários e testículos aumentaram de tamanho e apresentaram variações na cor, consistência, vascularização e a visibilidade dos ovócitos para as fêmeas (VAZZOLER, 1996). As gônadas analisadas para a região de Curral da Igreja e Engenho Grande (Fig.12) apresentaram as características mencionadas anteriormente, descritas por Vazzoler (1996).

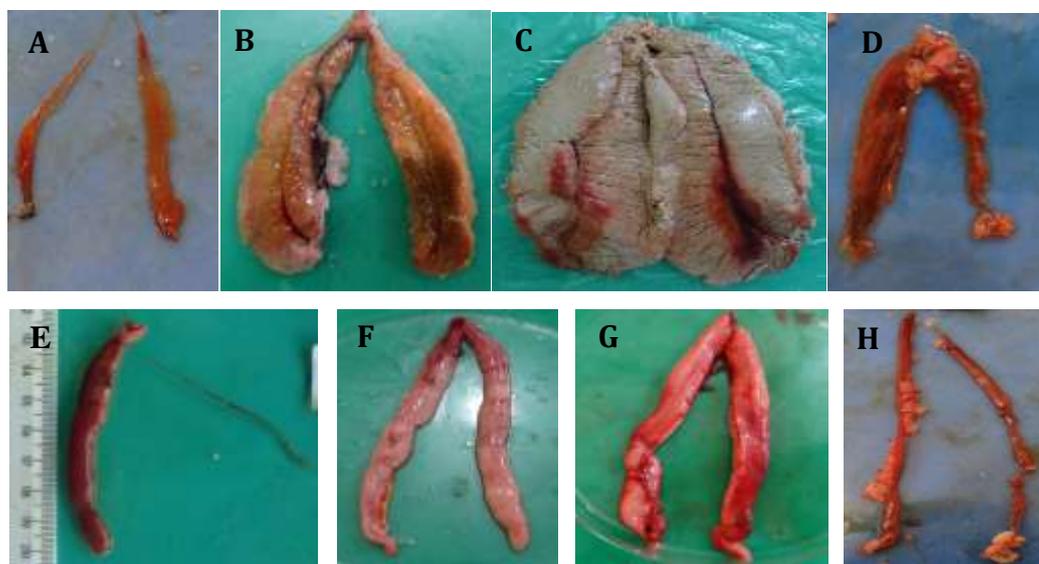


Figura 12. Estádios de maturação gonadal de fêmeas (A, B, C e D) e machos (E, F, G e H) de *Prochilodus spp.* Em (A e E) Imaturo/Virgem; (B e F) Em maturação/Em desenvolvimento; (C e G) Maduro/Desenvolvido e (D e H) Esvaziado.

Ovários em maturação apresentaram oócitos em estoque de reserva e vitelogênese lipídica (estágio II e III); uma formação de gotículas lipídicas foi observada nos oócitos que estavam em estágio avançado em seu desenvolvimento gonadal (Figura 13A). Os ovários maduros apresentaram oócitos aumentados com citoplasma prolongado e grandes

quantidades de vesículas lipídicas e grânulos protéicos (Figura 13B). Os ovários esvaziados apresentaram uma grande quantidade de folículos pós-ovulação em atresia e apresentaram lamelas flácidas ovígeras desorganizadas (Figura 13C).

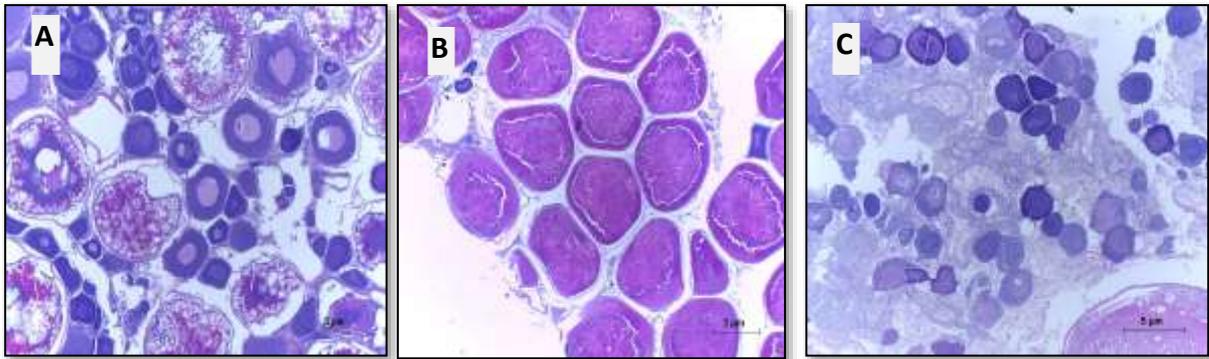


Figura 13. Classificação histológica dos ovários de *Prochilodus spp.* (A) Cortes de um ovário em maturação; (B) Ovário Maduro; (C) Cortes de um ovário esvaziado. Coloração HE.

Os testículos imaturos são constituídos por cistos de células germinativas com espermatogônias em estágio I (Fig. 14A). Os testículos em maturação apresentaram espermatogônias em estágio II e espermatócitos (Fig. 14B). Os testículos maduros apresentaram espermatócitos maduros e espermatozoides nos túbulos seminíferos (Fig. 14C). Os testículos esvaziados apresentaram os túbulos seminíferos vazios (Fig.14D).

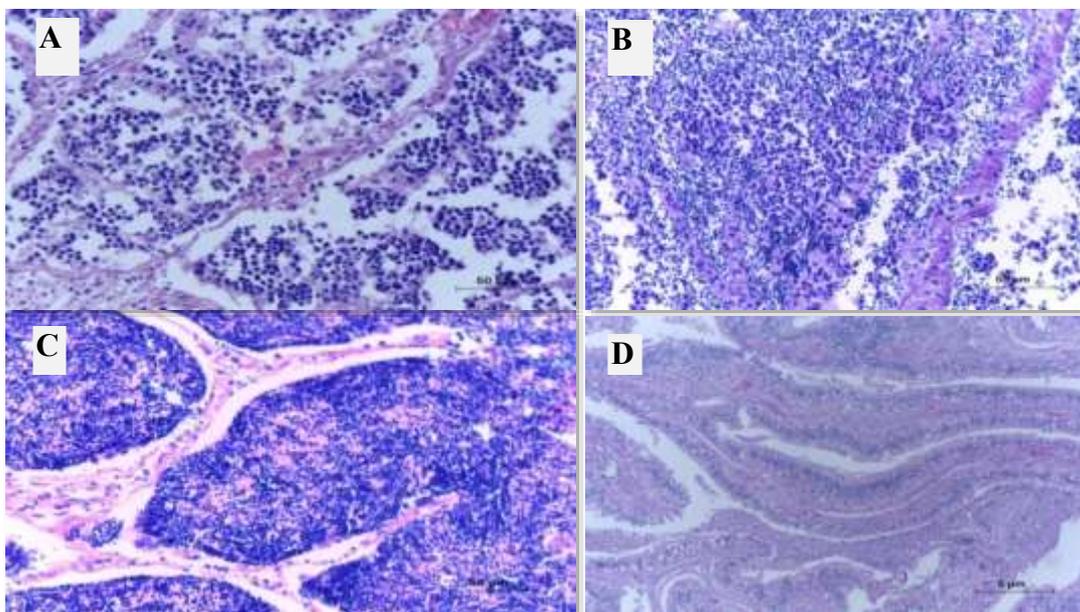


Figura 14. Classificação histológica dos testículos de *Prochilodus spp.* (A) Corte de um testículo Imaturo; (B) em maturação; (C) maduro e (D) esvaziado. Coloração HE.

As características celulares observadas nos ovários e testículos dos peixes de Curral da igreja e Engenho Grande, estão de acordo com as descrições propostas nos estudos realizados por Nascimento *et al.* (2012); Andrade *et al.* (2015) e Bomfim *et al.* (2015) que estudaram peixes de água doce incluindo as *Prochilodus spp.*; nestes estudos os estádios de desenvolvimento gonadal foram caracterizados destacando todas as fases de desenvolvimento: das células germinativas aos ovócitos finais e das espermatogônias aos espermatozoides.

O índice gonadossomático (IGS) foi calculado para os machos e fêmeas, utilizando os pesos das gônadas a fim de verificar a proporção entre peso das gônadas e peso corporal de cada exemplar. O índice indicou que os exemplares sexualmente maduros apresentaram maiores médias para o peso gonadal e IGS, tabela 3.

Tabela 3: Índice gonadossomático (IGS) e Média do peso gonadal (Wg) de fêmeas e machos de *Prochilodus spp.*

Estádios de Maturação	Fêmeas		Machos	
	Wg	IGS	Wg	IGS
Imaturo	0	0	0,3	0,16
Em maturação	1,3	0,47	1,09	0,61
Maduro	100,19	21,42	7,20	1,94
Esvaziado	0,53	0,36	0,97	0,47

O valor do IGS das fêmeas maduras elencados na tabela 5, representam um impacto de 20% sobre a forma desses peixes, confirmando a dilatação observada na região abdominal desses peixes. Observando os resultados para os machos maduros, esse impacto é inferior a 2%, indicando uma dilatação abdominal sutil para estes peixes.

A relação gonadossomática observada para as fêmeas foi semelhante a encontrada no trabalho de Nascimento *et al.* (2012) onde os valores do IGS também foram maiores para as fêmeas, confirmando o aumento de volume dos ovários durante o processo de maturação gonadal e sua redução após a desova.

5.4 Identificação genética dos peixes

As amostras sequenciadas foram analisadas no programa MEGA, e apresentaram bons picos para os nucleotídeos adenina, citosina, guanina e timina, que compõem as

bases do ADN. As 8 sequências foram editadas e alinhadas no MEGA e comparadas no sistema de identificação BOLD (*Barcode of Life Data Systems*) para o gene COI. O Sistema de Identificação BOLD, aceita as sequências do gene COI e retorna uma identificação ao nível da espécie quando é possível (RATNASINGHAM; HEBERT, 2007).

Neste sistema a identificação foi realizada, após a comparação das sequências obtidas com as sequências depositadas nesta base de dados. Valores de similaridade entre as sequências avaliadas e as depositadas no BOLD foram obtidos e estão elencados na Tabela 4. O resultado das 8 sequências de *Prochilodus spp.*, indicou 4 exemplares de *Prochilodus lacustris* e 4 *Prochilodus nigricans* (fig. 15 e 16, respectivamente) oriundos do rio Mearim.

Tabela 4. Espécies de *Prochilodus spp.* identificadas com o grau de similaridade entre as sequências genéticas dos peixes com as depositadas no sistema de identificação Bold.

ID de coleta do Peixe	Espécie identificada pelo sistema BOLD	Grau de similaridade entre as sequências
Peixe 9	<i>Prochilodus lacustris</i>	98%
Peixe 12	<i>Prochilodus lacustris</i>	98%
Peixe 18	<i>Prochilodus nigricans</i>	97,22%
Peixe 25	<i>Prochilodus nigricans</i>	98%
Peixe 26	<i>Prochilodus nigricans</i>	98%
Peixe 35	<i>Prochilodus nigricans</i>	91,12%
Peixe 44	<i>Prochilodus lacustris</i>	99,52%
Peixe 46	<i>Prochilodus lacustris</i>	100%

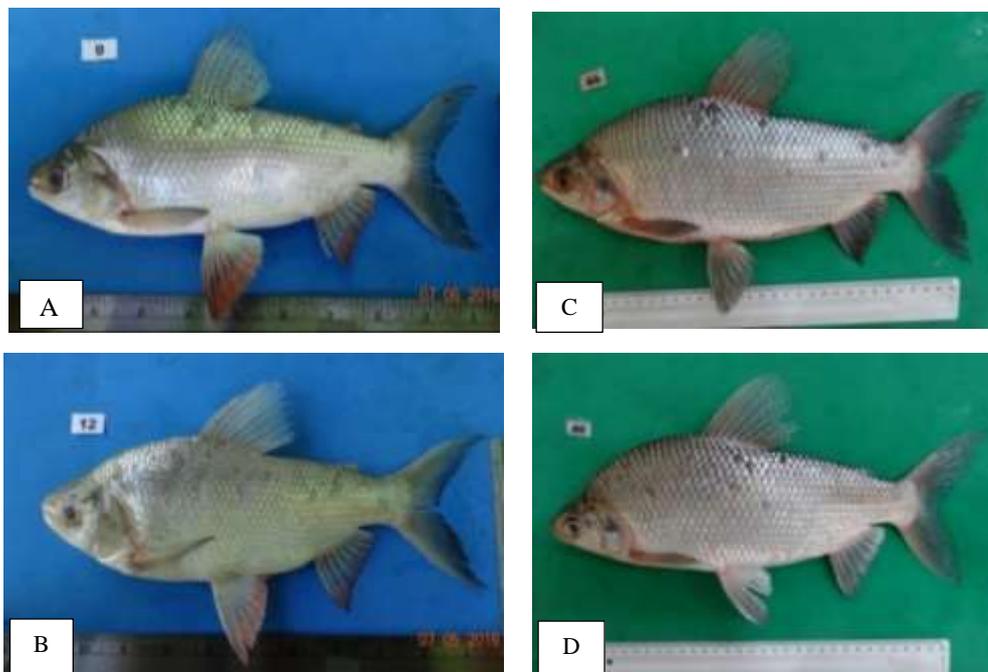


Figura 15. Exemplos de *Prochilodus lacustris* (A,B,C,D) identificados pela análise genética utilizando o sistema de identificação BOLD.

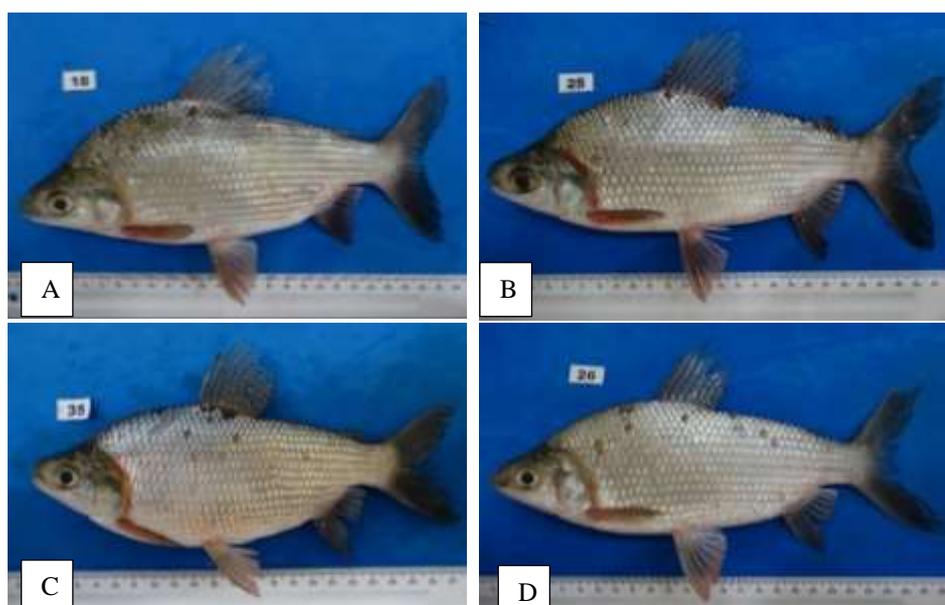


Figura 16. Exemplos de *Prochilodus nigricans* (A, B, C, D) identificados pela análise genética utilizando o sistema de identificação BOLD.

Os espécimes indicados como *P. lacustris* e *P. nigricans* que apresentaram um grau de similaridade a partir de 98% (tabela 4), foram validados para a identificação deste sistema Bold Systems. Dentre as amostras avaliadas, duas apresentaram valores inferiores a 98%, demonstrando uma fragilidade desta avaliação. Mediante a incerteza dos resultados oriundos deste sistema, propomos realizar uma avaliação de todas as sequências através de uma árvore de distâncias genéticas, que poderá expressar melhores resultados, com diferentes agrupamentos entre as amostras avaliadas.

A necessidade de avaliar as espécies utilizadas neste trabalho, surgiu pela diversidade de espécies do gênero *Prochilodus*, dentre estas, incluem as *Prochilodus lacustris* e *Prochilodus nigricans* (CASTRO; VARI, 2004). Essa diversidade dentro do gênero associada à sua distribuição e comportamento migratório, tem contribuído produzindo as incertezas taxonômicas dentro deste grupo (MELO *et al.*, 2016). As informações sobre a filogenética do grupo foram apresentadas no trabalho de Melo *et al.* (2016) que indicaram uma proximidade genética entre as espécies *Prochilodus nigricans* e *Prochilodus lacustris*, e sugerem uma revisão taxonômica para este grupo.

5.5 Análise da forma dos peixes

As séries de Fourier foram aplicados para a análise da forma das fêmeas e machos coletados. Foram utilizadas 23 fêmeas e 57 machos de Curral da Igreja e 20 fêmeas e 25 machos de Engenho Grande, totalizando 125 peixes analisados.

Para a avaliação dos coeficientes de Fourier foram utilizados 10 harmônicos (Fig. 17) para analisar a forma dos peixes. Na figura 17A temos a sobreposição do primeiro harmônico, sobre o contorno da forma de um peixe. Na figura 17B, essa sobreposição acontece com 5 harmônicos e na figura 17C, são 10 harmônicos que conseguem representar a forma do contorno do peixe perfeitamente. Em função dessa representação, definimos o número de 10 harmônicos para nossa análise da forma.

