

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**CENTRO DE AQUICULTURA**

**PARTICIPAÇÃO DO HORMÔNIO  
TRIIODOTIRONINA (T<sub>3</sub>) NO DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DO MATRINXÃ (*Brycon cephalus*)**

***Autora: Lucia Helena Vasques***

***Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati***

Tese apresentada ao Centro de Aquicultura da UNESP, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Aquicultura - Área de Concentração Aquicultura em Águas Continentais.

**JABOTICABAL  
ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL**

**2003**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**CENTRO DE AQUICULTURA**

**PARTICIPAÇÃO DO HORMÔNIO  
TRIIODOTIRONINA (T<sub>3</sub>) NO DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DO MATRINXÃ (*Brycon cephalus*)**

***Autora: Lucia Helena Vasques***

***Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati***

Tese apresentada ao Centro de Aquicultura da UNESP, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Aquicultura - Área de Concentração Aquicultura em Águas Continentais.

**JABOTICABAL**

**ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL**

**2003**

V335p Vasques, Lucia Helena  
Participação do hormônio triiodotironina (T3) no desenvolvimento inicial do matrinxã (*Brycon cephalus*). / Vasques Lucia Helena . -- Jaboticabal, 2003  
vi, 145 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Centro de Aqüicultura 2003

Orientadora: Elisabeth Criscuolo Urbinati

Banca examinadora: José Augusto Senhorini, Sergio Fonseca Zaiden, Laura Satiko Okada Nakaghi, Maria Célia Portela

Bibliografia

1. *Brycon cephalus*. 2. Desenvolvimento. 3. Triiodotironina. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aqüicultura.

CDU 639.3

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação.

## **MENÇÃO DE LOUVOR**

***A Deus, que me mostra em cada amanhecer a renovação da  
vida e da esperança...***

*"Mesmo que eu fale as línguas dos homens e dos anjos,  
Mesmo que eu tenha o Dom de profetizar,  
Se não tiver amor, nada sou..."*

1 Coríntios 13: 1-2

## **DEDICO**

***A meu pai, que me fez ver a vida como meu bem maior.***

***À minha mãe que nos ensinou que nada sobrepõe a união, a harmonia e o amor.***

***Ao Sergio, à Adriana e ao Marcos que souberam me mostrar o significado de união, harmonia e amor.***

***Aos meus cunhados Dô e Nete que me presentearam com a esperança em forma de vida, me dando :***

***..... O Mateus com a sua doce serenidade,***

***..... a Aline com sua garra e sabedoria***

***.... e a Jéssica com toda a sua alegria e desprendimento.***

***“ Há duas formas para viver a vida:  
Uma é acreditar que não existe milagre.  
A outra é acreditar que todas as coisas são um milagre.”***

**Albert Einstein**

## **HOMENAGEM ESPECIAL**

***À Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati que me fez aprender e compreender que,***

*"Mestre é aquele que caminha com o tempo, propondo paz, fazendo comunhão, despertando sabedoria. Mestre é aquele que estende a mão, inicia o diálogo e encaminha para a aventura da vida. Não é só aquele que ensina fórmulas, regras, raciocínios, mas aquele que também questiona e desperta para a realidade. Não é aquele que dá de seu saber, mas aquele que*

*az germinar o saber do discípulo. Feliz é aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina!"*

Cora Coralina

## **HOMENAGEM CARINHOSA**

***À Profa. Dra Laura Satiko Okada Nakaghi, pela convivência que resultou em uma grande amizade.***

***À Profa. Dra. Heid S. Leme dos Santos que me ensinou a dar os primeiros e decisivos passos em minha carreira.***

***Às Profas. Angelina T. Perrone Martins e Iracê M. de Castro Martins pela confiança, respeito e generosidade a mim oferecidos.***

*“ Semeia um pensamento e colherás um desejo; semeia um desejo e colherás a ação; semeia ação e colherás um hábito; semeia o hábito e colherás o caráter”*

Tihamer Toth

### **MENSAGEM DE CARINHO**

***À Elisa, que me fez ver a vida com outros olhos....***

***À Valéria, por me ensinar a ser sempre incansável mesmo frente às maiores batalhas....***

***Ao Sergio, meu grande e eterno amigo....***

***Ao Flávio, pela constante disponibilidade e afeto....***

***Ao Marcelo, pela sabedoria e convivência....***

***Ao André, exemplo de luta e garra....***

***Ao Cesário, pela boa vontade e grande amizade...***

***Ao Ricardo (Tatu), pelo otimismo e confiança....***

***À Gi, pela sensibilidade e bondade.....***



***Ao Ricardo Martins, por me ensinar a enxergar sempre além do momento....***

***À Elaine Versiani, pela paciência e docilidade....***

***Ao Afonsinho, pelo carinho e constante atenção.***

***À Denise, à Colete, ao Carlos e à Cida por permitirem-me chamá-los de amigos...***

*"Há companheiros dispostos a se fazerem mutuamente em pedaços, mas há um amigo que se apega mais do que um irmão."*

Pr. 18:24

## **AGRADECIMENTOS**

***A todos, indistintamente, que conviveram comigo no Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal - FCAVJ/UNESP por me concederem "asas" e me ensinarem a voar e a todos da Faculdade São Luís por permitirem que eu voasse....***

***Ao Dr. José Augusto Senhorini pela atenção, disponibilidade e aprendizado durante a realização da parte experimental deste trabalho.***

***À Profa. Dra. Maria Célia Portella pelas sugestões e valiosa contribuição na realização desta tese.***

***À Damares pelo carinho e grande amizade.***

***Ao Sr. Orandi, meu grande amigo e colaborador nos procedimentos histotécnicos.***

***À Vera Alice que sempre se mostrou pronta a me atender.***

***À Ana e ao Miguel, pessoas que admiro e respeito.***

***A todos os meus queridos e amados mestres que souberam me incentivar e conduzir meus passos.***

***À minha querida Jacinta que pacientemente tolerou minhas intolerâncias.***

***Ao Centro de Aqüicultura/UNESP que me acolheu e me deu a oportunidade de aprofundar meus conhecimentos.***

***Ao CEPTA/IBAMA de Pirassununga por conceder suas instalações e animais para a realização desta pesquisa.***

***A Todos aqueles que aqui não foram citados por falha ou esquecimento de minha parte, o meu muito obrigada!***

*"Assim como falham as palavras quando querem expressar qualquer pensamento, assim falham os pensamentos quando querem expressar qualquer realidade."*

Fernando Pessoa

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>01</b>
<b>ARTIGO CIENTÍFICO I - DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE MATRINXÃ (<i>Brycon cephalus</i>) APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA .....</b>	<b>15</b>
<b>ARTIGO CIENTÍFICO II - DESENVOLVIMENTO DA MUSCULATURA ESQUELÉTICA EM LARVAS DE MATRINXÃ <i>Brycon cephalus</i> APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA .....</b>	<b>33</b>
<b>ARTIGO CIENTÍFICO III - ANÁLISE MORFOLÓGICA DE COMPONENTES DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE LARVAS DE MATRINXÃ (<i>Brycon cephalus</i>) APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA .....</b>	<b>55</b>
<b>ARTIGO CIENTÍFICO IV - INFLUÊNCIA DA TRIIODOTIRONINA NO INÍCIO DO DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO DE MATRINXÃ (<i>Brycon cephalus</i>)....</b>	<b>78</b>
<b>ARTIGO CIENTÍFICO V - CANIBALISMO EM LARVAS DE MATRINXÃ <i>Brycon cephalus</i> APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA .....</b>	<b>99</b>
<b>ARTIGO CIENTÍFICO VI - TRIODOTHYRONINE TREATMENT OF MATRINXÃ <i>Brycon cephalus</i> (TELEOST, CHARACIDAE). EFFECT ON INITIAL GROWTH..</b>	<b>126</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>144</b>

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

### ARTIGO CIENTÍFICO I - DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE MATRINXÃ (*Brycon cephalus*) APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA

Tabela 1. Tempo (horas) de cada fase do desenvolvimento embrionário, após a fertilização.....21

Tabela 2. Taxa de eclosão (%) de larvas provenientes de ovos expostos a triiodotironina.....22

Figura 1. A- Fertilização dos ovos de matrinxã (*Brycon cephalus*). B- Incubadoras com ovos de matrinxã (*Brycon cephalus*).....26

Figura 2. Desenvolvimento embrionário do matrinxã (*Brycon cephalus*) .....27

### ARTIGO CIENTÍFICO II - DESENVOLVIMENTO DA MUSCULATURA ESQUELÉTICA EM LARVAS DE MATRINXÃ *Brycon cephalus* APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA

Tabela 1. Valores da área da seção transversal média da musculatura (ASTMM) de larvas provenientes de ovos expostos a triiodotironina (T<sub>3</sub>)..... 46

Figura 1. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) A- 6 horas após a eclosão (0,10ppm). Obj. 40x. B- 30 horas após a eclosão (0,05ppm). Obj. 20x. HE. \* (Fibras brancas). Seta (fibras vermelhas).....47

Figura 2. Fotomicrografias de cortes sagitais de fibras brancas de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A- 6 horas após a eclosão (0,00ppm). B- 18 horas após a eclosão (0,01ppm). C- 30 horas após a eclosão (0,05ppm). Seta (núcleos de mioblastos). HE. Objetiva 40x.....48

**Figura 3. Fotomicrografias de cortes sagitais de fibras brancas de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A- 42 horas após a eclosão (0,00ppm). Obj. 40x. B- 126 horas após a eclosão (0,01ppm). Obj. 40x. C- 198 horas após a eclosão (0,05ppm). Obj. 20x. Seta (núcleos de mioblastos). HE.....49**

**Figura 4. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A- 270 horas após a eclosão (0,05ppm). B- 270 horas após a eclosão (0,10ppm). Seta maior (fibras vermelhas). Seta menor (núcleos das fibras brancas). Objetiva 10x. HE.....50**

### **ARTIGO CIENTÍFICO III - ANÁLISE MORFOLÓGICA DE COMPONENTES DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE LARVAS DE MATRINXÃ (*Brycon cephalus*) APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA**

**Figura 1. Fotomicrografias de cortes sagitais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) A- 6 horas após a eclosão (0,10ppm) e B- 18 horas após a eclosão (0,01ppm). V (saco vitelínico). HE. Objetiva 10x.....68**

**Figura 2. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 18 horas após a eclosão. A- 0,00ppm; B- 0,01ppm; C- 0,05ppm e D- 0,10ppm. Tubo digestório (seta). HE. Objetiva 10x.....69**

**Figura 3. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 30 horas após a eclosão. A- 0,00ppm e B- 0,05ppm. Camada mucosa do estômago (seta) HE. Objetiva 20x. ....70**

**Figura 4. Elétron-micrografias de varredura de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 42 horas após a eclosão. A, B e C- Ataque no sentido postero-anterior (0,00ppm, 0,01ppm e 0,05ppm). D- Ataque no sentido ântero-posterior (0,10ppm). E e F- Larvas mal formadas (predadas) com 54 horas após a eclosão (0,10ppm). ....71**

**Figura 5. Fotomicrografias de cortes sagitais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 54 horas após a eclosão. A- 0,01ppm e B- 0,05ppm. Saco vitelínico (V). Vilosidades (seta). HE. Objetiva 5x.....72**

**Figura 6. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A- 54 horas após a eclosão (0,05ppm) Obj. 20x. B- 126 horas após a eclosão (0,10ppm) Obj. 10x. C- 198 horas após a eclosão (0,00ppm) Obj. 20x. D- 198 horas após a eclosão (0,05ppm) Obj. 20x. Seta (células vacuoladas), \* (Luz do estômago) e F (Fígado). HE. ....73**