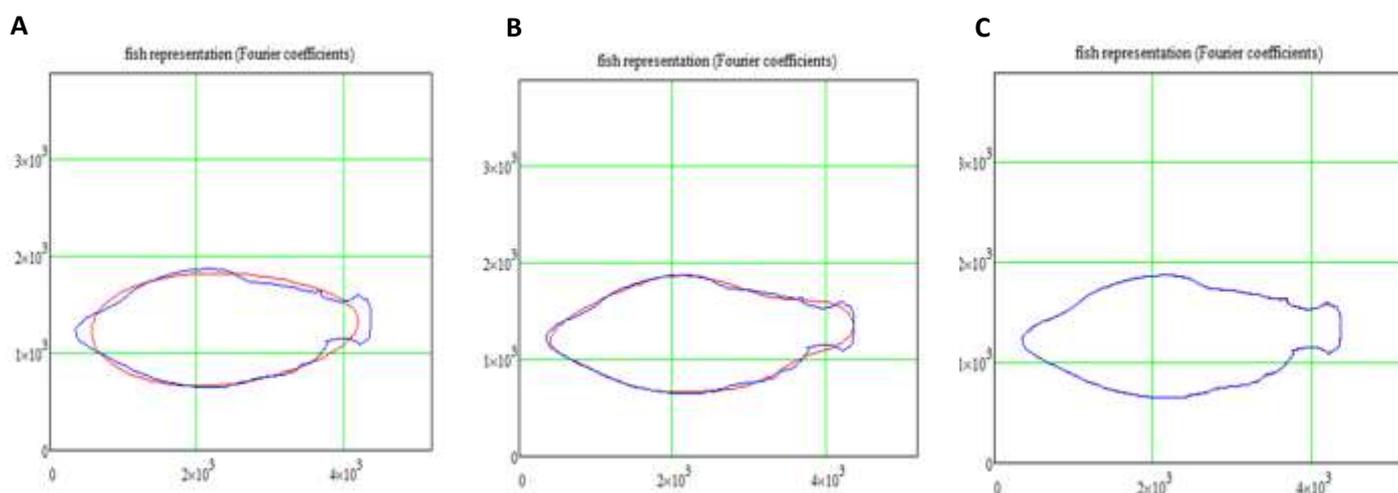


Figura 17. Sobreposição dos contornos dos peixes com o número de harmônicos. A. Primeiro harmônico sobreposto ao peixe digitalizado; B. Quinto harmônico sobreposto ao peixe digitalizado; C. Décimo harmônico sobreposto ao peixe digitalizado.

Os resultados da avaliação das formas dos peixes pelas séries de Fourier foram expressos em gráficos contendo um espectro com valores dos harmônicos (Figuras 18, 27, 33 e 38). Os peixes analisados foram organizados com a identificação de coleta (ID dos peixes) e posteriormente foram ordenados em ordem crescente de acordo com o valor do seu índice gonadal (IVG: Wg/Wt).

As fêmeas coletadas em Curral da Igreja foram identificadas por meio da genética em duas espécies *Prochilodus nigricans* e *Prochilodus lacustris*. Os IDs de coleta das fêmeas são: 6, 7, 13, 17, 29, 33, 35, 37, 39, 45, 48, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 65, 71, 73 e 80. Após serem reordenados pelo valor do índice gonadal (IVG), obtiveram a numeração 1 até 23 de acordo com o valor de seu índice gonadal (IVG:1 a 23).

Na figura 18 estão representados no eixo das abscissas os valores 1 a 23 que representam contornos dos peixes (fêmeas) reordenados em ordem crescente de acordo com seu IVG, e no eixo das ordenadas os números dos 10 harmônicos utilizados.

Dos 23 peixes avaliados de Curral da Igreja, quatro fêmeas são *Prochilodus nigricans* (IVG: 1, 2, 3, 4) e dezenove foram classificadas como *Prochilodus lacustris* (IVG: 5 ao 23). As *P. nigricans*, apresentaram medidas de comprimentos total (LT) de 24cm; 23,3cm; 26,5cm e 21cm, com o peso corporal (WT) de 150g; 180g; 165g e 130g e peso das gônadas (WG) de 0,4g; 0,6g; 0,6g e 0,6g, respectivamente. A análise dos harmônicos para estes peixes (*P. nigricans*), demonstrou que os quatro exemplares estavam dentro da média, apresentando pequenas variações na forma, indicadas a partir do terceiro harmônico da série de Fourier, conforme a figura 19 (Fig. 19A; 19B; 19C e 19D).

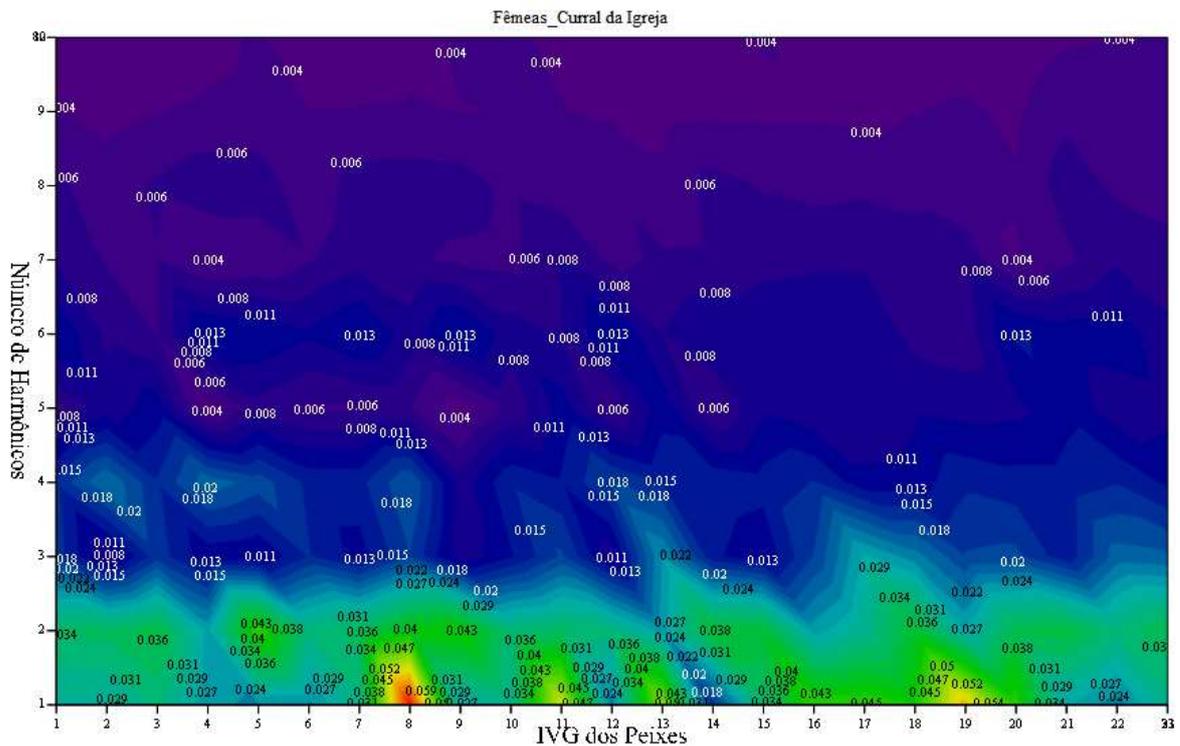


Figura 18. Espectro das 23 fêmeas coletadas em Curral da Igreja, no eixo das abcissas valores que correspondem aos peixes representados pelos IVGs 1 ao 23 e no eixo das ordenadas, os harmônicos de 1 a 10. Os peixes indicados pelos IVGs: 8, 11, 13 e 19 apresentaram alteração na forma indicadas no primeiro harmônico. E os peixes com IVGs: 3,5,7,9,10,14,15,18, 20 e 23 foram representados pelo segundo harmônico.

As análises dos harmônicos indicadas na figura 19, nos gráficos dos harmônicos ou modos, apresentam um valor de média e desvio padrão que foi calculado com base nos contornos das formas dos peixes, identificados como *P. lacustris*. Esse valor de média e desvio padrão foi adotado para todos os peixes neste estudo.

No entanto, sabemos que o uso das médias destes peixes (*P. lacustris*), não é adequada, pois foram utilizados 23 espécimes. Sendo, uma amostra pequena para representar a média de todos os peixes avaliados, e que as espécies também são diferentes. Compreendemos que as *P. lacustris* apresentam padrões e médias distintas da *P. nigricans*. Resolvemos adotar esses valores, por se tratar de um estudo de desenvolvimento de um método de análise utilizando as séries de Fourier na análise dos padrões de forma dos peixes. As perspectivas futuras são validar e consolidar este método.

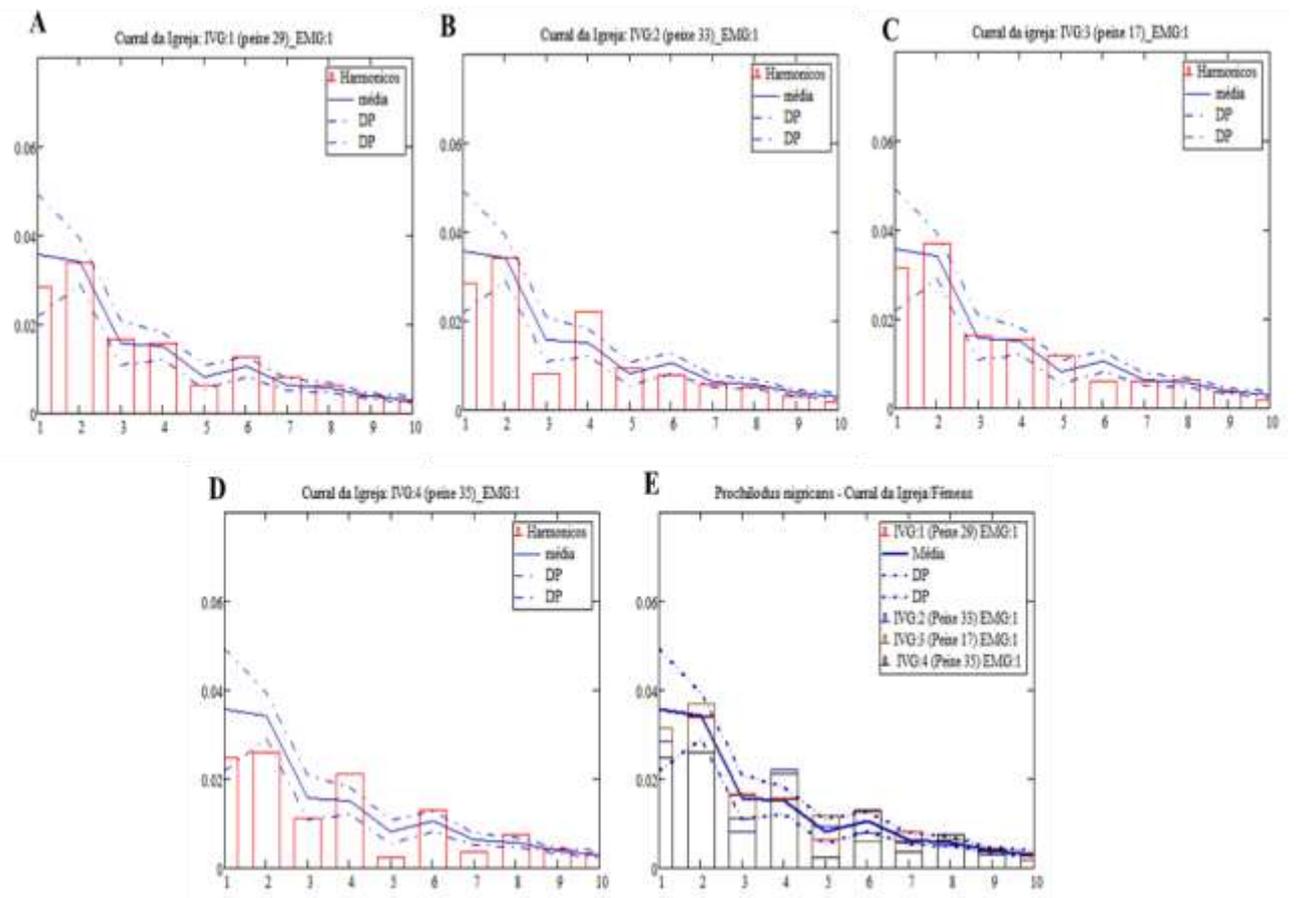


Figura 19. Harmônicos das fêmeas de *P.nigricans* de Curral da Igreja destacando os valores que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças nos harmônicos. (A) Peixe indicado no espectro com o IVG:1_ID:29; (B) Peixe indicado no espectro com IVG:2_ID:33; (C) Peixe indicado no espectro com IVG:3_ID:17; (D) Peixe indicado no espectro com IVD:4_ID:35. (E) Harmônicos de todas as fêmeas *P. nigricans*.

As diferenças indicadas na análise dos harmônicos para os *P. nigricans* foram apontadas a partir do segundo e terceiro harmônicos. Os dados biométricos destes peixes não apresentaram grandes diferenças e todas as fêmeas apresentavam proporções corporais semelhantes.

As diferenças observadas nos harmônicos em conjunto não foram suficientes a ponto de indicar uma modificação na forma dos peixes ocasionada pela sua maturação, pois estes não apresentavam gônadas grandes e maduras a ponto de modificar a forma de um espécime para o outro. Todas as fêmeas de *Prochilodus nigricans* de Curral da igreja, encontravam-se no mesmo estágio de desenvolvimento gonadal, com gônadas muito pequenas, em maturação, não sendo possível, observar grandes alterações na forma corporal destes peixes.

No entanto, ao observar os detalhes da análise harmônica, e entender o comportamento de cada harmônico separadamente (Fig.20), fica claro que existem muitas diferenças no formato dos espécimes, confirmando as pequenas variações de tamanhos e pesos. Esses detalhes da forma, foram indicados por uma análise em conjunto dos 10 harmônicos e por uma investigação individual dos ângulos de cada harmônico aplicados ao contorno da forma de cada peixe, na figura 20A, 20B, 20C e 20D, podemos observar a análise individual dos harmônicos (2, 3 e 4) para cada organismo.

Os peixes de IVG 1 e 4 (Fig. 20A e 20D) apresentam contorno de forma semelhante. No entanto, a direção da variação do ângulo do quarto harmônico, para estes peixes foi diferente, indicando variações na sua forma, pois existiu variação no comportamento deste harmônico. A análise do segundo e terceiro harmônico, indicou ângulos no mesmo sentido, confirmando as semelhanças na forma destes organismos.

Os peixes de IVG 2 e 3, indicam que o segundo harmônico foi maior que o primeiro. O IVG 3 apresenta um sentido diferente de variação angular para todos os harmônicos, e o peixe de IVG 2, também apresenta grandes diferenças, quando comparados aos peixes anteriores, existindo uma sobreposição aos ângulos dos harmônicos 2 e 4.

Essas diferenças indicadas pelos harmônicos, apontam a direção de variação dos harmônicos, representam na forma dos peixes, as regiões onde existe uma deformação ou variação na forma, e a maioria dos harmônicos indica a região ventral dos peixes, podendo estar associada à sua maturação. Ao observar a sobreposição do contorno da forma e as imagens dos espécimes na figura 21, as diferenças na forma de cada espécime são visíveis, mesmo que estes sejam exemplares da mesma espécie.

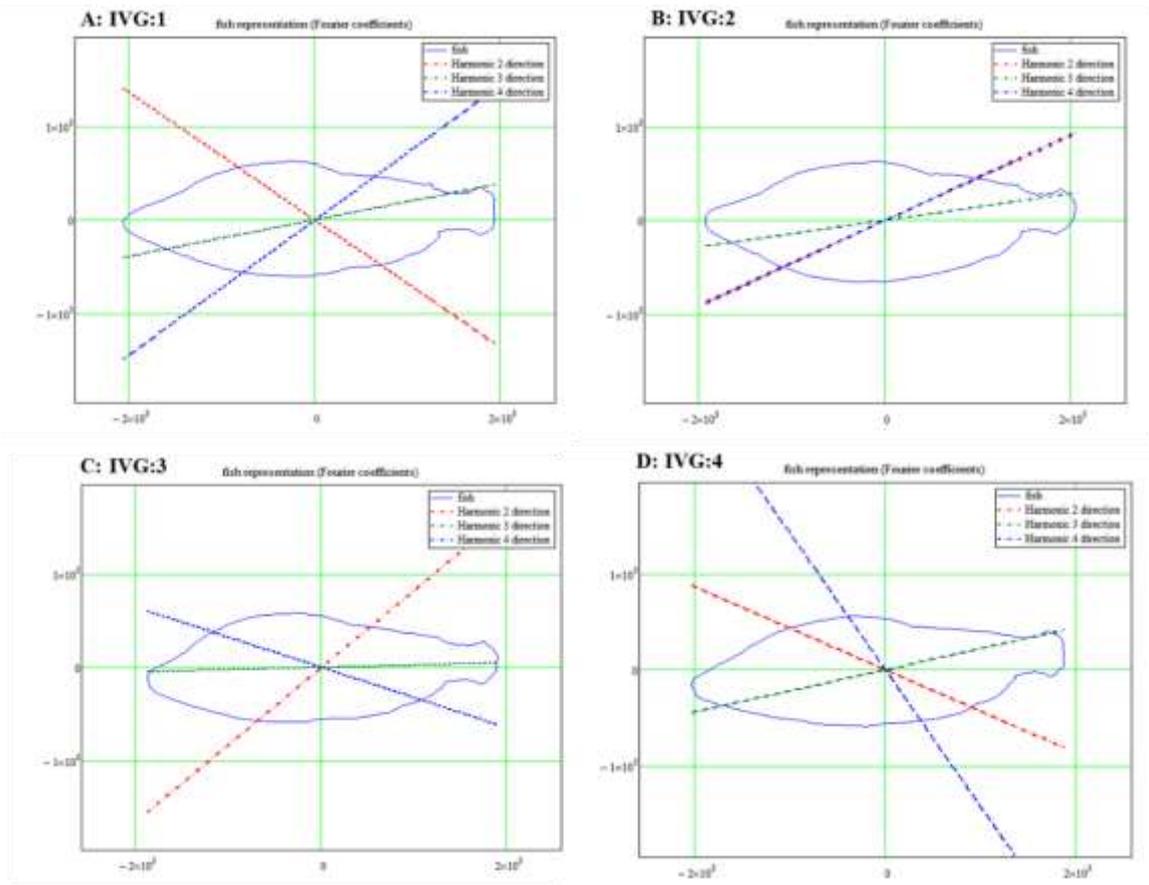


Figura 20. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG:1_ID:29; (B) Harmônicos do peixe de IVG:2_ID:33; (C) Harmônicos do peixe de IVG:3_ID:17 e (D) Harmônicos do peixe de IVG:4_ID:35.

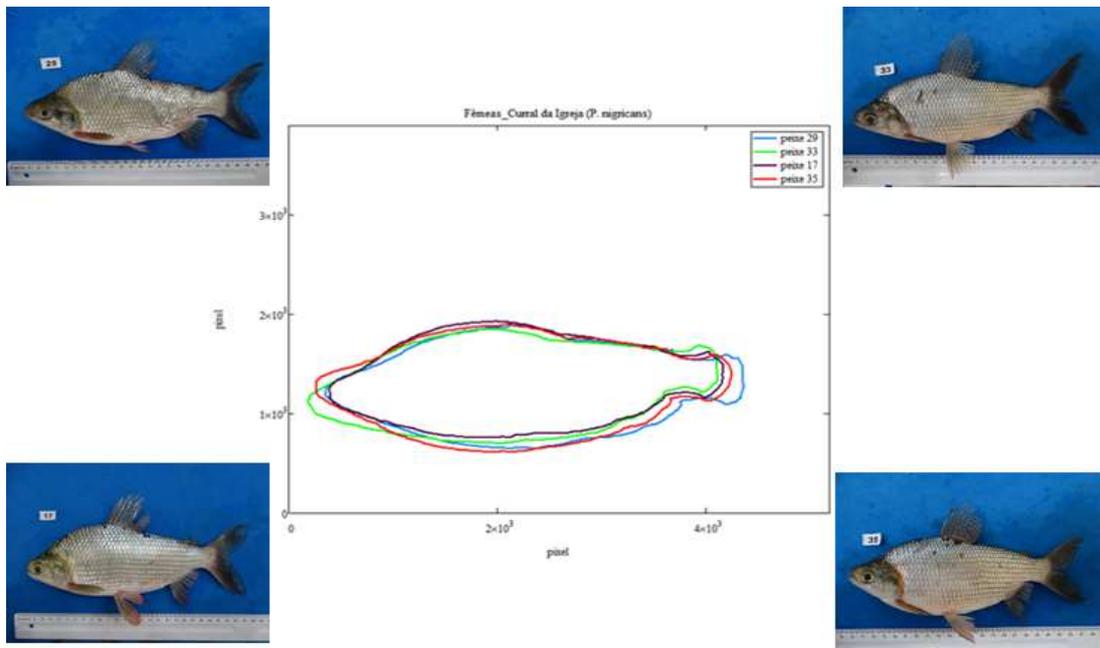


Figura 21. Contorno das formas e imagens dos peixes 29, 33, 17 e 35 (ID de coleta) que apresentaram variações na análise harmônica, esses organismos são indicados pelo IVG: 1, 2, 3 e 4.

As fêmeas identificadas como *Prochilodus lacustris*, são indicadas no gráfico (espectro) da figura 18, a partir do IVG 5 até 23. As *P. lacustris* que chamaram a atenção no primeiro harmônico foram os IVGs: 8, 11,13 e 19 que apresentaram medidas de comprimento total (Lt) 26,3cm; 41,1cm; 40,2cm e 41,5cm, peso corporal (Wt) 321g; 1495g; 1185g e 1266g peso das gônadas (Wg) 19g; 198g; 203g e 333g, respectivamente. Os contornos das formas dos peixes que chamaram a atenção no espectro pelo primeiro harmônico, também podem ser observados no gráfico dos modos que indicam as diferenças entre os valores de cada harmônico analisado (Figura 22).

A análise dos harmônicos para estes peixes (*P. lacustris*) demonstrou que os quatro exemplares estavam fora da média, apresentando grandes variações na forma, indicadas a partir do primeiro harmônico da série de Fourier, conforme a figura 22 (Fig.22A; 22B; 22C; 22D e 22E).

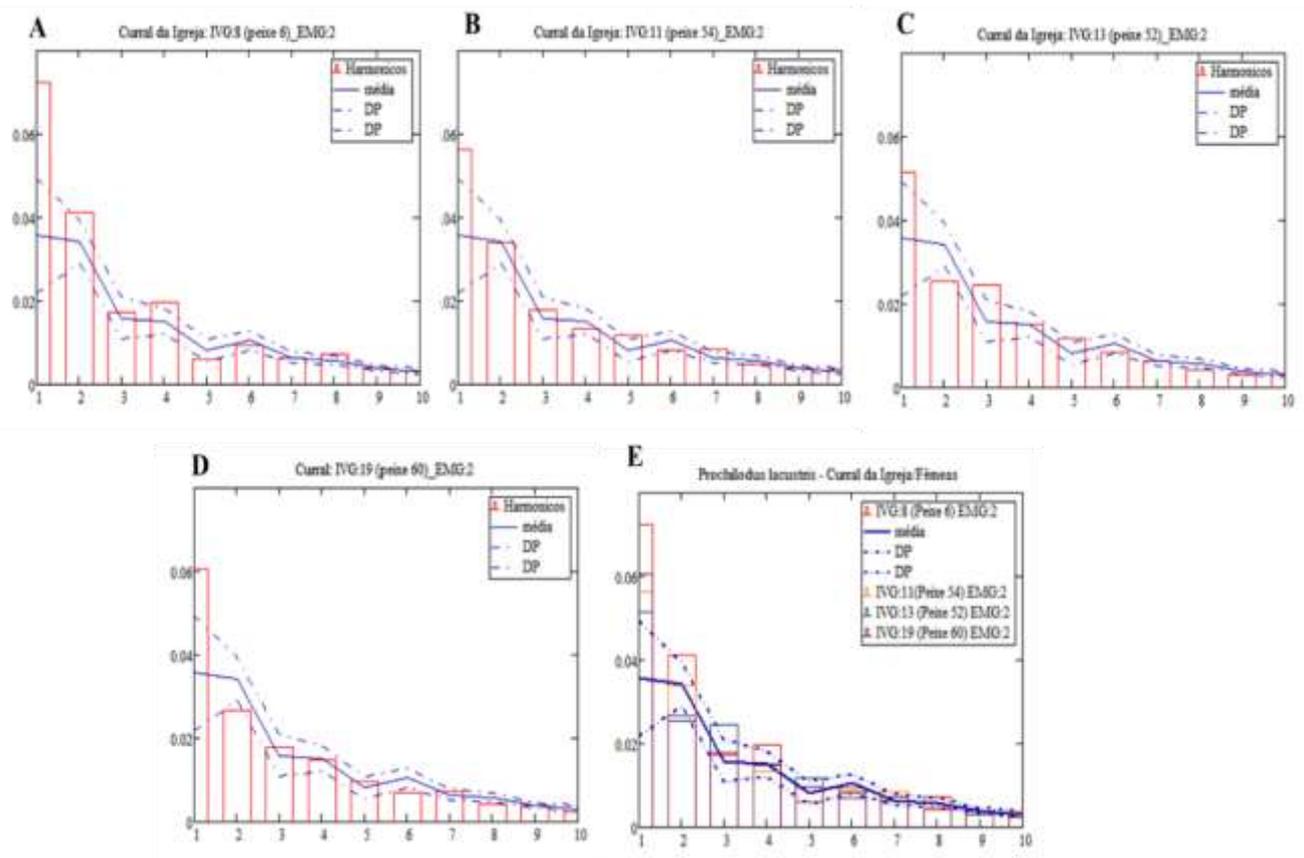


Figura 22. Harmônicos dos peixes de Curral da Igreja destacando os valores que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 1º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro com o IVD:8_ID:6; (B) Peixe indicado no espectro com IVD:11_ID:54; (C) Peixe indicado no espectro com IVD:13_ID:52; (D) Peixe indicado no espectro com IVD:19_ID:60.

Pela observação dos harmônicos aplicados a estas quatro formas (figura 23), nota-se que esses peixes apresentam diferenças entre si. Por mais que os mesmos façam parte da mesma espécie, essas diferenças mencionadas, foram percebidas a partir de uma análise de todos os harmônicos e das informações morfométricas desses organismos. O peixe de IVG 8, foi bem representado pelo primeiro harmônico da série de Fourier (Fig 24A). No entanto, ao observar os harmônicos seguintes, todos os peixes apresentam diferenças na forma.

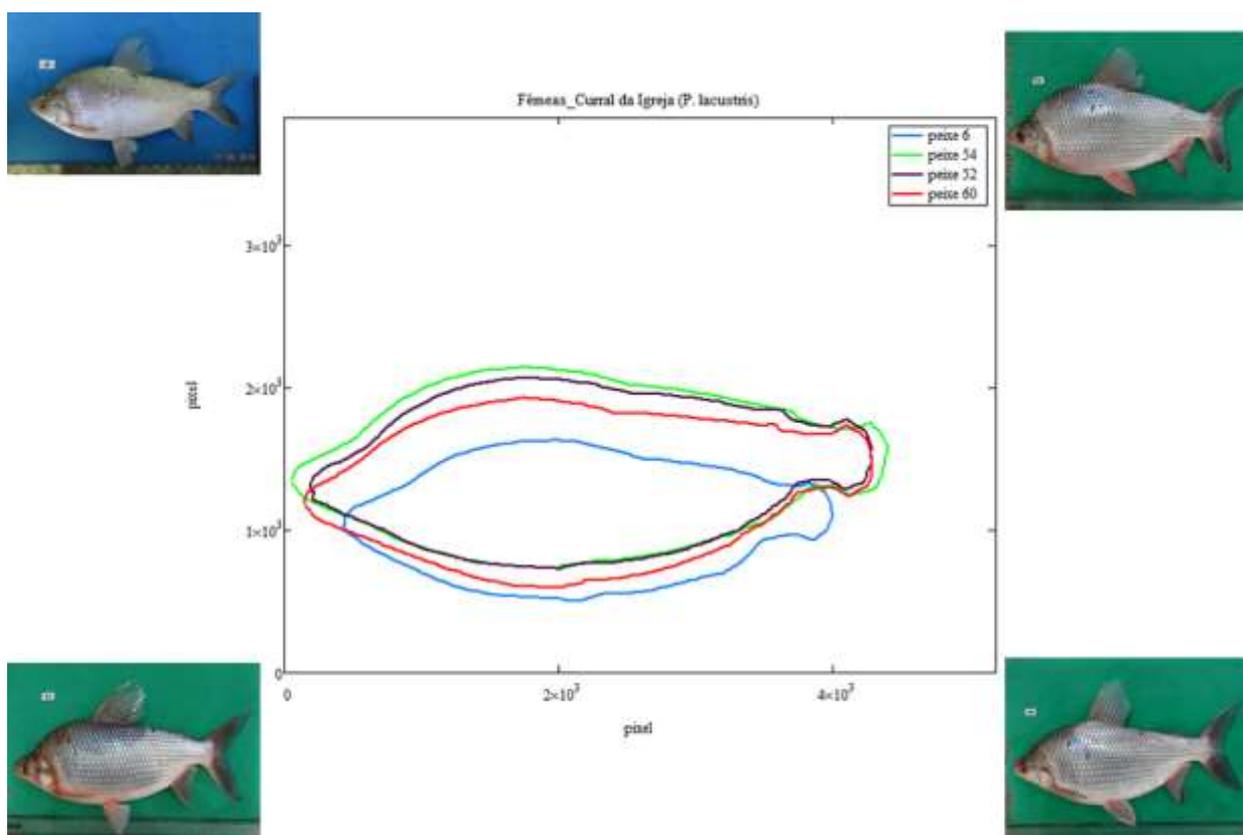


Figura 23. Contorno das formas e imagens dos peixes 6, 54, 60 e 71 (ID de coleta) que apresentaram variações na análise, expressas no 1º harmônico avaliado, no espectro esses organismos são indicados pelo IVG: 8, 11, 19 e 23.

A análise harmônica, que indica o comportamento dos harmônicos 2, 3 e 4, chama a atenção para as diferenças na forma, representadas pela variação dos ângulos de cada harmônico (figura 24A, 24B, 24C e 24D). O segundo harmônico foi igual para todos os IVGs estudados. Os IVGs 8 e 11, indicam que os ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 são semelhantes, e o contorno da forma de cada peixe também, indicam semelhanças, conforme foi representado na figura 24.

Ao observar os peixes de IVGs 13 e 19, os harmônicos 2 e 4, apresentam o mesmo ângulo, enquanto que o terceiro indica para diferenças sutis na forma. Todos os peixes encontravam-se no mesmo estágio de maturação gonadal, são exemplares com maturação completa. As diferenças observadas entre eles foram diferenças sutis na forma, indicadas nesta avaliação por uma observação dos harmônicos superiores (figura 24).

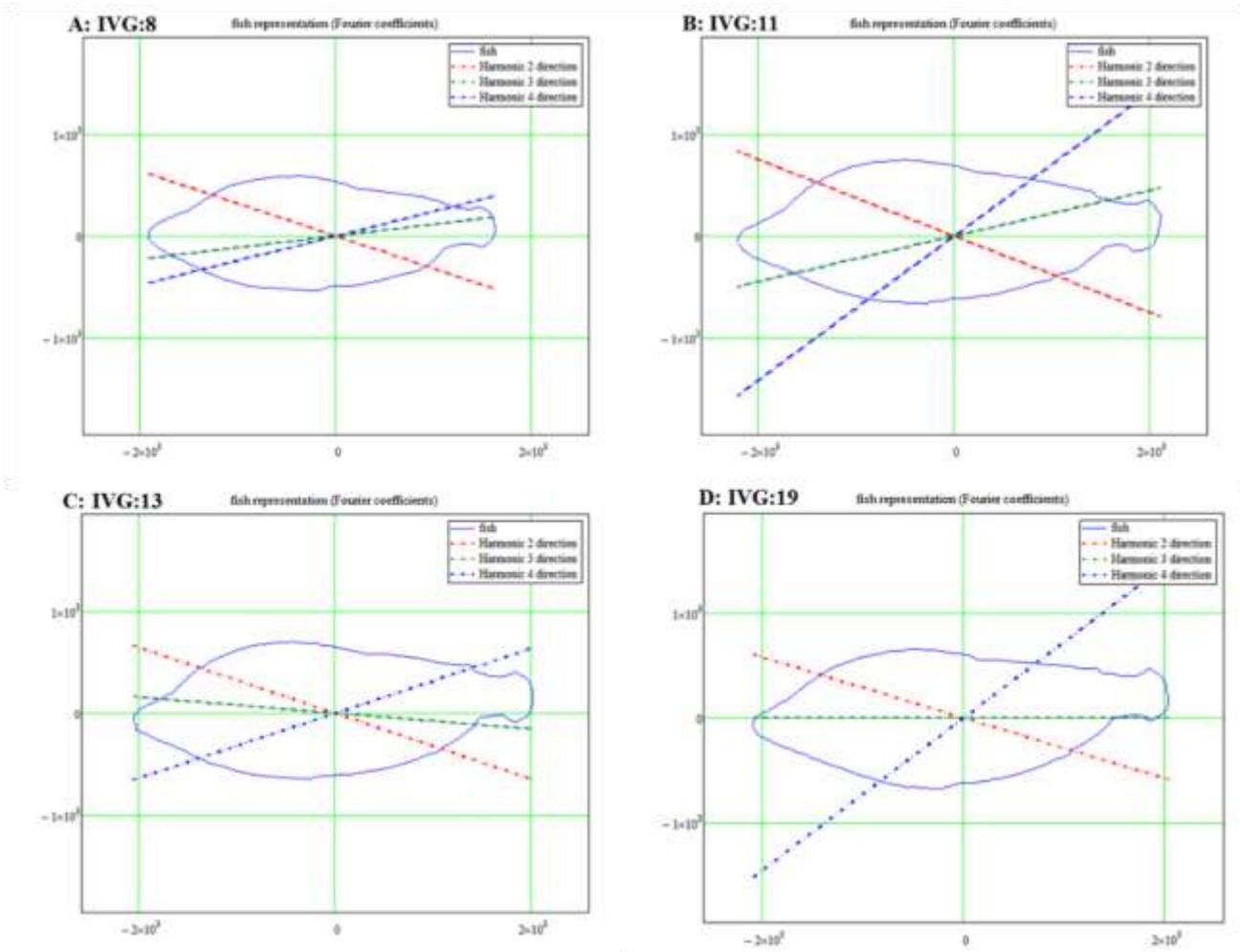


Figura 24. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG8_ID:6; (B) Harmônicos do peixe de IVG11_ID:54; (C) Harmônicos do peixe de IVG 13_ID:52 e (D) Harmônicos do peixe de IVG19_ID:60.