#### **ARTIGO CIENTÍFICO IV - INFLUÊNCIA DA TRIIODOTIRONINA NO INÍCIO DO DESENVOLVIMENTO E CRESCIMENTO DE MATRINXÃ (*Brycon cephalus*)**

**Tabela 1. Taxa de eclosão (%) de larvas provenientes de ovos expostos a triiodotironina ( $T_3$ ). ..... 91**

**Tabela 2. Área do saco vitelínico (mm<sup>2</sup>) de larvas provenientes de ovos expostos a triiodotironina ( $T_3$ ). ..... 91**

**Tabela 3. Peso e comprimento de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) provenientes de ovos hidratados com triiodotironina ( $T_3$ ). ..... 92**

**Tabela 4. Taxa de crescimento específico de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) provenientes de ovos expostos a triiodotironina. .... 91**

**Figura 1. A- Incubadoras utilizadas até 54 horas após a eclosão. B- Aquários utilizados entre 54 a 342 horas de eclosão. .... 93**

**Figura 2. Fotografia de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 6; 18; 30; 42; 54; 126; 198; 270 e 342 horas após a eclosão. A- 0,00ppm; B- 0,01ppm; C- 0,05ppm e D - 0,10ppm. ....94**

**ARTIGO CIENTÍFICO V - CANIBALISMO EM LARVAS DE MATRINXÃ *Brycon cephalus* APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA**

- Tabela 1- Incidência de canibalismo em larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) provenientes de ovos hidratados com triiodotironina. .... 112**
- Tabela 2- Peso e comprimento de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) provenientes de ovos hidratados com triiodotironina. .... 113**
- Figura 1. A- Incubadoras utilizadas até 54 horas após a eclosão. B- Aquários utilizados após 54 horas de eclosão..... 114**
- Figura 2. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 18 horas após a eclosão. A- 0,00ppm; B- 0,01ppm; C- 0,05ppm e D- 0,10ppm. Tubo digestório (seta). HE. Objetiva 10x ..... 115**
- Figura 3. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 30 horas após a eclosão. A- 0,01ppm e B- 0,10ppm. Saco vitelínico (V). HE. Objetiva 10x ..... 116**
- Figura 4. Fotomicrografias de cortes sagitais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 54 horas após a eclosão. A- 0,01ppm e B- 0,05ppm. Saco vitelínico (V). Vilosidades (seta). HE. Objetiva 5x..... 117**
- Figura 5. Fotomicrografia de corte transversal de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 30 horas após a eclosão. Substância cinzenta (SC). Substância branca (SB). Notocorda (N). HE. Objetiva 40x..... 118**
- Figura 6. Elétron-micrografias de varredura de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) A e B- Larvas mal formadas (predadas) com 54 horas após a eclosão (0,10ppm). C- Dentes de larvas com 42 horas após a eclosão (0,05ppm) ..... 119**

**Figura 7. Elétron-micrografias de varredura de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 42 horas após a eclosão Ataque no sentido postero-anterior (0,00ppm, 0,01ppm e 0,05ppm). D-Ataque no sentido ântero-posterior (0,10ppm).....120**

**ARTIGO CIENTÍFICO VI - Early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleost, Characidae), after maternal triiodothyronine injection and egg exposur.**

**Table 1. Hatching time (h) and hatching rate\* (% of viable and died larvae, and abnormalities) .....137**

**Table 2. Growth in weight and length of larvae T3 injected females during 60 h of incubation.....138**

**Table 3. Growth in weight and length of larvae from eggs exposed to T3 during hydration for 54 hours of incubation .....139**



## ***INTRODUÇÃO GERAL***

Os teleósteos apresentam uma enorme variedade de espécies, mas estudos detalhados do início de seu desenvolvimento são pouco comuns (Shardo, 1995). O conhecimento da ontogenia e morfogênese dos peixes fornece importantes informações ecológicas e biológicas.

O gênero *Brycon* pertence à família Characidae, distribui-se amplamente na América Central e do Sul (Howes, 1982) e apresenta várias espécies utilizadas em criações experimentais e comerciais. São espécies de grande valor econômico que se distribuem pelas principais bacias hidrográficas brasileiras (Mendonça, 1996) e o matrinxã (*Brycon cephalus*), originário da Bacia Amazônica (Howes, 1982), é uma das principais espécies deste gênero. Sua criação tem despertado grande atenção por parte de pesquisadores, considerando-se sua grande potencialidade para a piscicultura, devido a fácil adaptação ao cultivo, crescimento rápido, hábito alimentar onívoro e valor econômico (Bernardino et al., 1993; Zaniboni Filho et al., 1988, Scorvo-Filho et al., 1998; Melo & Pereira, 1999; Gomes et al., 2000; Carneiro & Urbinati, 2001a,b; Soares et al., 2001; Urbinati & Carneiro, 2001; Carneiro & Urbinati, 2002). Apesar dessas qualidades, sua criação em sistemas controlados ainda apresenta dificuldade devido sua baixa sobrevivência na fase larval (Ceccarelli, 1997).

O início do desenvolvimento dos peixes, assim como de todos os vertebrados, é um período crítico, durante o qual ocorre a diferenciação dos sistemas e órgãos (Brown & Nuñez, 1994). Nos vertebrados, os hormônios tireoidianos (HTs) têm papel essencial na regulação das mudanças moleculares, bioquímicas e morfológicas que ocorrem durante o desenvolvimento inicial, diferenciação de tecidos e metabolismo. A maioria dos vertebrados é incapaz de crescer e atingir sua forma adulta normal sem estes hormônios (Robert et al., 1998) e a metamorfose dos anfíbios, bem como a degradação dos tecidos larvais e a organogênese, é quase que exclusivamente controlada pelos HTs (Shi et al., 1986). Embora algumas das ações

dos HTs sejam diretas, eles são necessários em ações permissivas, potenciando a ação de outros hormônios em processos específicos (Robert et al., 1998).

Nos peixes, a regulação da função tireoidiana ocorre em dois pontos básicos: a estimulação da secreção do T<sub>4</sub> (tetraiodotironina ou tiroxina) pela glândula através do eixo hipotálamo - hipófise e a conversão periférica do T<sub>4</sub> em T<sub>3</sub> (triiodotironina), para interação com os receptores nucleares (Eales & Himick, 1988). A síntese dos hormônios tireoidianos ocorre no folículo tireoidiano, constituído por uma camada simples de células epiteliais que envolve um espaço preenchido por um colóide onde acham-se distribuídos os hormônios, principalmente T<sub>4</sub> e em menor quantidade T<sub>3</sub>. O T<sub>4</sub> tem poucas ações diretas e é considerado precursor do T<sub>3</sub>, a forma biologicamente do hormônio (Eales & Himick, 1988). Estudos *in vitro* mostram que os receptores nucleares se ligam com muito mais afinidade ao T<sub>3</sub> que ao T<sub>4</sub> (Nowell et al., 2001). A ação dos hormônios tireoidianos é mediada por sua ligação a receptores nucleares que agem diretamente em genes-alvo, ligando-se a seqüências específicas do DNA para aumentar ou diminuir a expressão gênica e promover a resposta celular dos hormônios (Yen & Chin, 1994).

As funções básicas do sistema endócrino dos peixes se instalam no final da fase de desenvolvimento embrionário (Tanaka, 1991). A participação dos HTs na embriogênese e desenvolvimento larval tem sido observada em estudos nos quais estes hormônios são extraídos de ovos e larvas e quantificados por técnicas de radioimunoensaio e de biologia molecular (de Jesus et al., 1991; de Jesus & Hirano, 1992; Power et al., 2001; Dean & Woo, 2002) ou através da determinação da atividade dos receptores nucleares dos HTs (Essner et al., 1997, 1999; Yamano & Miwa, 1998; Liu & Chan, 2002). Entretanto, o T<sub>4</sub> e T<sub>3</sub> são de origem materna, pois folículos tireoidianos são ausentes nos embriões (Power et al., 2001). A ausência de uma glândula tireóide nas fases iniciais do desenvolvimento embrionário de *Danio rerio* sugere ausência de HTs de produção própria (Essner et al., 1997). A fisiologia

dos reprodutores e a gametogênese são fatores importantes na qualidade dos ovos e viabilidade larval e o mecanismo pelo qual os HTs participam destes processos tem sido investigado em várias espécies (Brown et al., 1988; Ayson & Lam, 1993; Mylonas et al., 1994). Uma correlação positiva foi encontrada entre o status tireoidiano e o status reprodutivo e picos sazonais de HTs são coincidentes com maturação gonadal e reprodução (Cyr & Eales, 1996; Soares, 2000). É possível que concentrações elevadas destes hormônios sejam necessárias para assegurar concentrações adequadas nos ovócitos em desenvolvimento. Estudos nos quais HTs foram extraídos das gônadas em desenvolvimento, ou nos quais  $T_3$  foi administrado aos reprodutores (Brown et al., 1988; Ayson & Lam, 1993; Weber et al., 1992; Mylonas et al., 1994; Tagawa et al., 1994), mostraram que eles se acumulam nos ovócitos durante a maturação gonadal.

Os HTs podem estimular vários aspectos da embriogênese por apresentarem profunda influência no crescimento e maturação de muitos tecidos (Moon et al., 1994). A administração de HT exógeno, além de promover alterações na taxa de metamorfose e morfologia externa de várias espécies (Inui & Miwa, 1985; Miwa & Inui, 1987; Inui et al., 1989; Yamano et al., 1991), parece afetar o desenvolvimento de outros tecidos, tais como do sistema gastrointestinal (Miwa et al., 1992; Walford & Lam, 1993; Huang et al., 1998; Nayak et al., 2000; Liu & Chan, 2002), eritrócitos (Miwa & Inui, 1991; Iuchi, 1973; Yamamoto & Iuchi, 1975; Al-Adhami & Kunz, 1976), bexiga natatória (Brown et al., 1988; Liu & Chan, 2002), cartilagens (Liu & Chan, 2002), músculos (Yamano et al., 1994; Liu & Chan, 2002; Martines et al., 1995) e esqueleto (Faustino & Power, 1998, 1999, 2001).

Os processos anabólicos, por meio dos quais os nutrientes absorvidos são convertidos em tecidos durante o metabolismo, são regulados por hormônios que estão entre os principais fatores que ajudam a promover o crescimento corporal, associados a fatores genéticos e nutricionais (Weatherley & Gill, 1989). Segundo esses autores, os HTs podem influenciar no

crescimento. Entretanto, ainda não está claro se o seu efeito promotor de crescimento é uma consequência de sua ação direta ou se eles potencializam a atividade anabólica de outros hormônios, especialmente o hormônio de crescimento (agindo sinergicamente ou com efeito permissivo), ou exercem alguma influência mais generalizada no metabolismo (Plisetskaya et al., 1983).

Foram relatados efeitos benéficos de níveis de T<sub>3</sub> materno elevados por administração exógena no subsequente desenvolvimento larval e sobrevivência em *Sarotherodon niloticus*, *Cyprinus carpio*, *Morone saxatilis*, *Oreochromis mossambicus*, *Siganus guttatus*, *Epinephelus coioides* e *Hippoglossus stenolepis* (Nacario, 1983; Lam & Sharma, 1985; Brown et al., 1988, 1989; Reddy & Lam, 1992a e b; Ayson & Lam, 1993; De Jesus & Simpas 1998; Stickney & Liu, 1999), embora efeitos negativos também tenham sido relatados em *Cyprinus carpio*, *Oreochromis niloticus*, *Salmo trutta*, *Danio rerio* (Lam & Sharma, 1985; Mylonas et al., 1994), principalmente quando doses altas de hormônio foram utilizadas (Nacario, 1983; Liu & Chan, 2002). Por outro lado, deficiência de HT nos ovos de *Oryzias latipes* (Tagawa & Hirano, 1991) e *Siganus guttatus* (Ayson & Lam, 1993) não parecem ter afetado o desenvolvimento larval. Estes resultados controversos não são explicados e podem estar relacionados com diferenças nas doses utilizadas e modo de administração dos hormônios.