Para alguns peixes de Curral da Igreja as diferenças na forma foram expressas somente no segundo harmônico, exemplo dos peixes numerados com o IVGs: 5, 12, 14 e 21, indicados no espectro da figura19, correspondendo aos IDs de coletas:7, 58, 39 e 64 (Figura 25). Os diferentes harmônicos foram caracterizados para os espécimes descritos e demonstram as variações entre a forma. Nota-se que todos os peixes, indicados no gráfico de modos (Fig. 25A, B, C e D), foram diferentes em relação aos valores expostos

em todos os 10 harmônicos, demonstrando que esses espécimes apresentam formas que se diferenciam.

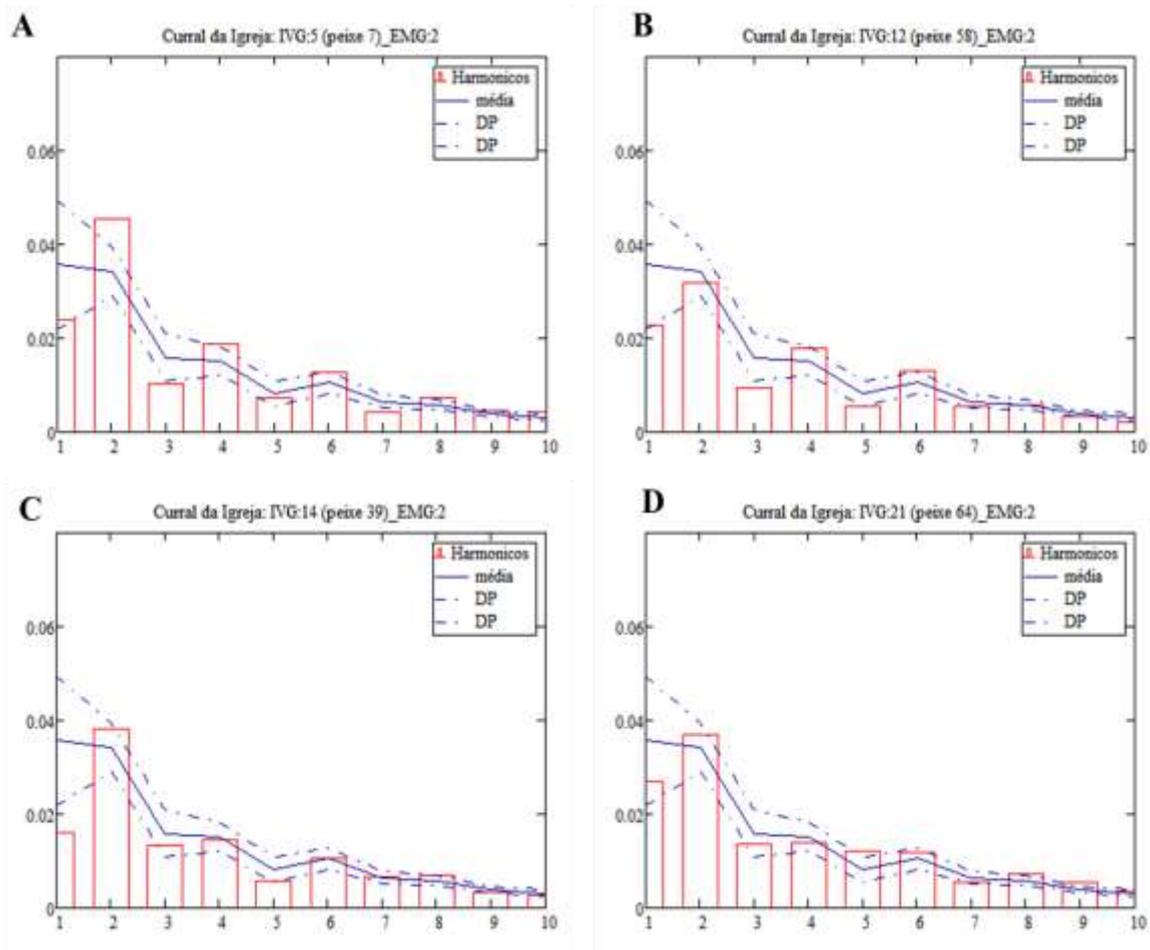


Figura 25. Harmônicos dos peixes de Curral da Igreja destacando os valores que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 2º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro com o IVG:5_ID:7; (B) Peixe indicado no espectro com IVG:12_ID:58; (C) Peixe indicado no espectro com IVG: 14_ID:39; (D) Peixe indicado no espectro com IVG: 21_ID:64.

Entre todos os peixes avaliados pelo segundo harmônico, indicados na figura 25, foi observado que cada harmônico apresentou valores diferentes, indicando variações no contorno das formas que, mesmo sendo diferenças sutis, foram perceptíveis pela análise harmônica. Uma avaliação mais refinada foi realizada para estes peixes, onde os harmônicos 2, 3 e 4 foram analisados de forma individual, indicados na figura 26.

Os peixes com os IVGs: 5, 12, 14 e 21 apresentaram ângulos diferentes para os harmônicos 2 e 4. Somente o terceiro harmônico indicou semelhanças para todos os

peixes. Essas variações nos harmônicos representam a região do contorno que existe diferenças na forma.

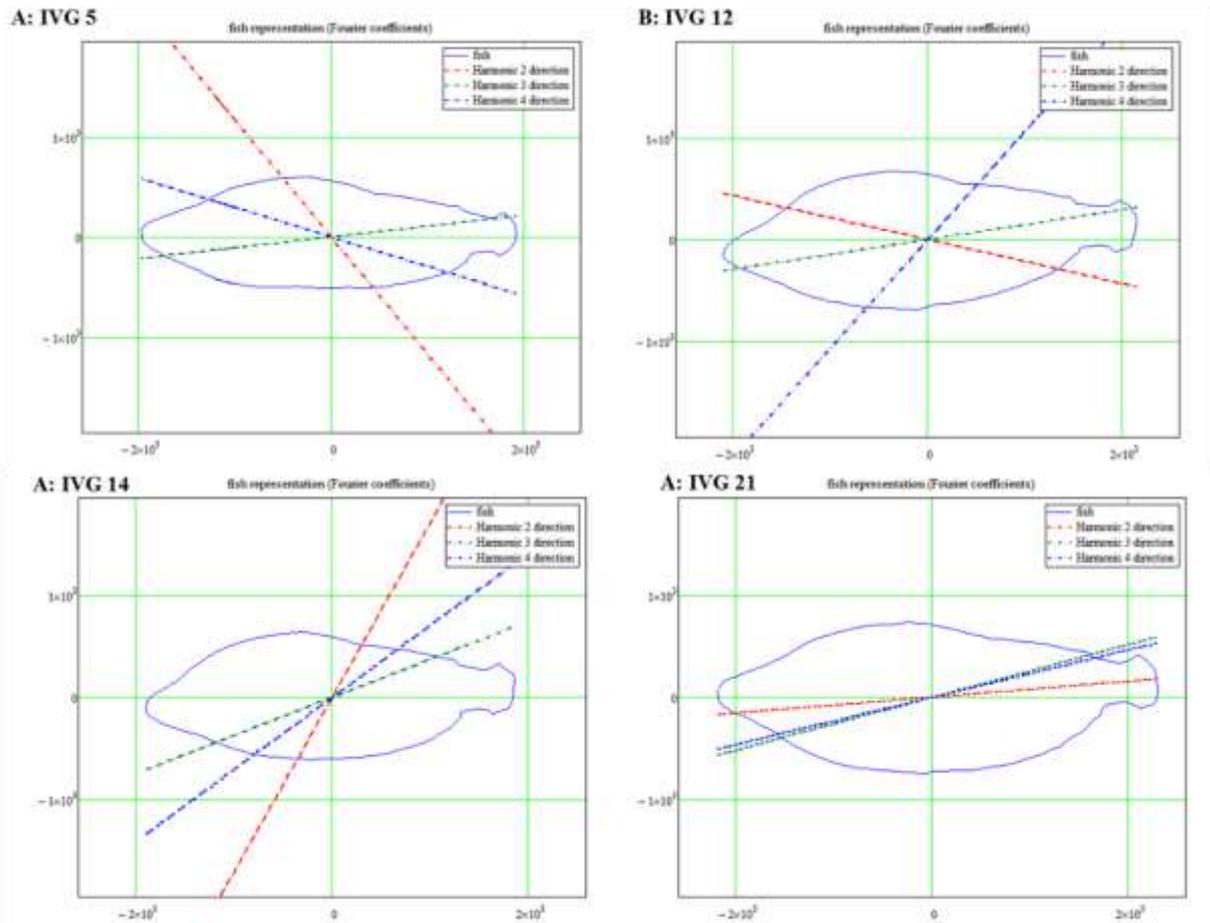


Figura 26. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 5; (B) Harmônicos do peixe de IVG12; (C) Harmônicos do peixe de IVG 14 e (D) Harmônicos do peixe de IVG21.

Os peixes (fêmeas) analisados da região de Engenho Grande não foram agrupados em nível de espécie em função de não obtermos resultados da genética para estes peixes. As fêmeas foram organizadas com a identificação de coleta (ID dos peixes: 6, 7, 8, 13, 14, 15, 21, 22, 26, 27, 28, 30, 32, 34, 35, 39, 41, 42, 43 e 44) e posteriormente foram reordenadas de 1 a 20 de acordo com o valor de seu índice gonadal (IVG:1 a 20).

Na região de Engenho Grande os contornos das formas dos peixes avaliados estão indicados na figura 27 que representa no eixo das abscissas os valores 1 a 20 indicando os contornos dos peixes (fêmeas) ordenados pelo seu índice gonadal (IVG). Neste gráfico, os contornos dos peixes de IVGs 3 e 11 que correspondem com o IDs 15 e 8 chamaram a atenção para o primeiro harmônico quando comparados com os outros peixes analisados.

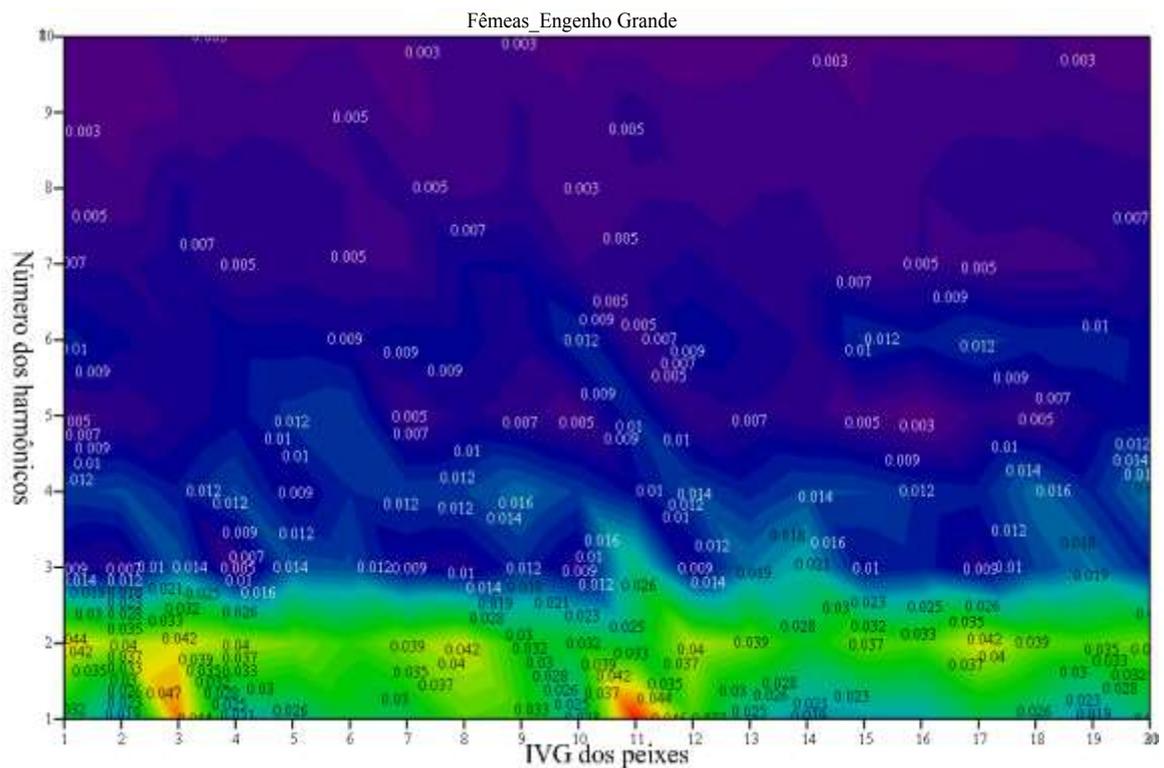


Figura 27. Espectro das 20 fêmeas coletadas em Engenho Grande, no eixo das abscissas os peixes representados pelo IVG: 3 e 11 apresentaram alteração na forma indicadas no primeiro harmônico. E os peixes representados nos IVG: 1,2,4,5,7,8,12,13,15,17,19 e 20 foram indicados no segundo harmônico.

As fêmeas que chamaram a atenção, no primeiro harmônico da análise, apresentaram gônadas em estágio de desenvolvimento avançado, com as medidas de comprimento total (Lt) 23 cm e 22,5cm; peso corporal (Wt) 191g e 158g; peso das gônadas (Wg) 17g e 30g, respectivamente. Os peixes que chamaram a atenção no espectro pelo primeiro harmônico, também podem ser observados no gráfico dos modos que indicam as diferenças entre os valores de cada harmônico analisado (Figura 28).

Foi observada uma distribuição diferenciada dos 10 harmônicos nos gráficos de modos, representados na figura 28A e 28B, onde o segundo harmônico foi maior que as médias em 28A. Na figura 28B o segundo harmônico foi menor que o primeiro e abaixo da média. Ao avaliar o contorno da forma e a imagem de cada peixe observa-se que estes peixes são diferentes, conforme indicado na figura 29.

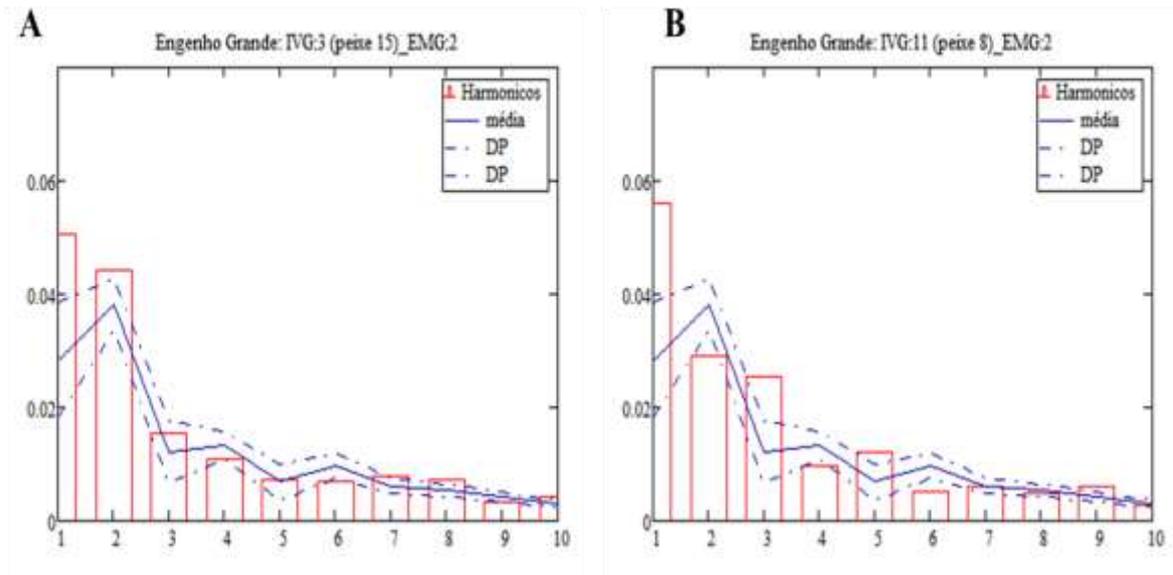


Figura 28. Harmônicos dos peixes de Engenho Grande destacando os valores dos harmônicos que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 1º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro IVG:3_ID:15. (B) Peixe indicado no espectro com o IVG:11_ID:8.

O contorno das formas mostradas no primeiro harmônico observado na figura 29 apresenta uma comparação entre os contornos dos peixes digitalizados com as imagens dos peixes coletados. Esta comparação permite entender a representação no espectro (figura 27), pois os peixes de IVG: 3 e 11 neste espectro apresentam formas muito diferentes, sendo distinguidos visualmente, e que foram muito bem representados na análise da forma, que é uma análise objetiva.

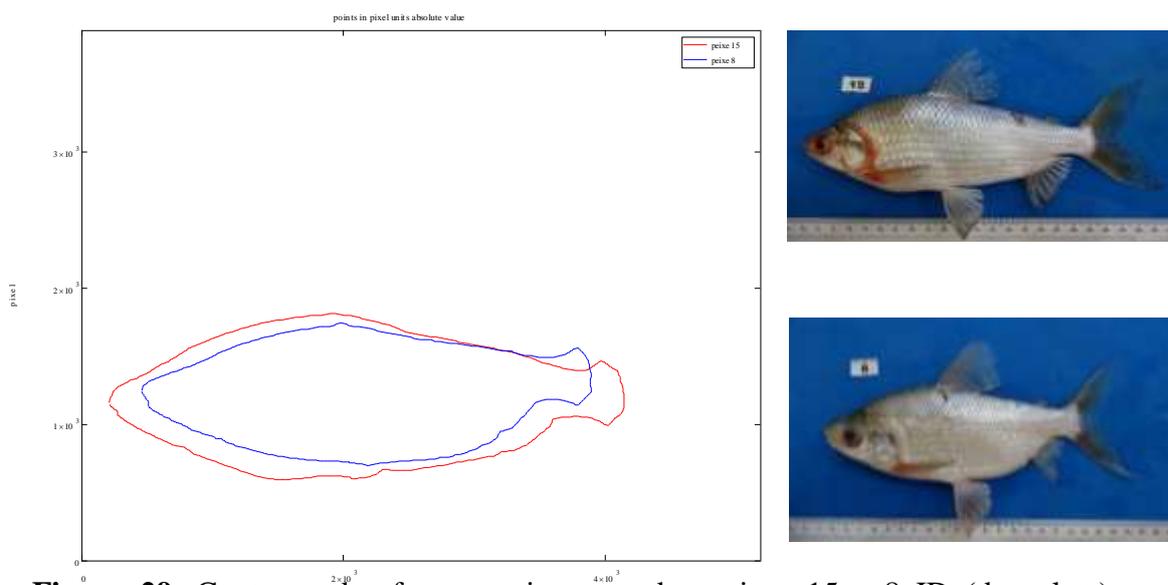


Figura 29. Contorno das formas e imagens dos peixes 15 e 8 ID (de coleta) que apresentaram variações na análise, expressas no 1º harmônico avaliado, no gráfico do espectro esses organismos são indicados com o IVG: 3 e 11.

Entre todos os 10 harmônicos é possível observar que existem muitos detalhes associados as formas de cada peixe, como foi indicado na figura 29. Em função desse comportamento, uma análise diferenciada para os harmônicos 2, 3 e 4 foi realizada buscando compreender as diferenças na forma dos peixes de IVG 3 e 11 (figura 30).

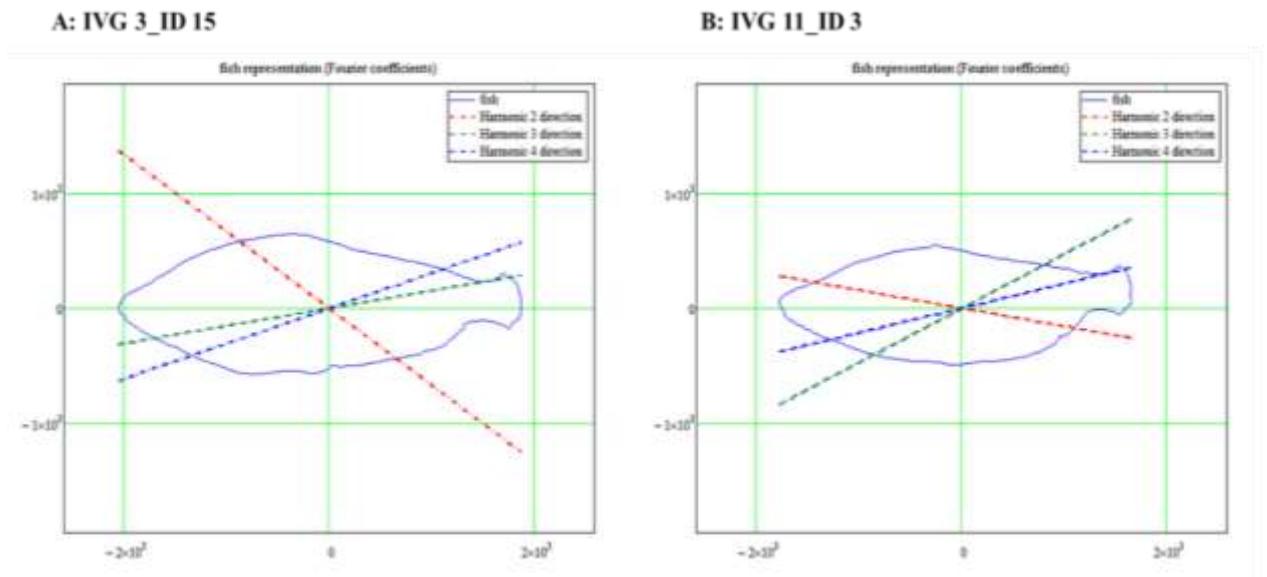


Figura 30. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 3_ID:15 e (B) Harmônicos do peixe de IVG11_ID:8.

A análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 indicam diferenças entre todos os três harmônicos avaliados, assim como o contorno da forma de cada peixe também, indicaram diferenças conforme foi representado na figura 30. Ao observar cada contorno, o peixe de IVG3, expressou os harmônicos 3 e 4, contendo ângulos com a mesma direção, que percorrem o corpo de todo o peixe, enquanto que o segundo harmônico apresentou direção diferente. Todos estes 3 harmônicos indicam as diferenças sutis na forma. O mesmo comportamento dos harmônicos foi identificado para o peixe de IVG 11. Todos esses peixes encontravam-se no mesmo estágio de maturação gonadal, são exemplares com maturação completa. As diferenças observadas entre eles podem ser justificadas pelas formas corporais em associação com os dados de maturação e medidas biométricas, indicadas nesta avaliação por uma observação dos harmônicos superiores (figura 30).

O resultado observado na figura 31 representa harmônicos dos contornos das formas de 4 peixes, indicadas no espectro pelos IVG: 4, 8, 12 e 17 com ID de coleta 7, 26,34 e 35. Nestes gráficos de modos, as formas avaliadas apresentaram diferenças no contorno dos peixes, que foram percebidas a partir do segundo harmônico, indicando uma

variação de forma mais sutil, representada pela análise dos ângulos dos harmônicos na figura 32.

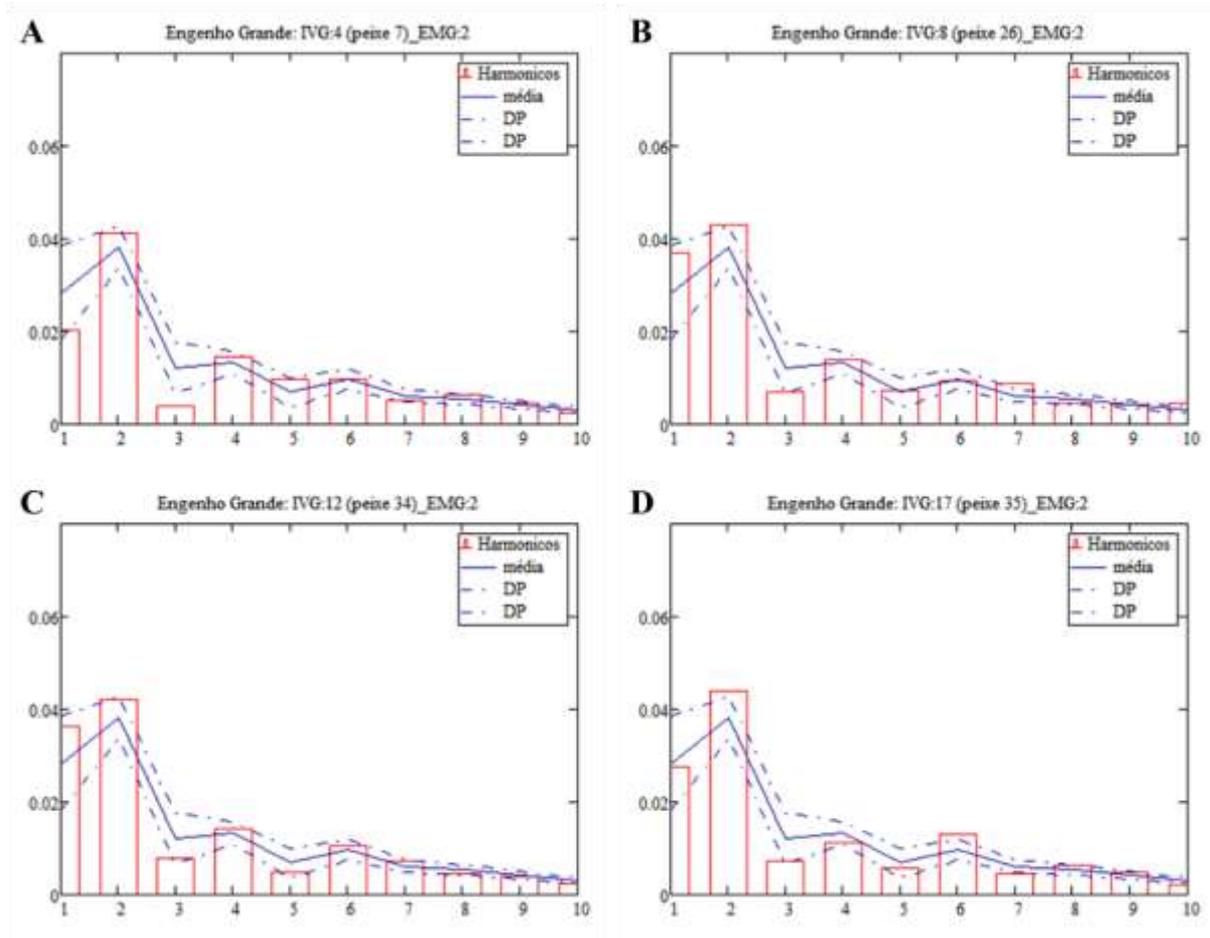


Figura 31. Harmônicos dos peixes de Engenho Grande destacando alguns valores que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 2º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro IVG 4_ID 7; (B) Peixe indicado no espectro IVG 8_ID 26; (C) Peixe indicado no espectro IVG 12_ID 34 e (D) Peixe indicado no espectro IVG 17_ID 35.

Podemos observar na figura 31 que todos os peixes, apresentam contorno de forma com uma representação diferenciada entre os 10 harmônicos avaliados, sendo que o segundo harmônico se destaca em todos os peixes. Essas variações de formas são indicadas pelas pequenas e grandes alterações identificadas no contorno de cada peixe.

Na figura 32, todos os peixes apresentam o terceiro harmônico na mesma direção. Os IVGs 4 e 12 apresentam o segundo harmônico em direções distintas (Fig. 32A e C). Enquanto que na figura 32B e 32D, o segundo harmônico apresentou a mesma direção. A direção do quarto do harmônico foi diferente somente para o contorno do peixe de IVG 8, representado na figura 32B.

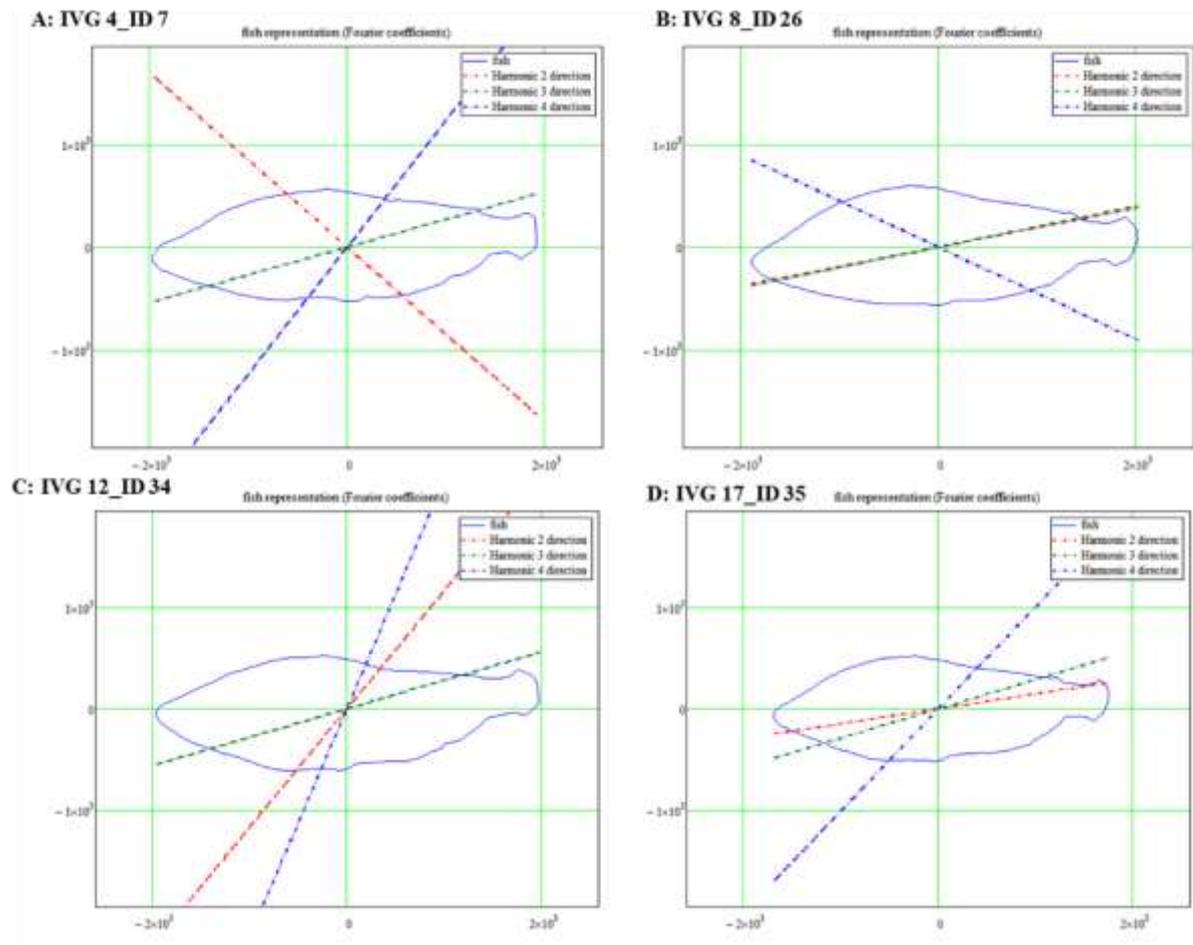


Figura 32. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 4_ID 7; (B) Harmônicos do peixe de IVG 8_ID 26; (C) Harmônicos do peixe de IVG 12_ID 34 e (D) Harmônicos do peixe de IVG 17_ID 35.

Essa avaliação foi capaz de identificar pequenas e grandes variações no contorno da forma dos peixes. Muitas dessas variações, ocorrem impulsionadas pela maturação sexual dos peixes, época onde o órgão sexual aumenta em tamanho e volume, provocando dilatações no corpo e alterações de forma, assim como outras podem acontecer por outros aspectos, pela biologia ou ecologia das espécies, durante seu ciclo de vida (BONFIM *et al.* 2015).

Os peixes coletados em Curral Igreja foram organizados em dois grupos de acordo com a classificação genética das espécies. No primeiro grupo estão os *Prochilodus nigricans* com os seguintes IVGs: 2; 4 ao 8; 10 ao 16 e 23. E no segundo grupo os *Prochilodus lacustris* com os IVGs 1; 3; 9; 17 ao 22 e 24 ao 57. Os harmônicos que avaliam o contorno da forma dos peixes estão elencados no gráfico de espectro na figura 33, onde podemos observar os contornos de forma que se destacaram na avaliação para o

primeiro harmônico, a exemplo dos peixes de IVGs 10 e 11 (*P. nigricans*) e 26, 27 e 34 (*P. lacustris*).

Todos estes peixes apresentaram características, no contorno da sua forma, capazes de serem percebidas pela análise dos harmônicos da série de Fourier, indicando que estes peixes apresentam um formato corporal diferente dos outros peixes avaliados. Os gráficos dos harmônicos para estes peixes estão representados na figura 34. O contorno do peixe de IVG: 26 teve uma boa representação tanto para o primeiro como para o segundo harmônico da série (figura 33).