Os estudos disponíveis sobre a ação dos HTs no desenvolvimento inicial dos peixes envolvem as mudanças que acompanham a transição de larva a juvenil, tanto em espécies que sofrem metamorfose (*Paralichthys olivaceus*, Inui & Miwa, 1985; Miwa & Inui, 1987; Yamano et al., 1991a; Inui et al., 1995; *Conger myriaster*, Yamano et al., 1991b; *Carassius auratus*, Reddy & Lam, 1992; *Petromyzon marinus*, Youson, 1994; *Danio rerio*, Brown, 1997; *Epinephelus coioides*, de Jesus et al., 1998; *Paralichthys dentatus*, Gavlik et al., 2002) como naquelas que não passam por este processo (*Onchorhynchus mikiss*, Iuchi, 1973 e Yamamoto & Iuchi, 1975; *Pterophyllum scalare*, Al-Adhami & Kunz, 1976; *Sarotherodon*

*mossambicus*, Lam, 1980; *Sarotherodon niloticus*, Nacario, 1983; *Cyprinus carpio*, Lam & Sharma, 1985; *Chanos chanos*, Lam et al, 1985; *Siganus guttatus*, Ayson & Lam, 1993; *Sciaenops ocellatus*, Moon et al, 1994; *Salmo trutta*, Mylonas et al., 1994; *Salvelinus alpinus*, Martines et al., 1995; *Coregonus albula*, Mancarz et al., 1995 e Demska-Zakes et al., 1995; *Polydactylus sexfilis*, Brown & Kim, 1995; *Stizostedion vitreum*, Hey et al., 1996; *Morone saxatilis*, Huang et al., 1996; *Sparus sarba*, Deane & Woo, 2002). Poucos estudos se referem a espécies tropicais (*Sarotherodon mossambicus*, Lam, 1980; *Sarotherodon niloticus*, Nacario, 1983; *Cyprinus carpio*, Lam & Sharma, 1985; *Oreochromis mossambicus*, Reddy & Lam, 1992; *Heteropneustes fossilis*, Nayak et al., 2000).

Um melhor entendimento do papel do sistema endócrino, e em particular dos HTs, no desenvolvimento inicial dos peixes poderá trazer melhorias na larvicultura e produzir grande impacto na aqüicultura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-ADHAMI, M.A. & KUNZ, Y.W. Haematopoietic centres in the developing angelfish, *Pterophyllum scalare* (Cuvier and Valenciennes). *Wilhelm Rouxs Archives*, v.179, p.393-401, 1976.

AYSON, F.G. & LAM, T.J. Thyroxin injection of female rabbit fish (*Siganus guttatus*) brood stock: change in thyroid hormones levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture*, v.109, p.83-93, 1993.

BERNARDINO, G. et al. Propagação artificial do matrinxã, *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869), (TELEOSTEI, CHARACIDAE). *Boletim Técnico do CEPTA*, v.6, n. 2, p.1-9, 1993.

BROWN, C.L. & KIM, B.G. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. *Aquaculture*, v.135, p.79-86, 1995.

BROWN, C.L. & NUÑEZ, J.M. Hormones. Actions and applications in embryogenesis. *Perspectives in Comparative Endocrinology*, p.333-339, 1994.

BROWN, C.L.; et al. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.7, p.295-299, 1989.

BROWN, C.L.; et al. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *Journal of Experimental Zoology*, v.248, p. 168-176, 1988.

BROWN, D.D. The role of thyroid hormone in zebrafish and axolotl development. *Proceedings of Natural Academy of Science*, v.94, p.13011-13016, 1997.

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Electrolyte disturbance in matrinxã *Brycon cephalus* following transport stress under benzocaine effect. *Journal of Applied Aquaculture*, v. 11, p.1-13, 2001b.

- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Ionic imbalance in matrinxã, *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae), submitted to different hauling densities. *Aquaculture International*, v.32, p.1-9, 2002.
- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) during transport. *Aquaculture Research*, v.32, p.297-304, 2001.
- CECCARELLI, P.S. Canibalismo em larvas de matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869). Botucatu. Universidade Estadual Paulista. 92p. 1997. (Dissertação de Mestrado).
- CYR, D.J. & EALES, J.G. 1996. Interrelationships between thyroidal and reproductive endocrine systems in fish. *Reviews of Fish Biology and Fisheries*, v. 6, p.165-200.
- De JESUS, E. G.; TOLEDO, J. D.; SIMPAS, M.S. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *General and Comparative Endocrinology*, v.112, p.10-16, 1998.
- De JESUS, E.G., HIRANO, T. Changes in whole body concentrations of cortisol, thyroid hormones and Sex steroids during early development of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *General and Comparative Endocrinology.*, v.85, p. 55-61, 1982.
- DEANE, E.E. & WOO, N.Y.S. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. *Life Science*, v. 9153, p. 1-14, 2002.
- EALES, J. G.; HIMICK, B.A. The effects of TRH on plasma thyroid hormone levels of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *General and Comparative Endocrinology*, v.72, p.333-339, 1988.
- ESSNER, J.J. et al. Overexpression of thyroid hormone receptor  $\alpha 1$  is expressed during zebrafish embryogenesis disrupts hindbrain patterning and implicates retinoic acid receptors in the control of hox gene expression. *Differentiation*, v.65, p. 1-11, 1999.
- ESSNER, J.J. et al. The zebrafish thyroid hormone receptor  $\alpha 1$  is expressed during early embryogenesis and can function in transcriptional repression. *Differentiation*, v.62, p. 107-117, 1997.



- FAUSTINO, M. & POWER, D.M. Development of osteological structures in the sea bream (*Spaurus aurata*): vertebral column and caudal fin complex. *Journal of Fish Biology*, v. 52, p.11-22, 1998.
- FAUSTINO, M. & POWER, D.M. Development of osteological structures in the sea bream (*Spaurus aurata*): pectoral, pelvic and dorsal fins. *Journal of Fish Biology*, v. 54, p.1094-110, 1999.
- FAUSTINO, M. & POWER, D.M. Osteological of development of the viscerocranial skeleton in the sea bream (*Spaurus aurata*): alternative ossification strategies in teleost fish. *Journal of Fish Biology*, v. 58, p.537-572, 2001.
- GAVLIK, S.; ALBINO, M.; SPECKER, J.L. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. *Aquaculture*, v.203, p.359-373, 2002.
- GOMES, L.C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J.A. Effects of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture*, v.183, p.73-81, 2000.
- HEY, J., FARRAR, E., BRISTOW, B.T., STETTNER, C., SUMMERFELT, R.C. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *Journal of World Aquaculture Society*, v. 27, p. 40-51, 1996,
- HOWES, G.J. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bulletin of the British Museum of Natural History and Zoology*, v. 43(1), p.1-47, 1982.
- HUANG, L. et al., Metamorphosis of summer flounder (*Paralichthys dentatus*): Thyroid status and the timing of gastric gland formation. *Journal of Experimental Zoology*, v.280, p.413-420, 1998.
- INUI, Y. & MIWA, S. Thyroid hormones induces metamorphosis of flounder larvae. *General and Comparative Endocrinology*, v.60, p.450-454, 1985.
- INUI, Y.; et al. Hormonal control of flounder metamorphosis. In: DAVEY, K.G., PETER, R.E. TOBE, S.S. (Eds), *Perspectives in Comparative Endocrinology*. *Nacional Research Council*, Canada, p.408-411, 1994.

- INUI, Y.; YAMANO, K.; MIWA, S. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. *Aquaculture*, v.135, p.87-98, 1995.
- IUCHI, I. The post-hatching transition of erythrocytes from larval to adult type in the rainbow trout, *Salmo gairdnerii irideus*. *Journal of Experimental Zoology*, v.184, p. 383-396, 1973.
- LAM, T.J. & SHARMA, R. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Ciprinus carpio*. *Aquaculture*, v.44, p.201-212, 1985.
- LAM, T.J. Thyroxine induces larval development and survival in *Sarotherodon* (Tilapia) *mossambicus* Ruppel. *Aquaculture*, v.21, p. 287-291, 1980.
- LAM, T.J.; JUARIO, J.V.; BANNO, J. Effect of thyroxine on growth and development in post-yolk-sac of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, v. 46, p. 179-184, 1985.
- LIU, Y-W; CHAN, W-K. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation*, v.70, p.36-45, 2002.
- MAMCARZ, A.. et al. Effects of 3',5',3',-triiodo-l-thyronine in a dry diet on the and survival of *Coregonus albula* L. larvae in tanks. In Larvi'95- Fish & Shellfish Larviculture Symposium.,European Aquaculture Society Special Publication n.24, p.248-250, 1995.
- MELO, J.S.C. & PEREIRA, J.A. Efeito da densidade de estocagem e da aeração no crescimento de matrinxã (*Brycon cephalus* GÜNTHER, 1869). *Boletim Técnico do CEPTA*, v.12, p. 33-38, 1999.
- MENDONÇA, J. O. J. O gênero *Brycon*. *Panorama da Aqüicultura*, Rio de Janeiro, v.6, n.33, p.14, 1996.
- MIWA, S. & INUI, Y. Effects of various doses of thyroxine and triiodothyronine on the metamorphosis of flounder (*Paralichthys olivaceus*). *General and Comparative Endocrinology*, v.67, p.356-363, 1987.
- MIWA, S. & INUI, Y. Thyroid hormones stimulates the shift of erythrocyte populations during metamorphosis of the founder. *Journal of Experimental Zoology*, v259, p.222-228, 1991.
- MIWA, S.; YAMANO, K. INUI, Y. Thyroid hormones stimulates gastric development in flounder during metamorphosis. *Journal of Experimental Zoology*, v.261, p.424-430, 1992.

- MOON, H.Y.; MACKENZIE, D.S.; GATLIN, D.G. Effects of dietary thyroid hormones on the red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v.12, n.5, p.369-380, 1994.
- MYLONAS, C.C.; SULLIVAN, C.V.; HINSHAW, J.M. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish Physiology. and Biochemistry*, v.13, n.6, p.485-493, 1994.
- NACARIO, J. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (tilapia nilotica). *Aquaculture*, v.34, p.73-83, 1983.
- NAYAK, P.K.; MISHRA, T.K.; MISHRA, J. Combined application of cortisol and thyroxine in the culture of larvae of freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, v.15, p.323-328, 2000.
- NOVELL, M.A. et al. Characteristics of a seabream (*Sparus auratus*) thyroid hormone receptor- $\beta$  clone expressed during embryonic and larval development. *General and Comparative Endocrinology*, v. 123, p.80-89, 2001.
- PLISETSKAYA, E.; WOO, N.Y.S.; MURAT, J.C. Thyroid hormones in cyclostomes and fish and their role in regulation of intermediary metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.74A, n.2, p.179-187, 1983.
- POWER, D.M. et al. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, C, v.130, p.447-459, 2001.
- REDDY, P. K. & LAM, T.J. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, v.107, p.383-394, 1992.
- REDDY, P.K., LAM, T.J. Role of the thyroid hormones in tilapia larvae *Oreochromis mossambicus*: I. Effects of the hormones and an anti-thyroid drug on yolksac resorption, growth and development. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.9, p.473-485, 1992.
- ROBERT, A. et al. *Physiology*, Mosby, pp. 1131, 1998.
- SCORVO-FILHO, J.D. et al. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Informações Econômicas*, v. 28, p. 41-60, 1998.