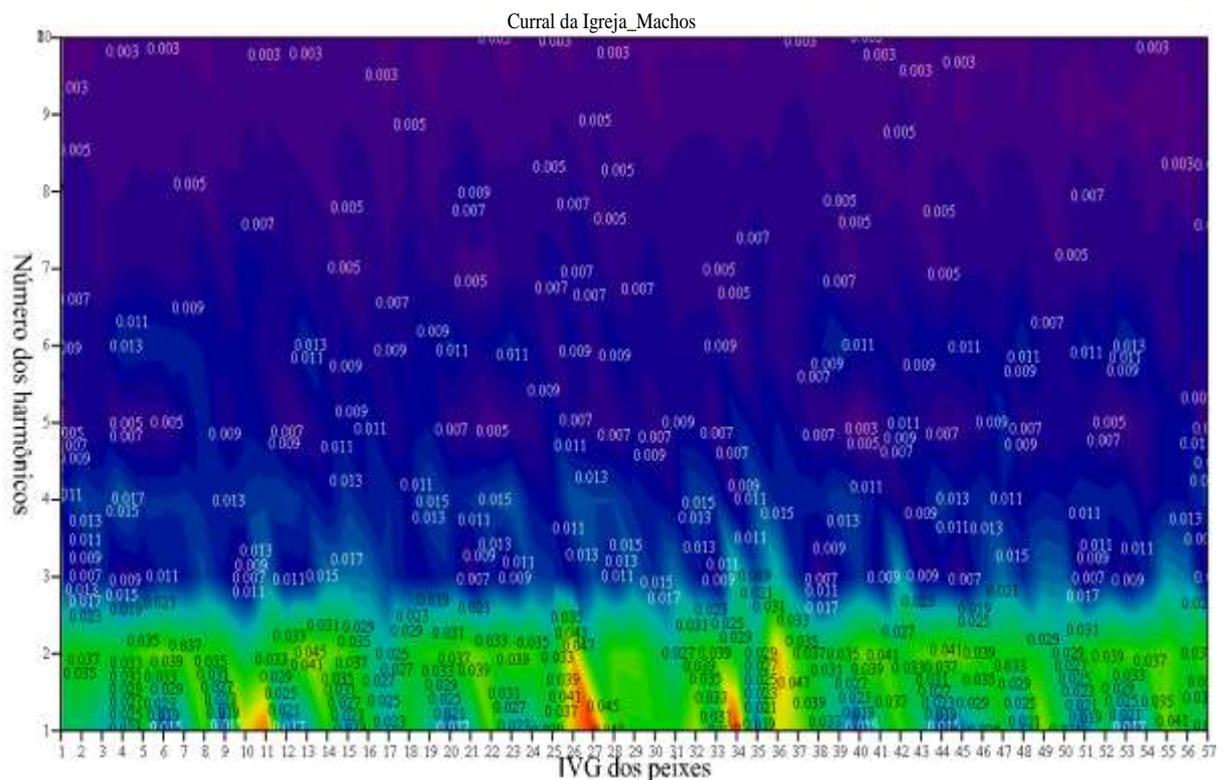


Figura 33. Espectro dos 57 machos coletados em Curral da Igreja. No eixo das abscissas encontram-se os contornos da forma dos peixes representados pelos IVGs: 10, 11, 26, 27 e 34 apresentaram alteração na forma indicadas no primeiro harmônico. O IVG 26 apresentou alteração no primeiro e segundo harmônico de Fourier e IVG 36 se destacou no espectro para o segundo harmônico, enquanto que os outros contornos foram representados pelos harmônicos superiores.

As formas representadas pelos harmônicos nas figuras 34 e 36 indicam alguns dos contornos da forma dos peixes que apresentaram as maiores diferenças entre os machos avaliados para esta região. Na figura 34, podemos destacar os valores dos harmônicos superiores, sendo que o terceiro harmônico em todos os gráficos da figura 34, mostrou diferenças entre os peixes. Podemos destacar que as principais diferenças no contorno dos peixes, foram influenciadas por fatores associados à sua morfometria, como

comprimentos e pesos, assim como fatores associados à sua ecologia e reprodução, como a classificação gonadal desses peixes.

A figura 34A representa os harmônicos de um peixe com uma classificação de estágio 0 de maturação gonadal, sendo este um organismo imaturo; na figura 34B verificamos que a classificação do peixe apresentou o estágio 1, ou seja, em maturação, esses organismos IVGs 10 e 11 são exemplares da mesma espécie (*P. nigricans*) que apresentam formatos corporais com pequenas variações na forma (34A e 34B). Os exemplares das figuras 34C e 34D, são *P. lacustris*, maduros sexualmente que apresentam a classificação 2. Estes resultados expressam as variações que cada espécime sofreu ao longo da sua trajetória de vida, inclusive durante a etapa de desenvolvimento gonadal, onde o corpo do organismo sofre muitas mudanças. Na figura 35 o contorno da forma de cada peixe foi sobreposto para indicar as variações entre estes.

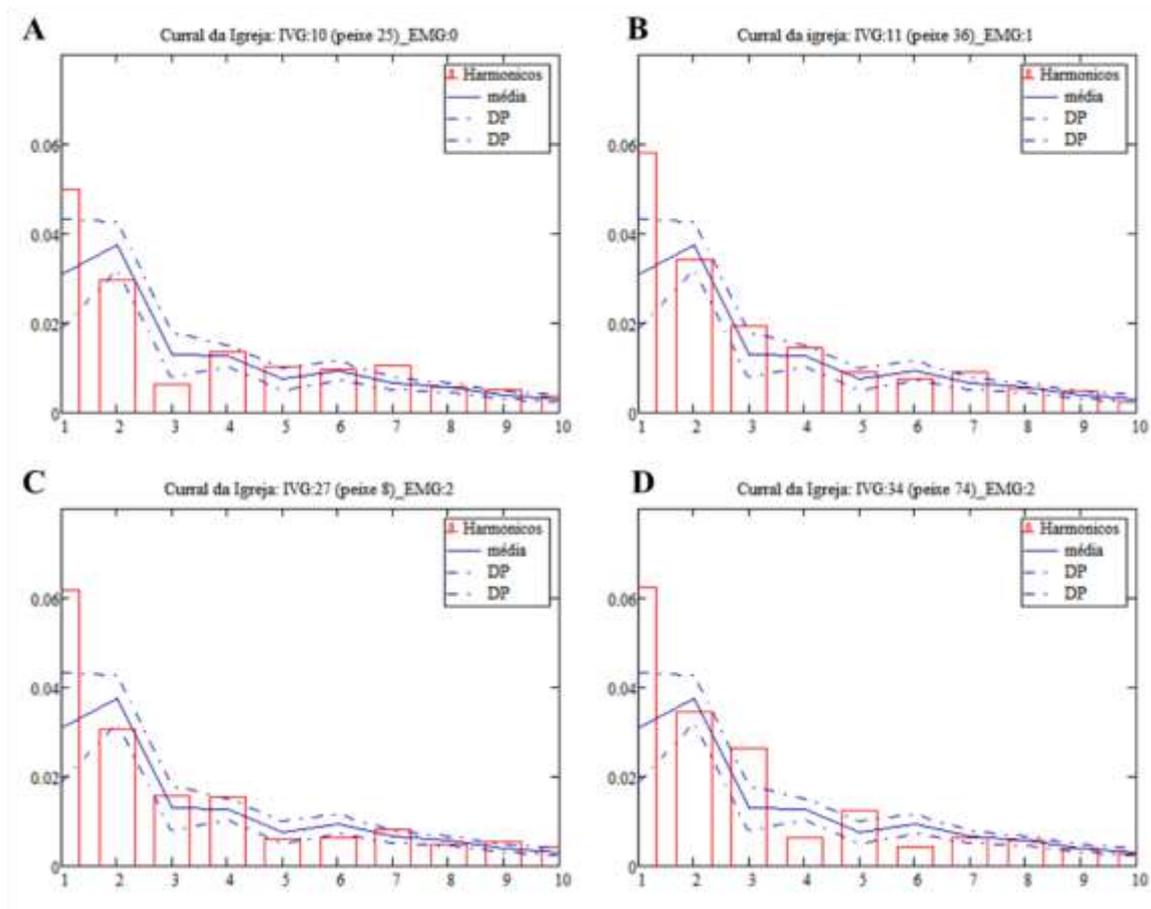


Figura 34. Harmônicos dos peixes de Curral da igreja destacando os valores dos harmônicos que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 1º harmônico. (A) *P. nigricans* indicado no espectro com o IVG:10_ID:25 (B) *P. nigricans* indicado no espectro com o IVG:11_ID:36. (C) *P.*

lacustris indicado no espectro com o IVG:27_ID:8 e (D) *P. lacustris* indicado no espectro com o IVG 34_ID:74.

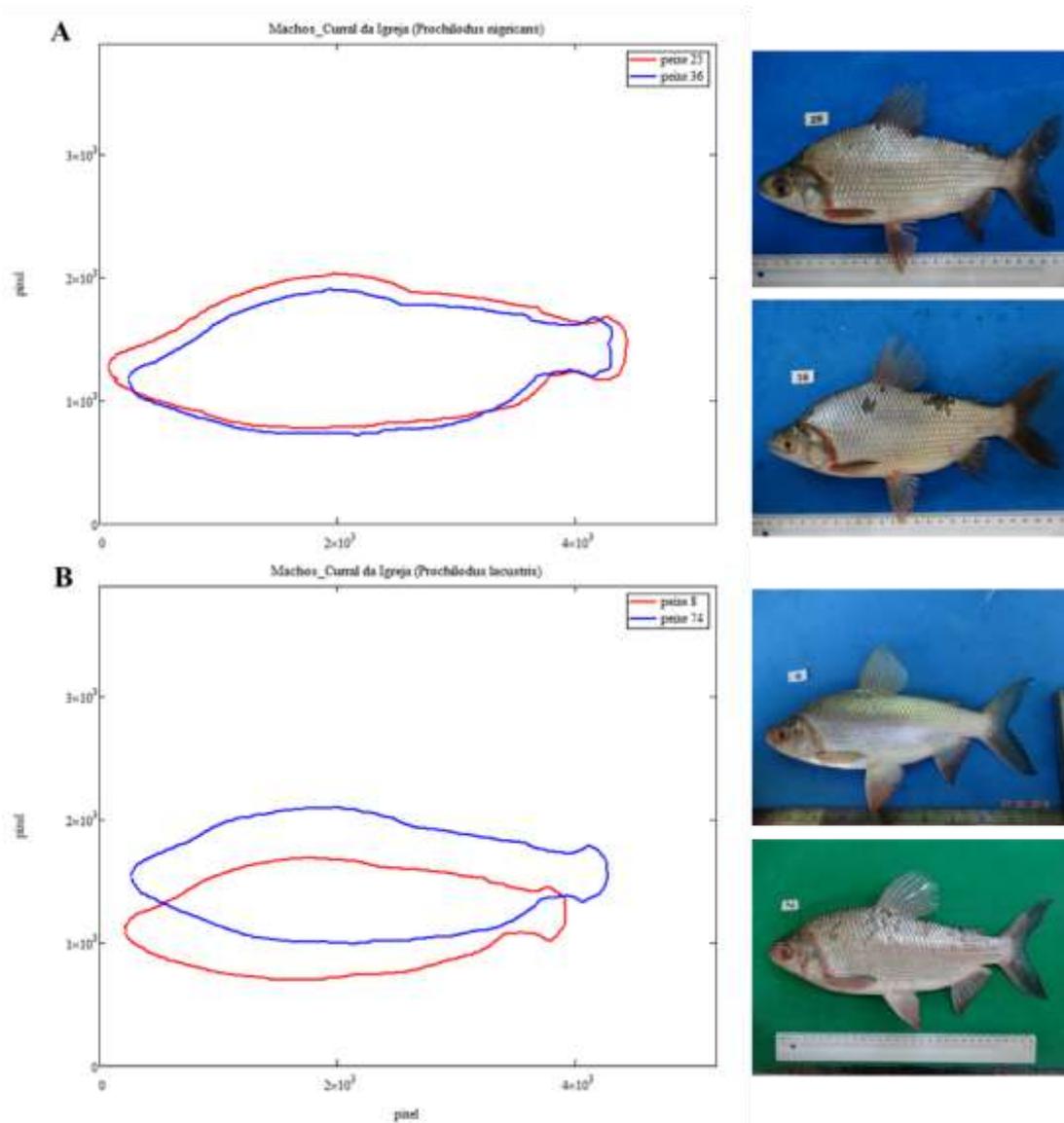


Figura 35. Contorno das formas e imagens dos peixes. (A) *Prochilodus nigricans* IVGs 10 e 11 e IDs 25 e 26. (B) *Prochilodus lacustris* IVGs 27 e 34 e IDs 8 e 74 que apresentaram variações na análise, expressas no 1º harmônico avaliado.

Na figura 36 foram representados os gráficos dos harmônicos dos espécimes de *Prochilodus lacustris* que chamaram mais a atenção pela análise para o segundo harmônico. Nesta avaliação o segundo harmônico expressou as maiores diferenças na forma destes peixes, que podem ter sido influenciadas por fatores externos ou internos. Os gráficos com as representações dos ângulos dos harmônicos superiores foram

agrupados na figura 37, onde podemos observar o comportamento do 2, 3 e 4 harmônicos para a forma de cada peixe.

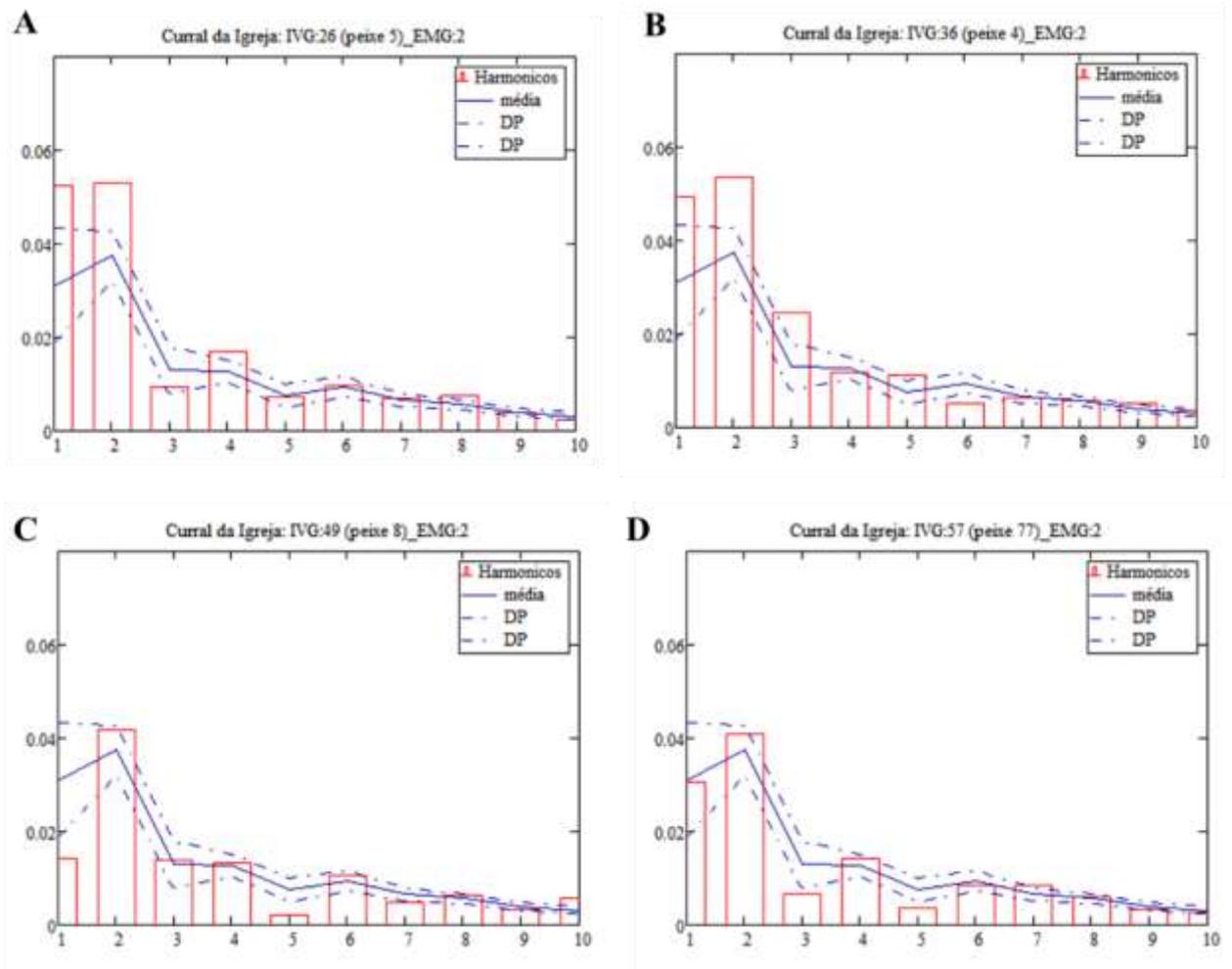


Figura 36. Harmônicos dos peixes de Curral da igreja, destacando os valores dos harmônicos que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças no 2º harmônico. (A) Peixe indicado no espectro IVG:26_ID:5. (B) Peixe indicado no espectro com o IVG:36_ID:4. (C) Peixe indicado no espectro IVG 49_ID:8 e (D) Peixe indicado no espectro IVG 57_ID:77.