- SHARDO, J. D. Comparative embryology of teleostean fishes. I. Development and staging of American shad, *Alosa sapidissima* (Wilson, 1811). *Journal of Morphology*, v.225, p.125-167, 1995.
- SHI, Y-B. et al. Tadpole competence and tissue-specific temporal regulation of amphibian metamorphosis: roles of thyroid hormone and its receptors. *BioEssays*, v.18, p.391-399, 1986.
- SOARES, M.C.F. Participação da triiodotironina na reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus*. Jaboticabal, 2000. Tese (Doutorado em Zootecnia, Produção Animal), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SOARES, M.C.F., URBINATI, E.C., MALHEIROS, E.B. Estocagem tecidual e utilização de lipídeos em matrinxã, *Brycon cephalus*, Günther, 1869. *Acta Amazônica*, v.31, n.4, p.661-671, 2001.
- STICKNEY, R.R. & LIU, H.W. Maintenance of broodstock, spawning, and early larval rearing of Pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. *Aquaculture*, v.76, p.75-86, 1999.
- TAGAWA, M. et al. Thyroid hormone concentrations in the gonads of wild chum salmon during maturation. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.13, p.233-240, 1994.
- TAGAWA, M.; HIRANO, T. Effects of thyroid hormone deficiency in eggs on the early development of the medaka, *Oryzias latipes*. *Journal of Experimental Zoology*, v.257, p.360-366, 1991.
- TANAKA, M. Functional development of the endocrine system during early ontogeny of marine teleost fishes. *Larvi'91-Fish & Crustacean Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society Special Publication, v.15, p.199-200, 1991.
- URBINATI, E.C., CARNEIRO, P.C.F. Metabolic and hormonal responses of the matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) to the stress of transport under the influence of benzocaine. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, v.16, n.1, p.75-85, 2001.
- WALFORD, J. & LAM, T.J. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. *Aquaculture*, v. 109, p.187-205, 1993.
- WEATHERLEY A. H.; GILL H. S. *The biology of fish growth*. Academic Press: London, 1989.

- WEBER, G.M. et al. Patterns of thyronine and triiodothyronine in serum and follicle-bllund oocytes of the tilápia, *Oreochromis mossambicus*, during oogenesis. *General and Comparative Endocrinology*, v.85, p.392-404, 1992.
- YAMAMOTO, M. & IUCHI, I. Electron microscopic study of erythrocytes in developing rainbow trout, *Salmo gairdneri irideus*, with particular reference to changes in the cell line. *Journal of Experimental Zoology*, v.191, p.407-426, 1975.
- YAMANO, K. & MIWA, S. Differential genes expression of thyroid hormones receptor  $\alpha$  and  $\beta$  in fish development. *General and Comparative Endocrinology*, v. 109, p.75-85, 1998.
- YAMANO, K. et al. Changes in whole body concentrions of thyroid hormones and cortisol in metamorphosing conger eel. *Journal of Comparative Physiology, B*, v.161, p.371-375, 1991.
- YAMANO, K. et al. Effects of thyroid hormones on developmental transition of myosin light chains during flounder metamorphosis. *General Comparative Endocrinology*, v.81, p.464-472, 1994.
- YAMANO, K. et al. Thyroid hormones regulates development changes in muscle during flounder metamorphosis. *General Comparative Endocrinology*, v.81, p.464-472, 1991a.
- YEN, P.M. & CHIN, W.W. New advances in understanding the molecular mechanisms of thyroid hormone action. *Trends of Endocrinology and Metabolism*, v.5, p.65-72, 1994.
- YOUSON, J.H. Environmental and hormonal cues and endocrine glands during lamprey matamorphosis. In: DAVEY, K.G., PETER, R.E. TOBE, S.S. (Eds), *Perspectives in Comparative Endocrinology*. Nacional Research Council, Canada, p.408-411, 1994.
- ZANIBONI FILHO, E. et al. Caracterização morfológica do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v.48, n.1, p.41-50, 1988.

***ARTIGO CIENTÍFICO I***

**DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE**  
**MATRINXÃ (*Brycon cephalus*)**  
**APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS À**  
**TRIIODOTIRONINA**

## RESUMO

Para avaliar o efeito da exposição de ovos de matrinxã à triiodotironina, sobre o desenvolvimento embrionário, ovócitos extrusados foram fertilizados e imersos em soluções de 0,00; 0,01; 0,05 e 0,10ppm de triiodotironina, durante a hidratação. A pesquisa foi desenvolvida no Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, e Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal, SP. Para a observação do desenvolvimento embrionário, da fertilização até a eclosão das larvas, durante as duas primeiras horas após a fertilização os ovos foram amostrados a cada 15 minutos, e depois a cada 30 minutos e observados ao esteromicroscópio. Foi calculado a taxa de eclosão e a contagem dos ovos para classificação quanto a qualidade. Os ovos (50 por fêmea) obtidos por desova induzida mostraram-se esféricos, com diâmetro médio de  $912,5 \pm 15,31 \mu\text{m}$ , independente do tratamento. Após a fertilização aconteceu a formação do disco germinativo no polo animal, o que classifica estes ovos como telolécitos e também polilécitos, em virtude da grande quantidade de vitelo e a clivagem em parcial ou meroblástica, acontecendo apenas no polo animal. O desenvolvimento embrionário do matrinxã ocorreu à temperatura de  $27^{\circ}\text{C}$  em um intervalo de aproximadamente 12 horas para ovos do grupo controle e os que receberam o hormônio na dose de 0,1ppm, 12 horas e 30 minutos para aqueles da dose 0,05ppm e 13 horas para os da dose de 0,01ppm. Pela taxa de eclosão, observou-se que a imersão dos ovos em triiodotironina não afetou o número de ovos com larvas viáveis e larvas mortas e os ovos expostos à dose de 0,01ppm apresentaram maior número de larvas com anormalidades.

## ABSTRACT

The present work evaluated the effect of the exposure of matrinxã (*Brycon cephalus*) eggs to triiodothyronine ( $T_3$ ) on the embrionic development. The study was performed at the Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, and Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal campus, SP. Fertilized eggs were exposed to 0.00; 0.01; 0.05 e 010ppm  $T_3$  and samplings were carried out at each 15 minutes during the first 2 hs after the fertilization and following at each 30 minutes to observation in stereomicroscopy. Hatching rate and eggs counting were done to qualify the biological material. Eggs (50 per female) were spheric, average diameter of  $912.5 \pm 15.31 \mu\text{m}$  regardless the treatment. After fertilization, it was possible to observe the germinative disk at animal pole, what characterize the eggs as telolecits and polilecits due to the great amont of yolk, and partial cleavage, or meroblastic cleavage occurring only in the animal pole.

The embrionic development of matrinxã occurred at  $27^\circ\text{C}$  in intervals of 12hs in the control group (0ppm  $T_3$ ) and 0.1ppm group, 12:30hs in the 0.05ppm group and 13hs in the 0.01ppm group. The hatching rate showed that the exposure of the eggs to triiodothyronine did not affect the number of viable and dead larvae. Besides eggs exposed to 0.01ppm  $T_3$  produced higher number of abnormalities.



## INTRODUÇÃO

Os peixes teleósteos apresentam uma enorme variedade de espécies, mas estudos detalhados do início de seu desenvolvimento são pouco comuns (Shardo, 1995). Os estudos de ovos e larvas são relevantes para o conhecimento global da biologia e sistemática das espécies de peixes, particularmente em seus aspectos relacionados à variação ontogênica na morfologia, crescimento, alimentação, comportamento e mortalidade (Nakatani et al., 2001).

Muitas pesquisas envolvendo a criação de matrinxã (*Brycon cephalus*) vêm sendo realizadas devido sua grande potencialidade para a piscicultura, proporcionada pela facilidade de adaptação ao cativeiro, rápido crescimento, hábito alimentar onívoro e valor econômico (Zaniboni Filho et al., 1988, Scorvo-Filho et al., 1998; Gomes et al., 2000). Estudos sobre a fase inicial da vida desta espécie ainda são incipientes (Ceccarelli, 1997; Romagosa, 1998; Senhorini, 1999; Urbinati et al., 2002) e não abordam aspectos do desenvolvimento embrionário.

O início do desenvolvimento dos peixes, assim como de todos os vertebrados, inclui uma série de períodos críticos, durante os quais acontecem a diferenciação dos sistemas e órgãos (Brown & Nuñez, 1994). Os hormônios tireoidianos, incluindo os de origem materna, podem estimular vários aspectos da embriogênese (Power et al., 2001) durante estas fases críticas, por apresentarem influência no crescimento e maturação de muitos tecidos (Moon et al., 1994).

As funções básicas do sistema endócrino dos peixes ocorrem ao final da fase de desenvolvimento embrionário e desempenham um importante papel no desenvolvimento e crescimento das larvas (Tanaka, 1991).

Segundo Ayson & Lam (1993), alguns hormônios se depositam nos ovos por transferência materna, e são utilizados até que seus próprios órgãos endócrinos estejam desenvolvidos e funcionais. Ao pesquisarem fêmeas de *Siganus guttatus* injetadas com T<sub>4</sub>, estes autores verificaram que os níveis plasmáticos de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> aumentaram 24 horas após a injeção e diminuíram algumas horas antes da desova. Nos ovos, momento antes da fertilização, os níveis de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> eram significativamente maiores do que aqueles provenientes de fêmeas não injetadas.

Nos ovos de peixes, há grande concentração de hormônios tireoideanos antes de ocorrer a proliferação e diferenciação celular e, com o desenvolvimento, este nível diminui (Lam, 1994). Raine & Leatherland (1999), ao estudarem em truta arco íris, a ontogenia do tecido tireoidiano e a utilização dos hormônios produzidos por esta glândula, verificaram um declínio nos níveis hormonais do início ao final do desenvolvimento embrionário.

Experimentos com hormônios tireoidianos exógenos em peixes mostram efeitos positivos no crescimento, desenvolvimento, sobrevivência larval, além de aceleração da absorção do saco vitelínico (Lam, 1980; Lam & Sharma, 1985; Brown & Nuñez, 1994; Ayson & Lam, 1993; Hey et al., 1996 e De Jesus et al., 1998). Segundo Weartherley & Gill (1989), os hormônios tireoidianos podem influenciar o crescimento, mas não é certo se este crescimento é uma ação direta destes hormônios ou se eles potencializam a atividade anabólica de outros hormônios, mais particularmente o de crescimento, ou ainda, se de forma generalizada, influenciam o metabolismo de modo permissivo, interagindo com outros hormônios (Plisetskaya et al., 1983).

A técnica de imersão de larvas tem sido utilizada como uma estratégia experimental para se avaliar efeitos dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento de peixes (Lam, 1980; Nacario, 1983; Lam & Sharma, 1985; Lam et al., 1985; Lam, 1991; Reddy & Lam, 1992; Huang, 1996; Tay et al., 1995; de Jesus et al., 1998 e Stratholt et al., 1997).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da exposição de ovos de matrinxã (*Brycon cephalus*) à triiodotironina sobre o desenvolvimento embrionário.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, e na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal.

Quatro fêmeas de matrinxã foram induzidas à reprodução segundo técnica de Woynarovich & Horvath, (1983) e os ovócitos extrusados de cada uma foram fertilizados (Figura 1A) e divididos em 4 partes iguais (aproximadamente 20.000 ovos/parte). Cada parte foi hidratada com 500 ml de soluções de triiodotironina (0,00ppm, 0,01ppm, 0,05ppm e 0,10ppm), por 15 minutos. A seguir, os ovos foram transferidos para incubadoras cônicas de fibra de vidro 60 L, com água em fluxo contínuo e temperatura de 27°C (Figura 1B).