Ao observar o contorno da forma e os ângulos de cada peixe (figura 37) entendemos que os harmônicos apresentam ângulos que indicam a direção das variações da forma, expressando os pontos em que cada peixe se diferencia. Os contornos dos peixes mostrados nas figuras 37A, 37B e 37C, aponta os ângulos dos harmônicos (2, 3 e 4) para a mesma direção da variação identificada nas formas avaliadas. Na forma da figura 37D, observaram-se direções distintas que se diferenciam em todos os harmônicos dos IVGs dos contornos mencionados anteriormente (fig. 37A, 37B e 37C).

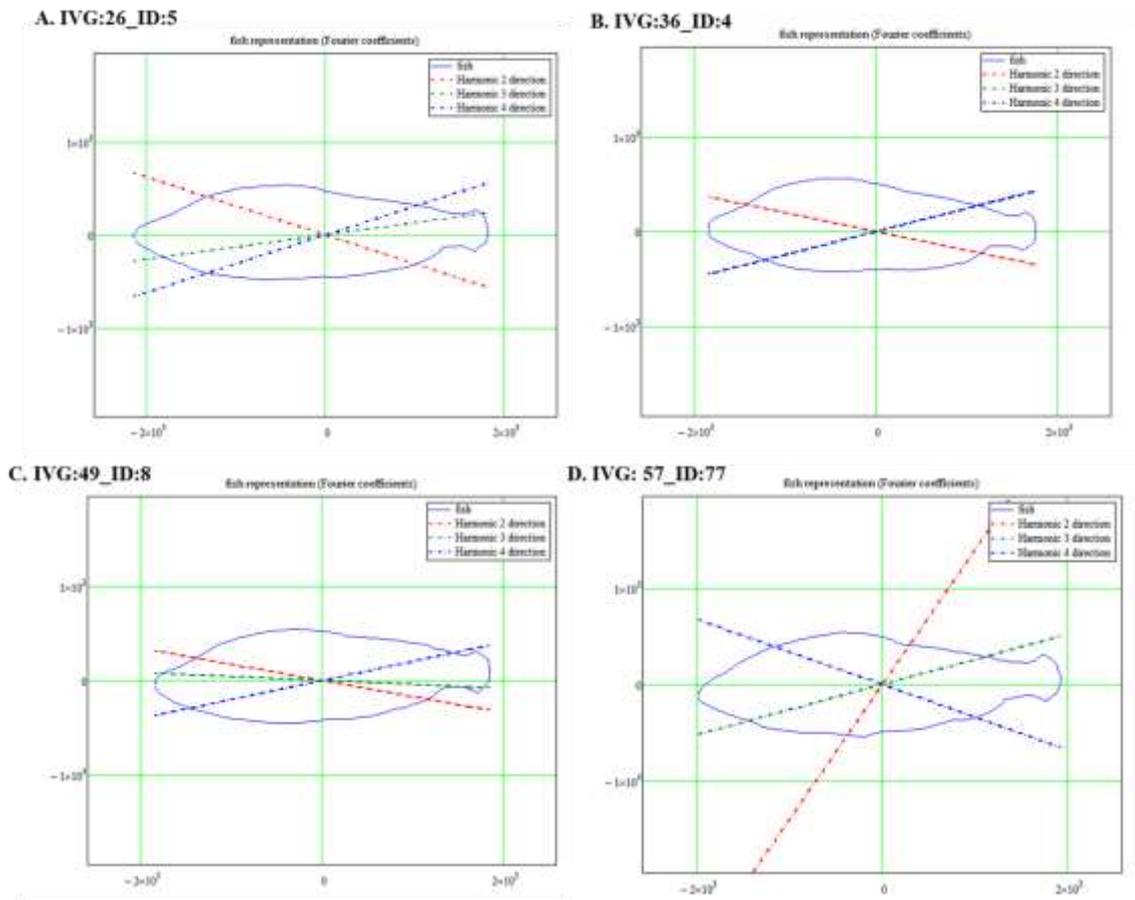


Figura 37. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 26_ID 5; (B) Harmônicos do peixe de IVG 36_ID 4; (C) Harmônicos do peixe de IVG 49_ID 8 e (D) Harmônicos do peixe de IVG 57_ID 77.

Esta avaliação confirma que existem muitos detalhes associados a forma de cada peixe e que este método é um passo inicial na indicação e avaliação objetiva destas variações de forma.

Na figura 38 encontra-se o resultado da avaliação dos peixes machos de Engenho Grande que foram analisados para os 10 harmônicos da série de Fourier. Neste conjunto, um peixe apresentou o contorno da sua forma, bem representada pelo primeiro harmônico da série. Enquanto que os demais exemplares foram avaliados a partir do segundo harmônico da série de Fourier. Neste sentido, selecionamos os contornos correspondentes aos IVGs 10, 11, 18 e 24, para representar os gráficos de harmônicos ou modos e a avaliação dos ângulos dos harmônicos superiores (2,3 e 4), que podem ser observados nas figuras 39 e 40.

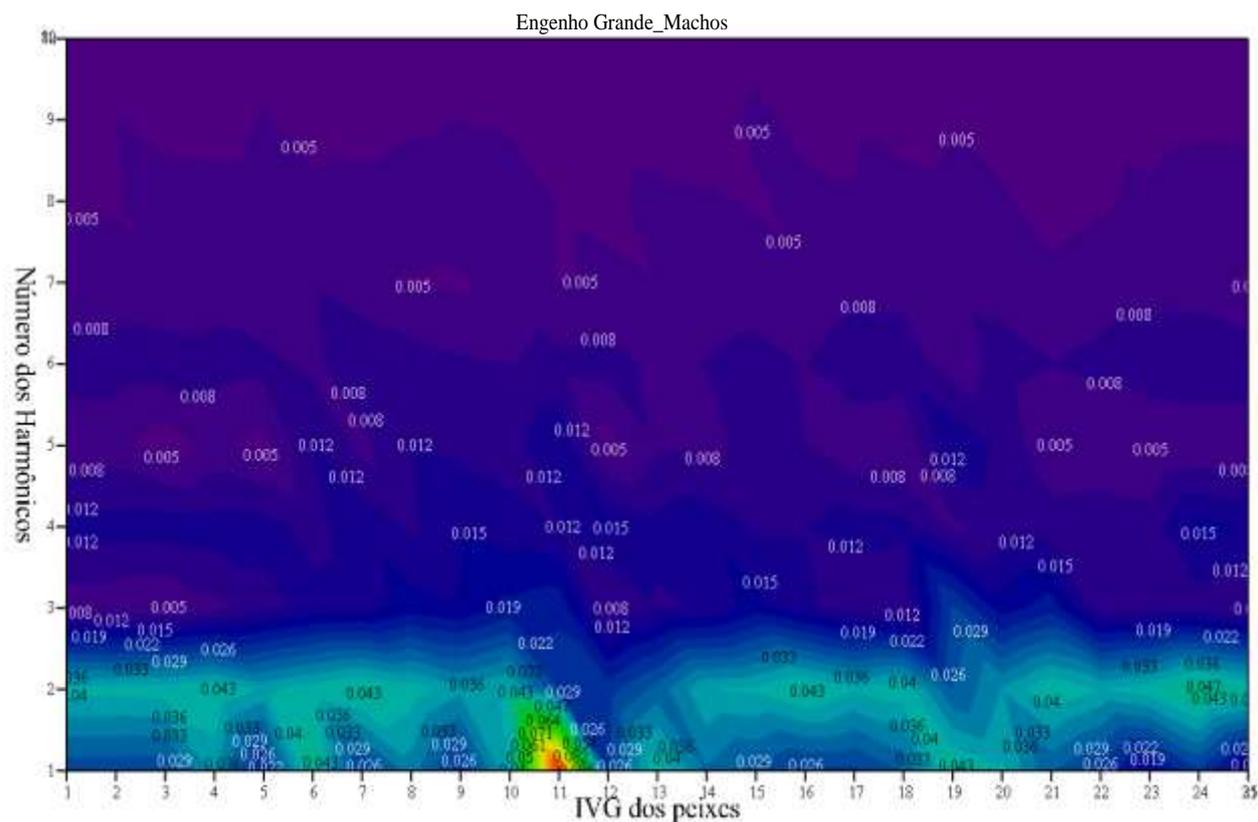


Figura 38. Espectro dos 25 peixes machos coletados em Engenho Grande, no eixo das abcissas encontram-se os contornos da forma do peixe representado pelos IVGs de cada peixe, no primeiro harmônico o IVG:11, foi melhor avaliado, enquanto que os demais foram melhor avaliados pelos IVGs superiores.

Nas figuras 39 e 40, os harmônicos para cada contorno das formas dos peixes indicaram uma representação diferenciada dos 10 harmônicos. O peixe da figura 39B, apresentou maiores valores para o primeiro harmônico, demonstrando que sua forma se adequou mais ao primeiro harmônico. O peixe da figura 39A, apresentou valores semelhantes para o primeiro e segundo harmônico, mantendo-se na média, enquanto que os peixes das figuras 39C e 39D, apresentam um padrão semelhante para os 10 harmônicos, com destaque para o segundo harmônico da série de Fourier.

Ao observar os detalhes da forma de cada peixe, os gráficos dos ângulos dos harmônicos superiores, representados na figura 40, indicaram uma semelhança entre todos os peixes (Fig. 40A, 40B, 40C e 40D); os ângulos para o terceiro harmônico de todos os peixes da figura 40, indicaram a mesma direção; os ângulos dos harmônicos 2 e 4, indicam direções diferentes para as variações nas formas dos peixes avaliados na figura 40, essas direções foram distintas da direção do 3 harmônico.

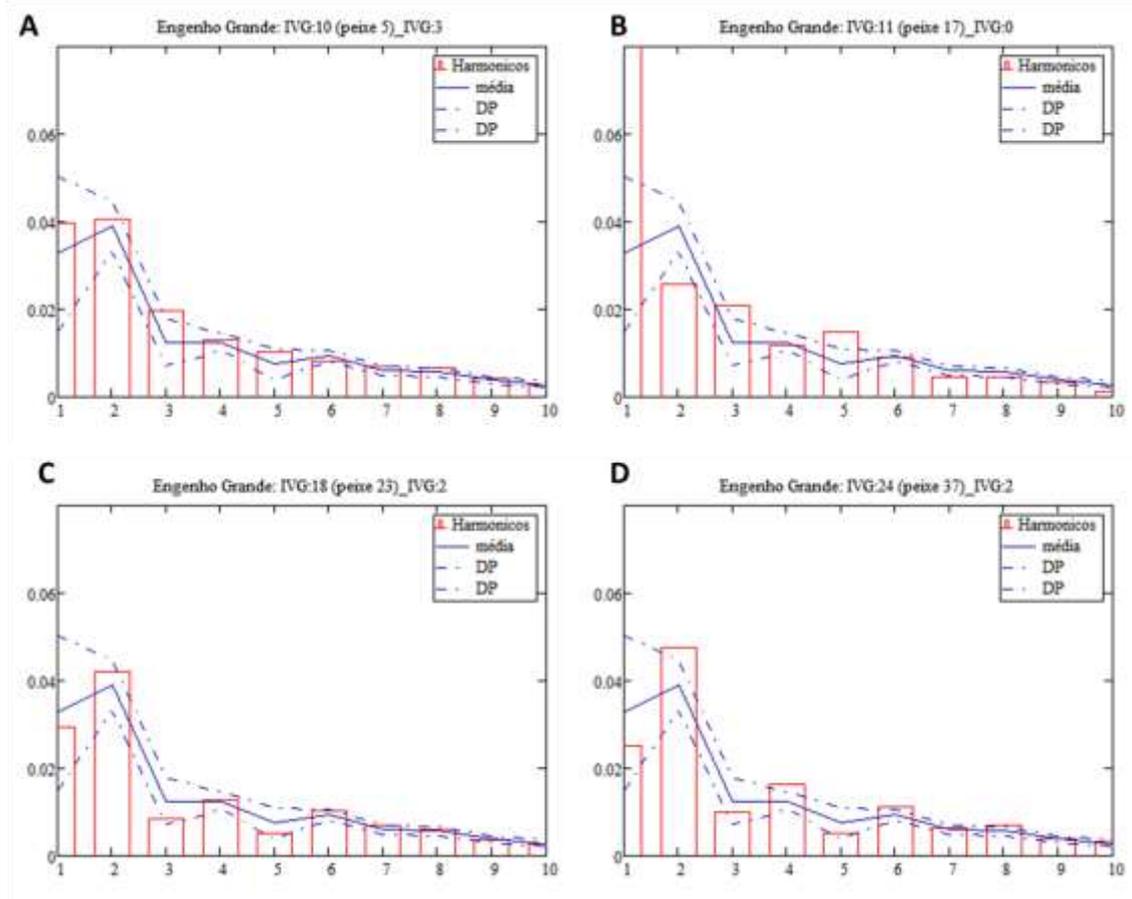


Figura 39. Harmônicos dos peixes de Engenho Grande, destacando os valores dos harmônicos que representam os contornos das formas dos peixes que apresentaram maiores diferenças nos 1º e 2º harmônicos. (A) Peixe indicado no espectro IVG:10_ID:5. (B) Peixe indicado no espectro com o IVG:11_ID:17. (C) Peixe indicado no espectro IVG 18_ID:23 e (D) Peixe indicado no espectro IVG 24_ID:37.

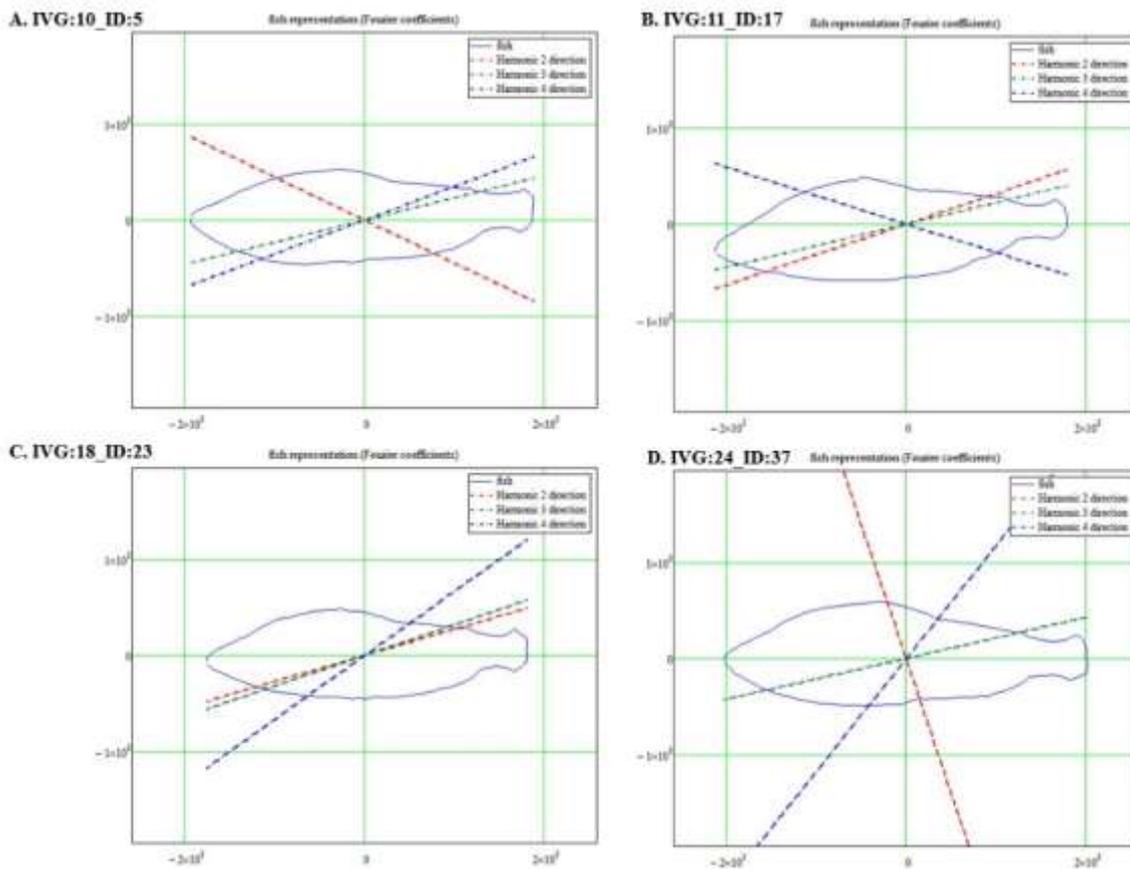


Figura 40. Análise dos ângulos dos harmônicos 2, 3 e 4 dos peixes. (A) Harmônicos do peixe de IVG 10_ID:5; (B) Harmônicos do peixe de IVG 11_ID:17; (C) Harmônicos do peixe de IVG 18_ID:23 e (D) Harmônicos do peixe de IVG 24_ID:37.

Essas diferenças de formas de padrões e contornos de formas dos peixes (Fig. 40 e 41) e aspectos biológicos, como as proporções corporais, ficam evidenciadas nas análises dos harmônicos, principalmente ao se observar os harmônicos superiores, que apontam as variações dos ângulos (Fig.40).

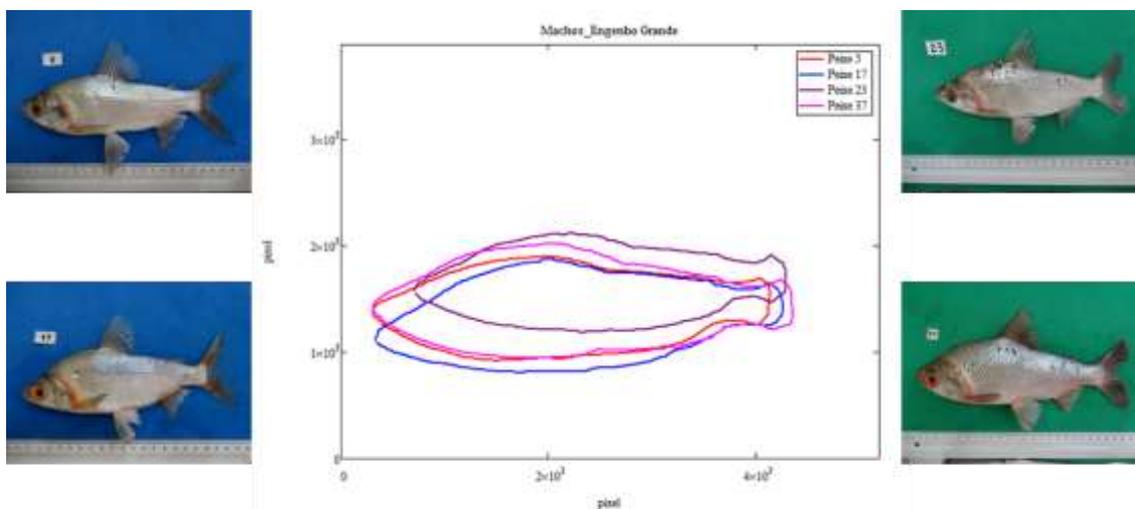


Figura 41. Contorno da forma digitalizada e imagens dos peixes machos de Engenho Grande, IVGs 10,11, 18 e 24, correspondendo aos IDs 5, 17, 23 e 37.

A análise aplicada neste estudo sobre os diferentes ângulos dos harmônicos superiores (2, 3 e 4) é importante e inovadora, por indicar qual a direção na forma dos peixes que apresenta diferenças identificadas pelos harmônicos da série de Fourier. Essa investigação é válida por considerar cada espécime como uma forma em particular, proporcionando uma pesquisa investigativa em cada peixe e, posteriormente, associando as informações de variações de forma aos dados da morfometria e ecologia dos peixes.

As discussões sobre a forma dos peixes, neste trabalho, buscaram inicialmente identificar e relacionar os diferentes padrões de formas corporais observados nos peixes e associá-los com os estádios de maturação desses indivíduos. De acordo com Lombarde e Tuset (2015) forma é a configuração de um objeto, no entanto, pensar sobre o termo, forma de maneira objetiva, requer outras definições. Essa complexidade acontece por múltiplos motivos, inclusive, pelo fato de forma está vinculada àquilo que é percebido e ou observado por um espectador (PARRILHA DA SILVA; DANHONI NEVES, 2015)..

A percepção das formas é muito utilizada no campo das artes visuais, e ao abordar a Arte, entende-se que na arte quase tudo é possível, pois este campo de estudo tem a capacidade de superar e transpor os limites do real (PARRILHA DA SILVA; DANHONI NEVES, 2015). Sendo necessário, que na pesquisa científica exista a objetividade nos métodos aplicados, mas sem esquecer a subjetividade do pesquisador. Neste trabalho, nosso propósito foi identificar as variações de forma, aplicando uma metodologia objetiva, que foi capaz de perceber os diferentes padrões de formas e indicar as variações existentes nestes padrões.

Para se identificar os padrões de formas, surgiu a digitalização de imagens, como um subsídio às análises das formas corporais ou de objetos, em biologia são aplicadas a algumas estruturas (otólitos, escamas, asas), tornando mais fácil suas avaliações (LOMBARDE; TUSET, 2015). A digitalização do contorno dessas estruturas e sua análise por séries de Fourier, tem sido um método eficaz para as diferentes formas em Biologia e tem sido aplicado em múltiplos estudos (KUHL, GIARDINA, 1982; LOMBARDE; TUSET, 2015). Porém, a aplicação das séries de Fourier para a análise da forma corporal dos peixes em Biologia é recente, sendo este um dos trabalhos pioneiros.

Durante a época reprodutiva a forma dos organismos passa por mudanças drásticas (VAZZOLER, 1996; NASCIMENTO et al. 2012; ANDRADE *et al.* 2015; BOMFIM *et al.* 2015). A busca de relações objetivas aplicadas aos estudos reprodutivos, não é recente. Alguns estudos realizaram a aplicação das séries de Fourier à forma de

otólitos de peixes, buscando a identificação do sexo e/ou idade dos organismos (BIRD *et al.*, 1986; FORSBERG; NEAL, 1993; CARDINALE *et al.*, 2004).

As séries de Fourier foram utilizadas em análises da forma de insetos, por Rohlf e Archie (1984), que buscavam as relações entre os diferentes padrões de forma das asas dos mosquitos (Diptera: Culicidae).

A avaliação da forma dos peixes de Curral da Igreja e Engenho Grande, indicaram indivíduos em diferentes estádios de maturação gonadal e espécies diferentes de curimatás, que nos permitiu comprovar a hipótese gerada nesta pesquisa, sendo perceptível as variações na forma por meio das aplicações dos harmônicos de Fourier.

Alguns organismos se relacionaram melhor com o primeiro harmônico da série de Fourier, outros com mais harmônicos, indicados pela avaliação dos ângulos dos harmônicos superiores, considerando o segundo, terceiro e quarto harmônico.

O método desenvolvido neste trabalho, buscou identificar as variações de formas de maneira objetiva, pois as séries de Fourier demonstraram ser eficientes para reproduzir matematicamente a forma dos objetos, estruturas ou organismos avaliados, sendo este um método rápido e eficaz.

Esta pesquisa pode ser classificada como pesquisa básica. Estamos avançando nas discussões sobre este método e ajustando a metodologia. Precisamos estabelecer uma amostra robusta para aplicação de uma estatística que confirme e valide os dados obtidos neste estudo.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise da forma de *Prochilodus spp.*, por séries de Fourier, foi capaz de identificar as diferenças entre os padrões de formas dos peixes, indicando os organismos com maiores proporções gonadais (IVG). O método foi capaz de identificar as variações na forma com a identificação dos harmônicos superiores, que comprovaram e indicam a direção das variações observadas nas formas dos peixes.

Foram identificados 3 estádios de maturação gonadal para fêmeas, de acordo com as classificações adotadas da literatura. E a aplicação do método de análise de forma com as séries de Fourier, auxiliaram na classificação dos estádios de maturação gonadal, sendo diferenciados os peixes sexualmente maduros dos imaturos, com a análise harmônica.

As análises genéticas indicaram 2 espécies de *Prochilodus spp.* oriundas da bacia do Mearim. Essas espécies contribuiriam para os padrões de formas observados neste

estudo. Onde foi possível fazer inferências sobre os diferentes padrões de forma identificados para cada espécie em estudo.

As implicações desta pesquisa indicaram dois caminhos que podemos seguir para avançar nesta linha de estudo; estamos percorrendo o estado inicial de prospecção do método desenvolvido, onde estamos buscando os meios de quantificação e validação dos harmônicos. E posteriormente seguiremos o segundo caminho, que consiste em aumentar o conjunto de dados e realizar experimentos teóricos com as séries de Fourier para consolidar a matemática associada a este estudo de padrões de formas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D.C.; ROHLF, F.J.; SLICE, D.E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. **Italian Journal of Zoology**, V. 71, n.1, p.5-16. 2004.

ANDRADE, E.S.; ANDRADE, E.A.; FELIZARDO, V.O.; PAULA, D.A.J.; VERAS, G.C.; MURGAS, L. D. S. Biologia reprodutiva de peixes de água doce. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** Belo Horizonte, v.39, n.1, p.195-201, 2015.

ARAÚJO, S.A.; GURGEL, H.C.B; NASCIMENTO, R.S.S. Indicadores do desenvolvimento gonadal e nutricional de *Prochilodus cearensis* (Steindachner, 1911) (Characiformes, Prochilodontidae) no açude Itans/Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 25, no. 2, p. 377-384, 2003.

BEMVENUTI, M.A e FISCHER, L.G. Peixes: morfologia e adaptações. **Cadernos de ecologia aquática**. v.5, n.2, 2010.

BIRD, J. L.; EPPLER, D.T.; CHECKLEY, D. M. Comparisons of herring otoliths using Fourier series shape analysis. **Can. 1. Fish. Aquat. Sci.** v.43, p. 1228-1234, 1986.

BOMFIM *et al.* Reproductive biology and variations in the gonadal development of the fish Curimatã (*Prochilodus brevis* Steindachner, 1875) in captivity. **Biota Amazônia**. Macapá, v. 5, n. 2, p. 65-70, 2015.

CARDINALE, M. DOERING-ARJES, P. KASTOWSKY, M. E MOSEGAARD, H. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** v.61, p.158–167, 2004.

CARVALHO-NETA, R.F.N.; DANTAS, J. G.; SOUSA, D.B.P.; ANDRADE, T.S.O.M.; FARIAS-FILHO, M.S. Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense: Desafios atuais e futuros para a gestão dos recursos aquáticos. In: CARVALHO-NETA, R.F.N. (Org.) **Áreas de Proteção Ambiental no Maranhão: Situação atual e estratégias de manejo**. São Luís-MA: UEMA, 2015.

CASTRO, R.M.C.; VARI, R.P. Family Prochilodontidae. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS JR., C.J. (Eds.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p. 65-70.

CASTRO, R.M.D; VARI, R.P. **Detritivores of the South American fish family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariphsyi: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study**. Smithsonian contributions to Zoology, n.622. Washington, D.C: Smithsonian books, 2004.

FERGUSON, G.J.; WARD, T.M.; GILLANDERS, B.M. Otolith shape and elemental composition: Complementary tools for stock discrimination of mullet (*Argyrosomus japonicus*) in southern Australia. **Fisheries Research**, v.110, p.75–83, 2011.

FONTELES-FILHO, A. A. **Oceanografia, biologia e dinâmica populacional de recursos pesqueiros**. Expressão Gráfica e Editora, Fortaleza. 2011.

FORSBERG, J.E; NEAL, P.R. Estimating Sex of Pacific Halibut (*Hippoglossus stenolepis*) Using Fourier Shape Analysis of Otoliths. **Technical Reports, The International Pacific Halibut Commission**, v. 29, p. 6-23, 1993.

GERÊNCIA DE PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO-GEPLAN. **Mapas de Bacias hidrográficas**, 2017.

GHOSH, M.; MUKHERJEE, J.; PAREKH, R. Fish Shape Recognition using Multiple Shape Descriptors. **International Journal of Computer Applications**. v.73, n.16, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Informações sobre os Municípios Brasileiros**. IBGE, 2014. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>. Acesso em: 18 de abril 2016.

KUHL, F.P.; GIARDINA, C.R. Elliptic Fourier Features of a Closed Contour. **Comput Graph and Image Process**. v. 18, p. 236-258, 1982.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. **Molecular Biology and Evolution**. 2015.

LE CREN, E. D. The Length – weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight and condition in the Perch (*Perca fluviatilis*). **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 20, p. 201-219, 1951.

LESTREL, P.E. *Fourier Descriptors and Their Applications in Biology*. **Cambridge University Press**, 1997.

LESTREL, P.E. From Elliptical Fourier Functions to wavelets: Three Decades of Boundary Morphometrics. In: **Biological Shape Analysis: Proceedings of the 4th International Symposium**. 4th ISBSA held at the UCLA School of Dentistry, Los Angeles, 2015.

LOMBARDE, A; TUSET, V.M. Morfometría de otolitos. In: VOLPEDO, A.V. e VAZ-DOS-SANTOS, A.M. **Métodos de estudios con otolitos: principios y aplicaciones**. 2015.

MARANHÃO. **Decreto nº 11.900 de 11 de junho de 1991**. Cria, no Estado do Maranhão, a Área de Proteção Ambiental da Baixada Maranhense, compreendendo 03 (três) Sub-Áreas: Baixo Pindaré, Baixo Mearim-Grajaú e Estuário do Mearim-Pindaré – Baía de São Marcos incluindo a Ilha dos Caranguejos. Disponível em: <<http://oads.org.br/leis/2192.pdf>> Acesso em 08 Set. 2016.

MELO, B. F.; SATO, Y.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. The roles of marginal lagoons in the maintenance of genetic diversity in the Brazilian migratory fishes *Prochilodus argenteus* and *P. costatus*. **Neotropical Ichthyology**. v.11, n.3, p. 625-636, 2013.

MELO, B.F.; SIDLAUSKAS, B.L.; HOEKZEMA, K.; FRABLE, B.W.; VARI, R.P.; OLIVEIRA, C. Molecular phylogenetics of the Neotropical fish family Prochilodontidae (Teleostei: Characiformes). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v.102, p.189-201, 2016.

MONTEIRO, L.R.; REIS, S.F. **Princípios de morfometria geométrica**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 1999. 198p.

MOTA, T. F. M.; PRIOLI, S. M. A. P.; PRIOLI, A. J. Estudos filogenéticos da ordem Characiformes: tendências e carências. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 20, n. 1, p. 21-36, 2014.

NASCIMENTO, M.M; NASCIMENTO, W. S.; CHELLAPPA, N. T. CHELLAPPA, S. Biologia reprodutiva do curimatã comum, *Prochilodus brevis* (Characiformes: Prochilodontidae) no açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Amazônica**. v. 2, n. 2, p. 31-43, 2012.

OLIVEIRA, C.; AVELINO, G.S.; ABE, K.T.; MARIGUELA, T.C.; BENINE, R.C.; ORTÍ, G.; VARI, R.P; CASTRO, R.M.C. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. **BMC Evolutionary Biology**. v.11, n.275, 2011.

PARRILHA DA SILVA, J.A e DANHONI NEVES, MC. Arte e Ciência: Possibilidades de reaproximações na contemporaneidade. **Interciencia**, v.40, n.6, 2015.

RAMOS, R.O.; PERET, A.C.; RAMOS, S.M.; MELO, J.S.C. Parâmetros reprodutivos do curimbatá no rio Mogi-Guaçu. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n.4, p. 520-525, 2010.

RAMSAR CONVENTION SECRETARIAT. **The Ramsar Convention Manual: a guide to the Convention on Wetlands (Ramsar, Iran, 1971)**, 6th ed. Ramsar Convention Secretariat, Gland, Switzerland. 2017.

RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). **Molecular Ecology Notes**. p.355-364.; 2007. Disponível em: <<http://www.boldsystems.org>> acesso em: 10 de jan. 2017.

REIDEL, A.; OLIVEIRA, L. G. *et al.* Avaliação de rendimento e características morfométricas do curimbatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836), e do piavuçu

Leporinus macrocephalus (Garavello & Britski, 1988) machos e fêmeas. **Revista Varia Scientia**, v. 04, n. 08, p. 71-78, 2004.

RODGVELLER CJ, HUTCHINSON CE, HARRIS JP, VULSTEK SC, GUTHRIE CM, III. Otolith shape variability and associated body growth differences in giant grenadier, *Albatrossia pectoralis*. **PLOS ONE**, V. 12, n.6, 2017.

ROHLF, F.J; ARCHIE, J.W. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera:Culicidae). **Systematic Zoology**, v.33, n. 3, p. 302-317, 1984.

ROHLF, J.F. tpsDIG, digitize landmarks and outlines. **Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook**. 2016.

RUSSO, T; SCARDI, M e CATAUDELLA, S. Applications of Self-Organizing Maps for Ecomorphological Investigations through Early Ontogeny of Fish. **PLOS ONE**, v.9, 2014.

SILVA, A. C; MOURA, E. G. Atributos e especificidades de solos de baixada no Trópico Úmido. In MOURA, E. G. (org.). **Agroambientes de Transição entre o trópico úmido e o semi-árido do Brasil**. São Luís: UEMA, 2004.

SOUTO, F. F.; GADOTTI, M. C. Sobre séries de Fourier. **C. Q. D.- Revista Eletrônica Paulista de Matemática**, Bauru, v. 8, p. 36-50, 2016.

SOUZA, L.P.; OLIVEIRA, N.I.S.; FLORENTINO, A.C. Relação peso-comprimento e o fator de condição do jaraqui, (Prochilodontidae: *Semaprochilodus* spp.) no município de Manacapuru, Amazonas. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 09, n.01, p. 45-56, 2016.

TORRES JÚNIOR, A.R.; SILVA, J.S.; CARVALHO NETA, R.N.F. Fourier Shape Descriptors in Fish Preliminary results with *Prochilodus*. **13ª Conference International Science and Computational Methods Engennier (ICCMSE 2017)**, Tesseloniki, Greece, 2017.

VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia de reprodução de peixes Teleósteos: Teoria e Prática**. Maringá: EDUEM, 1996. 169p.

WARD, R. D. et al. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc. B*, v. 360, p. 1847- 1857, 2005.

ZHANG, D. e LU, G. A Comparison of Shape Retrieval Using Fourier Descriptors and Short-Time Fourier Descriptors. In: Shum, H.-Y.; Liao, M.; Chang (Eds.): **PCM 2001, LNCS 2195**, Berlin, p.855–860, 2001.