Para observação do desenvolvimento embrionário, da fertilização até a eclosão das larvas, 50 ovos foram retirados, a cada 15 minutos, durante as 2 primeiras horas após a fertilização, e a cada 30 minutos, após 2 horas, fixados em solução Karnowsky e observados ao estereomicroscópio.

Para o cálculo da taxa de eclosão, foram retiradas quatro amostras de ovos de cada incubadora para contagem do número de ovos e classificação quanto à sua qualidade. Os resultados foram transformados pela expressão  $y = \arcsen.\sqrt{x/100}$ , sendo x expresso em porcentagem. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS

Os ovos eram esféricos, com diâmetro médio de  $912,5 \pm 15,31 \mu\text{m}$ , independente do tratamento. O desenvolvimento embrionário ocorreu em intervalo de aproximadamente 13 horas, à temperatura de  $27^\circ\text{C}$ , e foi caracterizado pelas fases descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Tempo em horas decorrido desde a fertilização até o momento de cada fase do desenvolvimento embrionário.

Fases	Triiodotironina (ppm)			
	0	0,01	0,05	0,1
I	1:00	1:15	1:00	1:15
II	1:30	1:45	1:30	1:45
III	2:30	2:30	2:30	3:00
IV	5:00	5:30	5:00	5:00
V	6:00	6:00	6:30	6:00
VI	8:00	8:00	8:00	8:30
VII	8:30	9:00	9:00	9:00
VIII	10:00	11:00	10:00	11:00
IX	12:00	13:00	12:30	12:00

Fase I: ovos envolvidos por espaço perivitelínico, delimitado pelo cório (membrana permeável ao ambiente aquático). Nesta fase, foi possível observar o vitelo segregado no polo vegetativo, e, na parte superior, a presença do polo animal.

Fase II: aparecimento dos primeiros planos de clivagens (Figura 2A).

Fase III: polo animal constituído por muitas células, caracterizando a fase de mórula ou de blástula (Figura 2B).

Fase IV: blastoderma iniciando o movimento de epibolia (parte da massa vitelínica envolvida pelas células blastodérmicas e presença do anel embrionário) caracterizando a fase de gástrula (Figura 2C).

Fase V: aparecimento dos primeiros pares de somitos, bem como dos esboços da cabeça e da cauda (Figura 2D).

Fase VI: presença das vesículas óptica e ótica, na altura das vesículas encefálica anterior e posterior, respectivamente (Figura 2E).

Fase VII: embrião bem desenvolvido, com cauda ainda aderida ao vitelo (Figura 2F).

Fase VIII: embrião com a cauda parcialmente aderida e apresentando os primeiros movimentos.

Fase IX: eclosão das larvas, apresentando cauda totalmente solta, movimentos rápidos e cório amolecido (Figura 2G).

A análise da taxa de eclosão mostrou que a imersão dos ovos em triiodotironina não afetou o número de ovos com larvas viáveis e larvas mortas ( $P>0,05$ ). Os ovos expostos à dose de 0,01ppm deram origem a maior número de larvas com anormalidades (Tabela 2).

Tabela 2. Taxa de eclosão (%) de larvas provenientes de ovos expostos a triiodotironina ( $T_3$ ).

Qualidade das larvas (%)	$T_3$ (ppm)				C.V. (%)
	0	0,01	0,05	0,10	
Viáveis	64,75a	68,81a	72,78a	58,24a	22,22
Mortas	24,40a	19,07a	15,91a	30,38a	60,63
Anormais	5,18b	7,89a	5,28b	5,38b	59,33

Médias seguidas de mesma letra, nas linhas, não diferem pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).

## DISCUSSÃO

As fases do desenvolvimento embrionário descritas no matrinxã são semelhantes às de outros teleósteos (Lagler et al., 1977; Castellani et al., 1994; Ribeiro et al., 1995; Shardo, 1995).

Após a fertilização do ovo, ocorre a formação do espaço perivitelino que representa proteção para o embrião contra danos provocados pelo ambiente (Kovac, 2000), favorece o crescimento harmonioso e o desenvolvimento muscular e esquelético da futura larva (Castellani et al., 1994; Ribeiro et al., 1995). Foi observado um amplo espaço perivitelino, como descrito em outras espécies (Laale, 1980; Shardo, 1995).

A entrada do gameta masculino no ovócito causa uma reação interna na superfície do citoplasma, estabelecendo a formação do disco germinativo no polo animal, o que classifica estes ovos como telolécitos e também polilécitos, em virtude da grande quantidade de vitelo (Lagler et al., 1977; Leme dos Santos & Azoubel, 1999). Em consequência disto, o processo de segmentação, nos ovos de matrinxã, é parcial ou meroblástico, acontecendo apenas no polo animal.

A continuidade deste processo, típico dos teleósteos, leva à diminuição do tamanho dos blastômeros e a formação das células blastodérmicas e das células periblásticas. A partir daí, tem início o movimento de epibolia (Shardo, 1995). Nos teleósteos, o movimento de epibolia acontece durante a fase de gástrula (Warga & Kimmel, 1990). Em ovos de tambaqui e tambacu (Ribeiro et al., 1995), este movimento termina antes do aparecimento dos primeiros somitos, do mesmo modo que o verificado neste estudo.

Por volta de seis horas após a fertilização, independente do tratamento hormonal, ocorreu o aparecimento dos somitos e a diferenciação dos esboços da cabeça e da cauda, diferente do encontrado para *Brachydanio rerio*, no qual verificou-se, inicialmente, o aparecimento da cabeça e da cauda e depois a formação dos somitos (Warga & Kimmel, 1990).

De acordo com Lagler et al. (1977), Vieira & Johnston (1999) e Privitera (2001), o tempo de desenvolvimento embrionário de peixes tropicais está diretamente relacionado com a temperatura, enquanto que os hormônios tireoideanos estão associados a desenvolvimento acelerado dos peixes (Brown & Nuñez, 1994). Neste estudo, a temperatura da água variou de 25 a 27°C. Nos ovos que foram expostos à dose de 0,05 ppm de triiodotironina, observou-se a maior taxa de eclosão das larvas, embora sem significância estatística, enquanto o menor tempo de desenvolvimento embrionário encontrado foi de 12 horas para os ovos do grupo controle e para aqueles expostos à dose de 0,1ppm. Este tempo foi superior ao encontrado por Romagosa (1998) para a mesma espécie, em temperatura superior à testada neste estudo. Brown & Nuñez (1994) sugerem uma evidente sensibilidade dos ovos de peixes aos hormônios tireoideanos, devido à redução no tempo de eclosão em larvas de *Oncorhynchus keta* e o aumento na viabilidade dos ovos, na taxa de eclosão e na sobrevivência larval de *Cyprinus carpio* (Lam & Sharma, 1985), embora isto não tenha sido verificado no presente estudo.

Os hormônios tireoideanos, mais particularmente a triiodotironina, desempenham um significativo papel na embriogênese, na morfogênese, no crescimento, na taxa de eclosão e na sobrevivência de peixes (Hey et al., 1996). Experimento com triiodotironina em *Morone saxatilis* mostrou que as doses mais altas promoveram atraso do crescimento no início do desenvolvimento (Huang et al., 1996), podendo inclusive causar anormalidades em algumas espécies (Nacario, 1983; Leartherland & Barret, 1993; Mylonas et al. 1994). Lambert et al.



(1999), analisando o efeito de hormônios tireoidianos associados com hormônios esteróides, em fêmeas de *Ictalurus punctatus*, não observaram efeito na ovulação, na produção de ovos, na fertilização e na eclosão.

A ação de hormônios tireoidianos em peixes tem despertado muita atenção e, embora seu efeito tenha sido associado a um desenvolvimento acelerado, a literatura traz informações de que algumas concentrações podem não surtir resultados, e por outro lado, doses excessivas podem causar efeitos deletérios (Brown & Nuñez, 1994). Em razão disto, diferentes respostas podem ser obtidas a partir da utilização de variadas concentrações destes hormônios em diferentes espécies de peixes e formas de administração (Power et al., 2001).

Nas doses testadas, não se observou efeito da triiodotironina no desenvolvimento embrionário do matrinxã apesar da triiodotironina na concentração de 0,01ppm ter provocado um aumento no número de larvas anormais, futuras investigações deverão ser realizadas para maior entendimento da participação dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento inicial da espécie.



Figura 1. A- Fertilização dos ovos de matrinxã (*Brycon cephalus*). B- Incubadoras com ovos de matrinxã (*Brycon cephalus*).

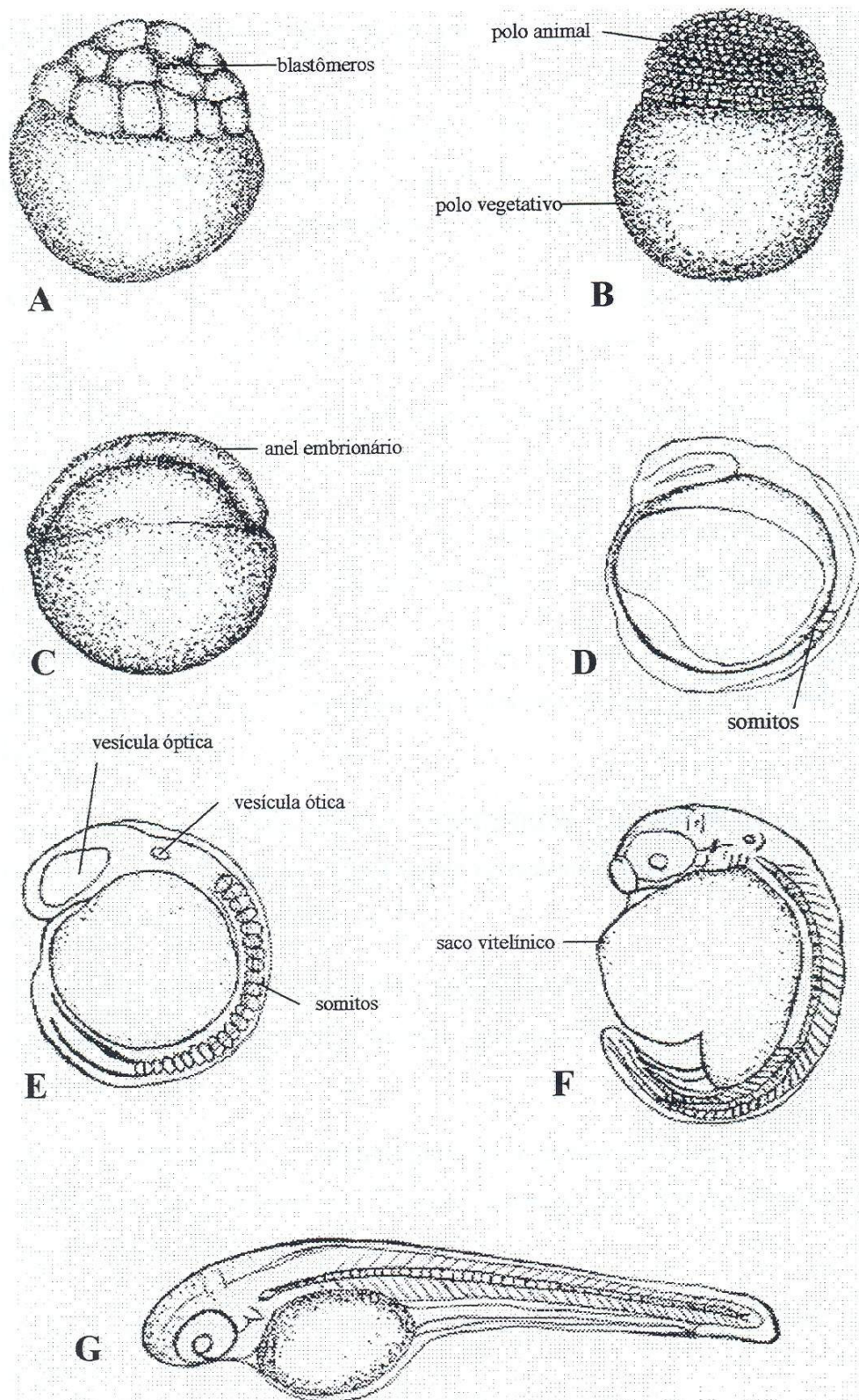


Figura 2- Desenvolvimento embrionário do matrinxã (*Brycon cephalus*). Escala: 30:1.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYSON, F.G. & LAM, T.J. Thyroxin injection of female rabbit fish (*Siganus guttatus*) brood stock: change in thyroid hormones levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture*, v.109, p.83-93, 1993.

BROWN, C.L. & NUÑEZ, J.M. Hormones. Actions and applications in embryogenesis. *Perspectives in Comparative Endocrinology*, p.333-339, 1994.

CASTELLANI, L. R. et al. Desenvolvimento embrionário do curimatá *Prochilodus lineatus*. *Revista Brasileira de Ciências Morfológicas*, v.11, n.2, p. 99-105, 1994.

CECCARELLI, P.S. Canibalismo em larvas de matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869). Botucatu. Universidade Estadual Paulista. 92p. 1997. (Dissertação de Mestrado).

De JESUS, E. G.; TOLEDO, J. D.; SIMPAS, M.S. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *General and Comparative Endocrinology*, v.112, p.10-16, 1998.

GOMES, L.C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J.A. Effects of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture*, v.183, p.73-81, 2000.

HEY, J. et al. Thyroid hormones and their influences in larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.27, n.1, p.80-90, 1996.

HUANG, L.; SPECKER, J.L.; BENGTON, D.A. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v.15, n. 1, p. 57-64, 1996.

KOVAC, V. Early development of *Ainigo streber*. *Journal of Fish Biology*, v.57, p.1381-1403, 2000.

LAALE, H.W. The perivitelline space and egg envelopes of bony fishes. A review. *Copeia*, v.2, p.210-226, 1980.

- LAGLER, K.L et al. *Ichthyology* 2.ed. New York: John Wiley & Sons, 1977. 506p.
- LAM, T.J. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon mossambicus* ruppell. *Aquaculture*, v.21, p.287-291, 1980.
- LAM, T.J. Hormones and egg/larval quality in fish. *Journal of World Aquaculture Society*, v. 25, p.2-12, 1994.
- LAM, T.J. Hormones and egg/larval quality in fish. *Larvi'91- Fish & Crustacean Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society Special Publication, p.15, 1991.
- LAM, T.J. & SHARMA, R. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Ciprinus carpio*. *Aquaculture*, v.44, p.201-212, 1985.
- LAM, T.J.; JUARIO, J.V.; BANNO, J. Effect of thyroxine on growth and development in post-yolk-sac of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, v. 46, p. 179-184, 1985.
- LAMBERT, D.M. et al. Effects of seasonal variations, thyroid and steroid hormones, and carp pituitary extract on the artificial production of channel catfish *Ictalurus punctatus* x blue catfish *I. furcatus* hybrids. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.30, n.1, p.80-90, 1999.
- LEATHERLAND, J. F. & BARRET, S. B. Investigations into the development of the pituitary gland-thyroid tissue axis and distribution of tissue thyroid hormone content in embryonic coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) from Lake Ontario. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 12, p. 149-159, 1993.
- LEME DOS SANTOS, H.S. & AZOUBEL, R. *Embriologia comparada*. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 189p.
- MOON, H.Y.; MACKENZIE, D.S.; GATLIN, D.G. Effects of dietary thyroid hormones on the red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v.12, n.5, p.369-380, 1994.
- MYLONAS, C.C.; SULLIVAN, C.V.; HINSHAW, J.M. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.13, n.6, p.485-493, 1994.

NACARIO, J. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (tilapia nilotica). *Aquaculture*, v.34, p.73-83, 1983.

NAKATANI, K. et al. *Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação*. Maringá: EDUEM, 2001.

PLISETSKAYA, E.; WOO, N.Y.S.; MURAT, J.C. Thyroid hormones in cyclostomes and fish and their role in regulation of intermediary metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.74A, n.2, p.179-187, 1983.

POWER, D.M. et al. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp. Biochem. and Physiology Part C*, v. 130, p. 447-459, 2001.

PRIVITTERA, L.A. Characteristics of eggs and larval production in captive bluespotted gobies. *Journal of Fish Biology*, v.58, p.1211-1220, 2001.

RAINE, J.C. & LEATHERLAND, J.F. Ontogeny of thyroid and tissue thyroid hormone clearance in rainbow trout embryos reared at two temperatures. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.20, p.209-217, 1999.

REDDY, P. K. & LAM, T.J. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, v.107, p.383-394, 1992.

RIBEIRO, C.R.; LEME DOS SANTOS, H.S.; BOLZAN, A. A. Estudo comparativo da embriogênese de peixes ósseos (pacu, *Piaractus mesopotamicus*; tambaqui, *Colossoma macropomum* e híbrido tambacu). *Revista Brasileira de Biologia*, v.55 (supl.1), p.65-78, 1995.

ROMAGOSA, E. Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultraestrutura) e indução da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro Vale do Paraíba, São Paulo. São Carlos. Universidade Federal de São Carlos. 218p. 1998. (Tese de doutorado).

SCORVO-FILHO, J.D.; MARTINS, N.B.; AYROSA, L.M.S. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Informações Econômicas*, v.28, p.41-60, 1998

SENHORINI, J.A.; MANTELATTO, F.L.M.; CASANOVA, S.M.C. Growth and survival of larvae the Amazon species “matrinxã”, *Brycon cephalus* (Pisces, Characidae), in larviculture ponds. *Boletim Técnico do CEPTA*, v.11, p.13-28, 1998.

SENHORINI, J. A. Biologia larval do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) e da piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849), (Pisces Characidae) em viveiros. Botucatu, 1999, 101p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Zoologia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SHARDO, J. D. Comparative embryology of teleostean fishes. I. Development and staging of American shad, *Alosa sapidissima* (Wilson, 1811). *Journal of Morphology*, v.225, p.125-167, 1995.

STRATHOLT, M. L.; DONALDSON, E.M.; ROBIN LILEY, N. Stress induced elevation of plasma cortisol in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutsh*), is reflected in egg cortisol content, but does not appear to affect early development, *Aquaculture*, v. 158, p.141-153, 1997.

TANAKA, M. Functional development of the endocrine system during early ontogeny of marine teleost fishes. *Larvi'91-Fish & Crustacean Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society Special Publication, v.15, p.199-200,1991.

TAY, H.C. et al. Effects of treatment of eggs with triiodothyronine and cortisol on the morphometry of newly hatched larvae and larval survival in the greasy grouper, *E. tauvina*. *Larvi'95-Fish & Shellfish Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society Special Publication n. 24, 1995.

URBINATI, E.C.; SOARES, M.C.F.; SENHORINI, J.A. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã *Brycon cephalus* (Characidae). *Journal of Aquaculture in the Tropics* (in press), 2002.

VIEIRA, V.L.A. & JOHNSTON, I.A. Temperature and neuromuscular development in the tambaqui. *Journal of Fish Biology*. v.55 (A), p.66-83, 1999.

WARGA, R. M.; KIMMEL, C. B. Cell movements during epiboly and gastrulation in zebrafish. *Development*, v.108, p.569-580, 1990.

WEATHERLEY A. H.; GILL H. S. *The biology of fish growth*. Academic Press: London, 1989.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão*. FAO/ CODEVASF/ CNPq. 220p, 1983.

ZANIBONI FILHO, E. et al. Caracterização morfológica do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v.48, n.1, p.41-50, 1988.



***ARTIGO CIENTÍFICO II***

**DESENVOLVIMENTO DA MUSCULATURA  
ESQUELÉTICA EM LARVAS DE MATRINXÃ  
*Brycon cephalus* APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS  
À TRIIODOTIRONINA**

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi analisar o efeito da exposição de ovos de matrinxã (*Brycon cephalus*) à triiodotironina ( $T_3$ ), no desenvolvimento muscular das larvas. Este estudo foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal, SP. Ovócitos fertilizados foram imersos por 15 minutos em soluções de  $T_3$  (0,00; 0,01; 0,05 e 0,10ppm). As amostragens aconteceram 6; 18; 30; 42; 54; 126; 198; 270 e 342 horas após a eclosão. Na microscopia de luz, foi possível identificar, a partir de 6 horas após a eclosão, em larvas de todos os tratamentos, duas camadas de músculo, uma mais delgada formada por células com pequena dimensão, localizada logo abaixo da pele e uma outra mais profunda constituída por numerosas fibras de diferentes tamanhos e com núcleos centralizados. Seis horas após a eclosão, observou-se a formação dos miótomos e a partir de 18 horas já foi possível identificar estriações transversais nas fibras, independente da dose de  $T_3$  utilizada. Nas larvas amostradas 6, 18, 30, 42, 54, 126 e 198 horas após a eclosão observou-se, entre as fibras musculares, núcleos esféricos, provavelmente de mioblastos ou células satélites, que diminuíram gradativamente, em número, com o avançar do tempo. Duzentas e setenta horas após a eclosão, nas larvas das doses 0,05 e 0,10ppm de  $T_3$ , o tecido muscular era constituído principalmente por fibras brancas, grandes e arredondadas e com núcleos localizados perifericamente e por uma estreita faixa de fibras vermelhas, localizadas logo abaixo da pele. A partir de 54 horas após a eclosão, as larvas provenientes de ovos expostos a 0,05ppm de  $T_3$  apresentavam a área da secção transversal das fibras musculares maior que as dos demais tratamentos e este fato acentuou-se com o tempo, principalmente nas larvas dos tratamentos 0,05 e 0,10ppm, indicando um acelerado processo de hipertrofia por efeito do  $T_3$  nestas concentrações.

## ABSTRACTS

The aim of the present study was to determine the effect of exposure of the eggs of matrinxã (*Brycon cephalus*) to triiodothyronine ( $T_3$ ) on the larval muscle development. The study was carried out at the Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, and at the Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias/Veterinárias, UNESP, Jaboticabal campus, SP. Fertilized oocytes were exposed for 15 minutes to  $T_3$  solutions (0,00; 0,01; 0,05 e 0,10ppm) and samplings were done 6; 18; 30; 42; 54; 126; 198; 270 and 342 hours after hatching. Since 6 hours after hatching, larvae from all the treatments presented 2 layers of muscles. One thinner composed by small cells, located beneath the skin, and other deeply located and formed by several fibers of different sizes and central nucleus. Six hours after hatching, it was possible to observe myotomes and at 18 hours striated fibers. At 6, 18, 30, 42, 54, 126 and 198 hours after hatching, there were spheric nucleus among the fibers, probably from myoblasts ou satellite cells, which number decreased as the time went on. Two hundred seventy hours after hatching, in the larvae originated from eggs exposed to 0.05 and 0.1ppm  $T_3$  the trunk musculature was constituted mainly by white fibers, large and round, containing peripheral nucleus, and also by a thin string of red fibers located beneath the skin. After 54 hours, larvae originated from eggs exposed to 0.05 ppm $T_3$  presented the transversal section area of the fibers larger than those of the larvae from the other treatments. This was more accentuated with the larvae growth mainly in those treated with 0.05 and 0.1ppm  $T_3$ , suggesting an accelerated muscle hypertrophy provoked by those concentrations of  $T_3$ .

## INTRODUÇÃO

Nos vertebrados, durante o desenvolvimento embrionário, a musculatura estriada do tronco é derivada dos somitos que se formam a partir do mesoderma paraxial e progride na direção cefalo-caudal. Nos teleósteos, as células que formarão o mesoderma paraxial surgem ao final da gastrulação, acontecendo mais cedo do que para outros amniotas (Temple et al., 2001).

Na embriogênese das fibras musculares esqueléticas, as células são classificadas em células miogênicas, quando desprovidas de miofilamentos; mioblastos, quando apresentam miofilamentos não organizados; fibras musculares imaturas, quando contém variável número de miofibrilas organizadas e fibras musculares maduras, quando apresentam a maior parte do sarcoplasma repleto de miofibrilas organizadas, além das organelas correspondentes (Dal-Pai & Dal Pai-Silva, 1995).

O crescimento somático nos peixes está diretamente relacionado com o crescimento da musculatura esquelética (Nathanailides et al., 1995). O aumento da massa muscular ocorre mediante o processo de hiperplasia das fibras. Nos mamíferos, a hiperplasia das fibras musculares é restrita aos períodos embrionário e perinatal. Em contrapartida, nos teleósteos, o crescimento do tecido muscular por hiperplasia persiste, de modo significativo, nos períodos larval, alevino e juvenil, em íntima associação com o processo de hipertrofia das fibras (Dal-Pai et al., 1995; Johnston, 1999). Os músculos dos peixes apresentam uma região superficial composta de pequenas fibras, possivelmente originadas das células-satélites musculares, que definem uma zona de crescimento localizada nas extremidades dorsal e ventral dos miótomos (Johnston & McLay, 1997).

Segundo Dal-Pai & Dal Pai-Silva (1995), as células-satélites são equivalentes a mioblastos indiferenciados e, dependendo do estado funcional do músculo, estas células revelam acentuado grau de diferenciação, incluindo a presença de miofibrilas. Além disso, são responsáveis pelo crescimento final do tecido muscular, além do maior ou menor grau de hiperplasia.

Nos peixes, o tecido muscular forma a maior parte da massa corporal (Weatherley & Gill, 1989; Veggetti, 1995; Temple et al., 2000) e apresenta-se sob a forma segmentada ao longo de todo o corpo, constituindo o principal órgão locomotor. A distribuição das fibras musculares dos peixes difere do padrão encontrado nos músculos de outros vertebrados, onde as fibras estão arrançadas em mosaico.

Na maioria das espécies de peixes, a musculatura apresenta-se dividida em dois compartimentos: vermelho na região superficial logo abaixo da derme e branco, na região profunda, formando a maior parte da massa muscular (Vieira & Johnston, 1999; Johnston et al., 2000a). O compartimento vermelho é constituído por fibras que apresentam metabolismo oxidativo e contração lenta, denominadas vermelhas ou SO (slow oxidative), enquanto o compartimento branco é constituído por fibras com metabolismo glicolítico e de contração rápida, denominadas brancas ou FG (fast glycolytic) (Dal Pai-Silva et al., 1995; Luther et al., 1995; Johnston, 2001).

Os aspectos morfológicos, histoquímicos e bioquímicos do tecido muscular são objeto de estudo de vários pesquisadores, uma vez que estas variáveis são importantes para entender o metabolismo e fisiologia dos músculos. Entretanto, poucas pesquisas estão voltadas aos peixes tropicais (Brooks et al., 1995).

O matrinxã (*Brycon cephalus*) é uma das principais espécies do gênero *Brycon*, da Bacia Amazônica (Howes, 1982), e a sua criação tem despertado grande atenção considerando sua grande potencialidade para a piscicultura, proporcionada pela facilidade de

adaptação ao cativeiro, rápido crescimento, hábito alimentar onívoro e valor econômico (Zaniboni Filho et al., 1988, Scorvo-Filho et al., 1998; Gomes et al., 2000) e são poucos os dados encontrados, principalmente morfológicos sobre o início de seu desenvolvimento (Romagosa, 1998).

Para Power et al. (2001), é evidente a ação de hormônios tireoidianos induzindo a morfologia externa de *Paralichthys olivaceus* durante a metamorfose e sua ação em tecidos como das glândulas gástricas, eritrócitos e muscular.

Experimentos com hormônios tireoideanos exógenos, em peixes, mostram resultados satisfatórios no crescimento, desenvolvimento, sobrevivência larval, além de aceleração da absorção do saco vitelínico (Lam, 1980; Lam & Sharma, 1985, Brown & Nuñez, 1994; Ayson & Lam, 1993; Hey et al., 1996; De Jesus et al., 1998). Segundo Weartherley & Gill (1989), os hormônios tireoidianos podem influenciar o crescimento, mas não é certo se este crescimento é uma ação direta destes hormônios ou se eles potencializam a atividade anabólica de outros hormônios, mais particularmente o de crescimento, ou ainda se, de forma generalizada, influenciam o metabolismo de modo permissivo, interagindo com outros hormônios (Plisetskaya et al., 1983).

O presente trabalho teve como objetivo analisar o efeito da exposição de ovos de matrinxã (*Brycon cephalus*) à triiodotironina, no desenvolvimento muscular das larvas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura (CEPTA/IBAMA), Pirassununga – SP. Foram utilizadas 4 fêmeas de matrinxã que foram induzidas à reprodução por protocolo de rotina (Woynarovich & Horvath, 1983). Os ovócitos de cada fêmea foram fertilizados e divididos em 4 partes iguais (aproximadamente 20.000 ovos/parte), e cada parte hidratada com 500ml de soluções de triiodotironina (0,00ppm, 0,01ppm, 0,05ppm e 0,10ppm), por 15 minutos. Em seguida, os ovos foram transferidos e mantidos em incubadoras, com água em fluxo contínuo por 54 horas após a eclosão. Posteriormente, as larvas foram mantidas em aquários com capacidade de 20 L, na densidade de 10 larvas/L. As amostragens foram realizadas 6; 18; 30; 42; 54; 126; 198; 270 e 342 horas após a eclosão.

Trinta e seis horas após a eclosão, todos os grupos receberam alimentação exógena, constituída por zooplâncton, duas vezes ao dia (9h e 17h), e alimentação artificial, quatro vezes ao dia (9h, 12h, 16h e 21h).

Para a descrição estrutural do tecidos e órgãos, as larvas foram fixadas em solução de Karnowsky por 2 horas, transferidas para tampão cacodilato de sódio e mantidas em geladeira. As amostras foram desidratadas, diafanizadas, embebidas em parafina e seccionadas transversalmente e sagitalmente com a espessura de 5µm. Foi utilizada a técnica de coloração de hematoxilina de Harris (HE), descrita por Behmer et al. (1976). Os cortes histológicos foram analisados por microscópio de luz, com objetivas de 10x e de 40x.

Para o cálculo da área transversal do tecido muscular estriado esquelético, foram tomadas medidas do corte transversal médio de 10 larvas de cada repetição, através do analisador de imagens Image Pro Plus Version 3.0 For Windows 3.1 (Media Cybernetics)

acoplado a um microscópio Olympus BX50. Para definir o corte médio, levou-se em consideração o comprimento total das larvas.

Os dados obtidos para área transversal da musculatura esquelética, peso e comprimento foram analisados em parcelas subdivididas com quatro tratamentos primários (doses de  $T_3$ ), nove tratamentos secundários (períodos de amostragem) e quatro repetições (incubadoras) distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey.

Durante o experimento, registrou-se a temperatura ( $25^{\circ}\text{C}$  a  $27^{\circ}\text{C}$ ), pH (6,8 a 7,8), oxigênio dissolvido (5,7 a 7,8 mg/L), alcalinidade (8,3 a 8,7mg/L) e amônia total (0,13 a 0,33ml/L).



## RESULTADOS

A eclosão das larvas ocorreu 12-13h após a fertilização dos ovos nos diferentes tratamentos. Momentos antes da eclosão, larvas de todos os tratamentos apresentavam a cauda totalmente solta realizando movimentos rápidos e a cabeça curvada sobre o vesícula vitelínica.

Através da microscopia de luz, foi possível identificar, a partir de 6 horas após a eclosão, em larvas de todos os tratamentos, duas camadas de tecido muscular, uma mais delgada formada por células com pequena dimensão, localizada logo abaixo da pele e uma outra mais profunda constituída por numerosas fibras de diferentes tamanhos e com núcleos centralizados (Figura 1A e 1B).

Em todos os tratamentos, 6 horas após a eclosão, observou-se a formação dos miômeros, que nesta fase apresentavam-se separados uns dos outros por estreita faixa de tecido conjuntivo, constituindo os mioseptos (Figura 2A) e a partir de dezoito horas já foi possível identificar nas fibras estriações transversais (Figura 2B).

Através da análise de cortes sagitais, nas larvas amostradas 6, 18, 30, 42, 54, 126 e 198 horas após a eclosão observou-se, entre as fibras musculares, núcleos esféricos, provavelmente de mioblastos ou células satélites, que diminuíram gradativamente, em quantidade, de acordo com a evolução dos períodos (Figuras 2A, 2B, 2C, 3A, 3B e 3C)

Duzentas e setenta horas após a eclosão, nas larvas dos tratamentos 0,05 e 0,10ppm de T<sub>3</sub>, o tecido muscular mostrou-se constituído principalmente por fibras brancas, grandes e arredondadas e com núcleos localizados perifericamente e por uma estreita faixa de fibras vermelhas, localizadas logo abaixo da pele (Figuras 4A e 4B). Nos demais tratamentos, estas observações foram registradas 342 horas após a eclosão.

A partir de 54 horas após a eclosão, as larvas provenientes de ovos expostos à dose de 0,05ppm do hormônio apresentavam a área da secção transversal das fibras musculares maior que as dos demais tratamentos. Com o passar do tempo, este fato foi se acentuando, principalmente nas larvas dos tratamentos 0,05 e 0,10ppm (Tabela 1).

## DISCUSSÃO

Os hormônios tireoidianos, mais particularmente a triiodotironina, desempenham um significativo papel no controle do desenvolvimento, diferenciação e metabolismo e a maioria dos vertebrados não atingem sua forma adulta sem eles (Power et al., 2001).

Neste estudo, a triiodotironina acelerou o desenvolvimento muscular de larvas provenientes de ovos expostos ao hormônio.

A partir de 6 horas após a eclosão, em todas as larvas, observou-se duas camadas de músculo, uma mais delgada formada por células com pequena dimensão, localizada logo abaixo da pele, provavelmente futuras fibras vermelhas e uma outra mais profunda constituída por numerosas fibras de diferentes tamanhos e com núcleos centralizados (fibras brancas). De acordo com Martinez et al. (1995), as fibras musculares dos peixes ficam reunidas em miótomos e de acordo com a sua coloração apresentam fisiologia e localização distintas. Duas camadas de fibras musculares, uma superficial mais delgada e outra interna foram descritas também para *Prochilodus marginatus* (Brooks et al., 1995), *Scophthalmus maximus* (Gibson & Johnston, 1995), *Salmo salar* (Johnston & McLay, 1997) e *Colossoma macropomum* (Vieira & Johnston, 1999).

A presença de estriações transversais foram identificadas nas larvas de todos os tratamentos a partir de dezoito horas, indicando a síntese de miofibrilas (Johnston et al., 1997; Killeen et al., 1999).

De 6 a 198 horas após a eclosão, estavam presentes entre as fibras musculares, núcleos esféricos, provavelmente de mioblastos ou células satélites, que diminuiriam gradativamente, em número, com o crescimento das larvas. O crescimento muscular durante as fases embrionária e larval dos peixes está diretamente envolvido com a presença de células indiferenciadas chamadas de satélites ou mioblastos (Johnston et al., 1995; Johnston, 2001).

Estas células são caracterizadas como células fonte e são absorvidas durante o crescimento, em diâmetro, das fibras musculares (Johnston et al., 2000a). No *Salmo salar* L., o contínuo recrutamento de novas fibras (hiperplasia) está envolvido com a proliferação de células satélites que acontece ao final da vida embrionária e a hipertrofia será o resultado da divisão destas células na formação de miotúbulos que serão incorporados às fibras (Johnston et al., 1999; Johnston et al., 2000b). É provável que o matrinxã tenha respondido de forma similar, uma vez que, com o crescimento das larvas, houve diminuição no número destas células e um gradativo aumento no diâmetro das fibras.

O tecido muscular do matrinxã mostrou-se subdividido em miômeros, delimitados por miosseptos. Esta disposição é comum à maioria das espécies de peixes (Grizzle & Rogers, 1979; Dal-Pai Silva, et al, 1993; Vasques, 1997). Para Grizzle & Rogers (1979), os miosseptos proporcionam o deslizamento dos miômeros, provocando as contorções do animal essenciais para sua movimentação.

Inui et al. (1995) verificaram que a administração de tiroxina em *Paralichthys olivaceus* induziu alterações morfológicas na musculatura esquelética, durante o processo de metamorfose, assim como o observado por Lam et al. (1985) em *Chanos chanos*. Embora Liu & Chan, 2002 tenham observado que em larvas de *Danio rerio* imersas em tiroxina, a organização dos miótomos tenha se mostrado de forma menos compactada quando comparada ao do grupo controle. Duzentas e setenta horas após a eclosão, no presente estudo, nas larvas das concentrações 0,05 e 0,10ppm T<sub>3</sub>, o tecido muscular mostrou-se constituído principalmente por fibras brancas, grandes e arredondadas e com núcleos localizados perifericamente e por uma estreita faixa de fibras vermelhas, localizadas logo abaixo da pele e nos demais tratamentos, estas observações foram registradas posteriormente, indicando que o efeito da triiodotironina nas concentrações de 0,05 e 0,10ppm para o matrinxã pode acelerar o desenvolvimento da musculatura esquelética.

A partir de 54 horas após a eclosão, as larvas provenientes de ovos expostos à dose de 0,05ppm do hormônio apresentavam a área da secção transversal das fibras musculares maior que as dos demais tratamentos. Com o passar do tempo e o crescimento das larvas, este fato foi se acentuando, principalmente nas larvas dos tratamentos 0,05 e 0,10ppm indicando um acelerado processo de hipertrofia muscular por efeito do  $T_3$  nestas concentrações.

Tabela 1. Valores da área da seção transversal média da musculatura (ASTMM) de larvas provenientes de ovos expostos a triiodotironina (T<sub>3</sub>).

Variáveis	Doses (ppm)	Períodos (horas)								
		6	18	30	42	54	126	198	270	342
ATTM	0,00	18,65±2,26Af	31,76±2,26 Aef	38,88± 1,54Aef	56,01± 1,04Ae	61,06± 0,88Bde	94,92±0,56Bcd	105,35 ±3,05Bc	372,24±5,06Bb	472,84±12,56Ca
(x 10 <sup>3</sup> µm <sup>2</sup> )	0,01	18,32±1,74Af	33,27±2,45 Aef	38,05± 1,55Aef	55,15±1,75 Ae	62,17± 5,11Bde	97,33±1,79Bd	161,07±1,97Ac	365,43±5,21Bb	476,87±9,76Ca
	0,05	20,28±1,06Af	36,53± 1,30Aef	42,21±2,77 Aef	59,67± 0,85Ae	96,58±1,70Ad	126,65±3,35Ad	176,25±2,18Ac	417,86±2,20Ab	778,65±6,56Aa
	0,10	19,72±0,80Ag	33,68± 0,82Afg	40,97± 0,92Afg	58,73± 1,34Aef	83,28±2,80ABde	97,81±3,49ABd	169,91± 1,36Ac	405,94±11,46Ab	656,21± 3,13Ba
c.v. doses: 7,25%									c.v. períodos: 9,97%	

<sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

± Desvio Padrão

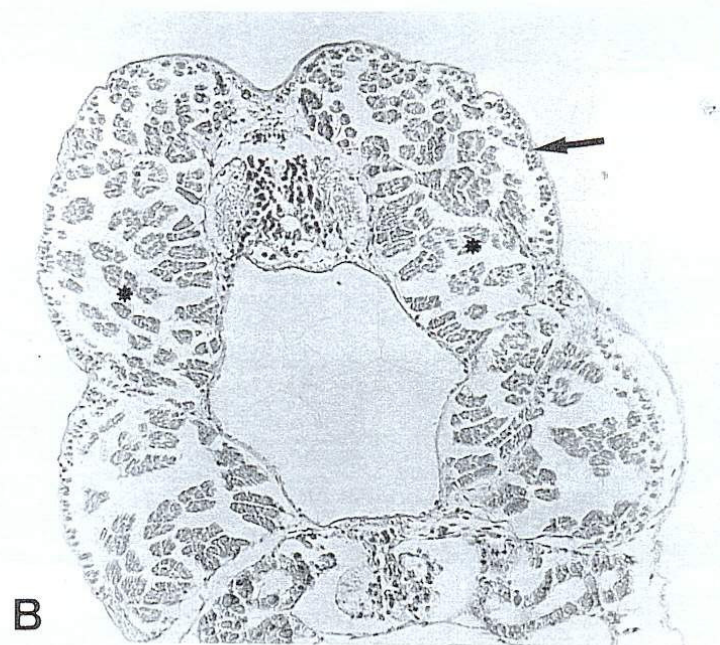
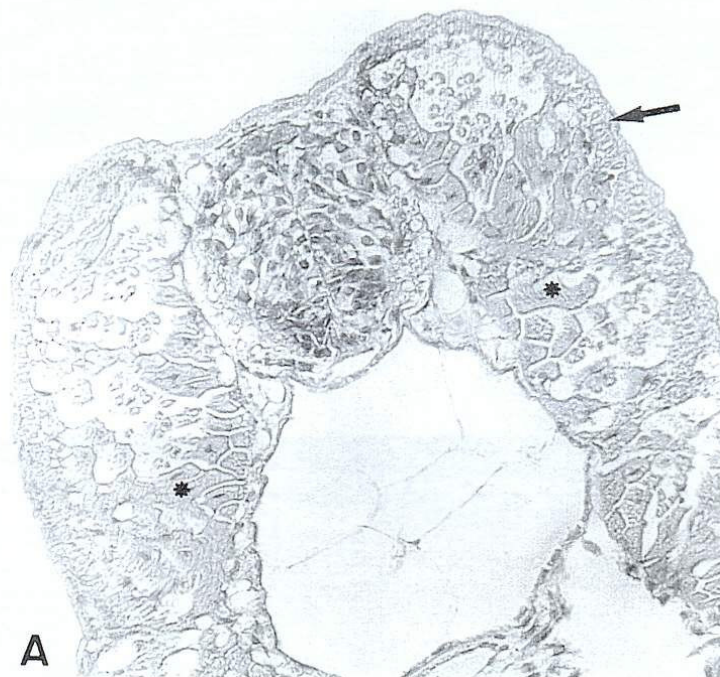


Figura 1. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) A - 6 horas após a eclosão (0,10ppm). Obj. 40x. B - 30 horas após a eclosão (0,05ppm). Obj. 20x. HE. \* (Fibras brancas). Seta (fibras vermelhas).

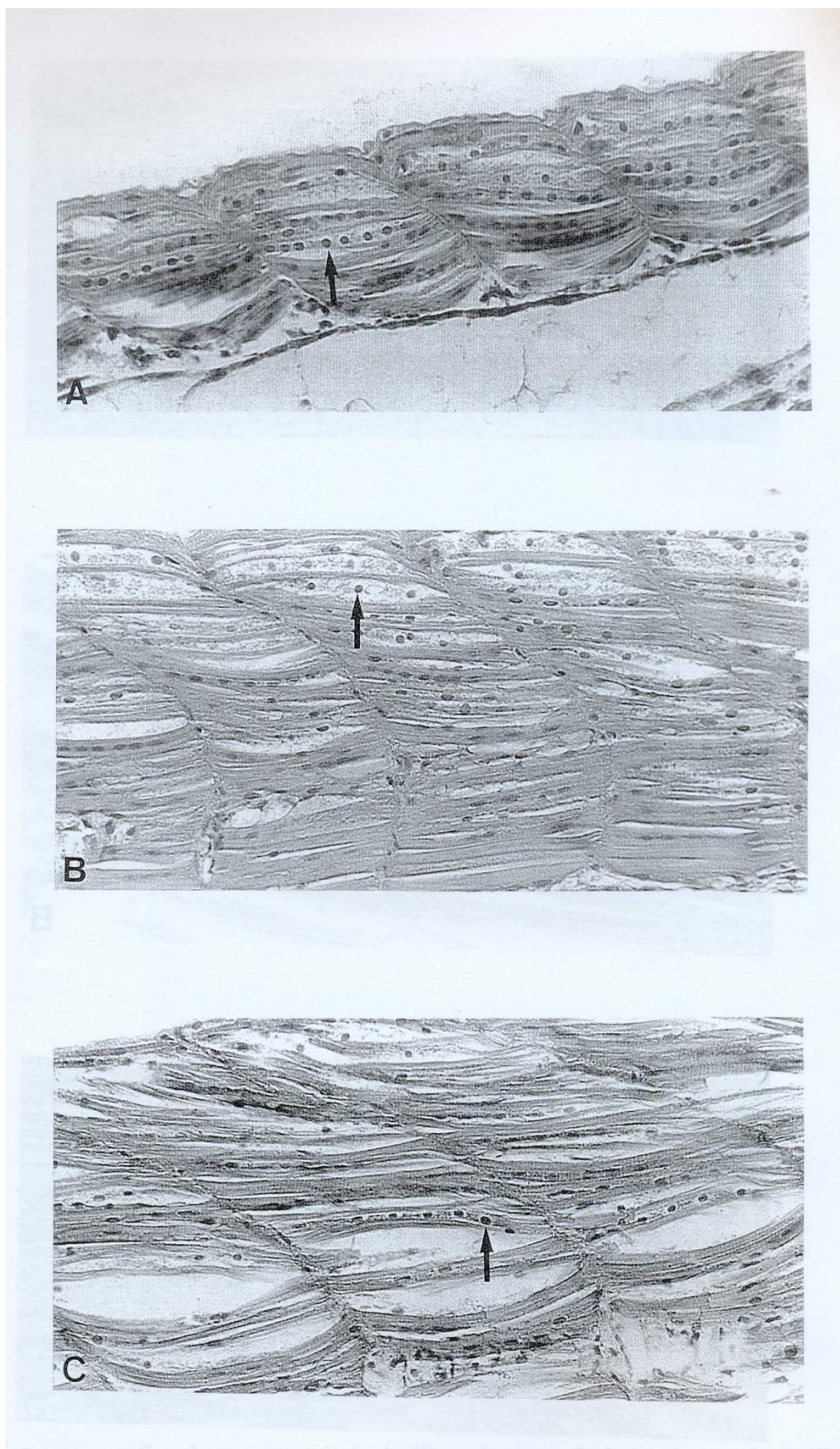


Figura 2. Fotomicrografias de cortes sagitais de fibras brancas de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A - 6 horas após a eclosão (0,00ppm). B - 18 horas após a eclosão (0,01ppm). C - 30 horas após a eclosão (0,05ppm). Seta (núcleos de mioblastos). HE. Objetiva 40x.



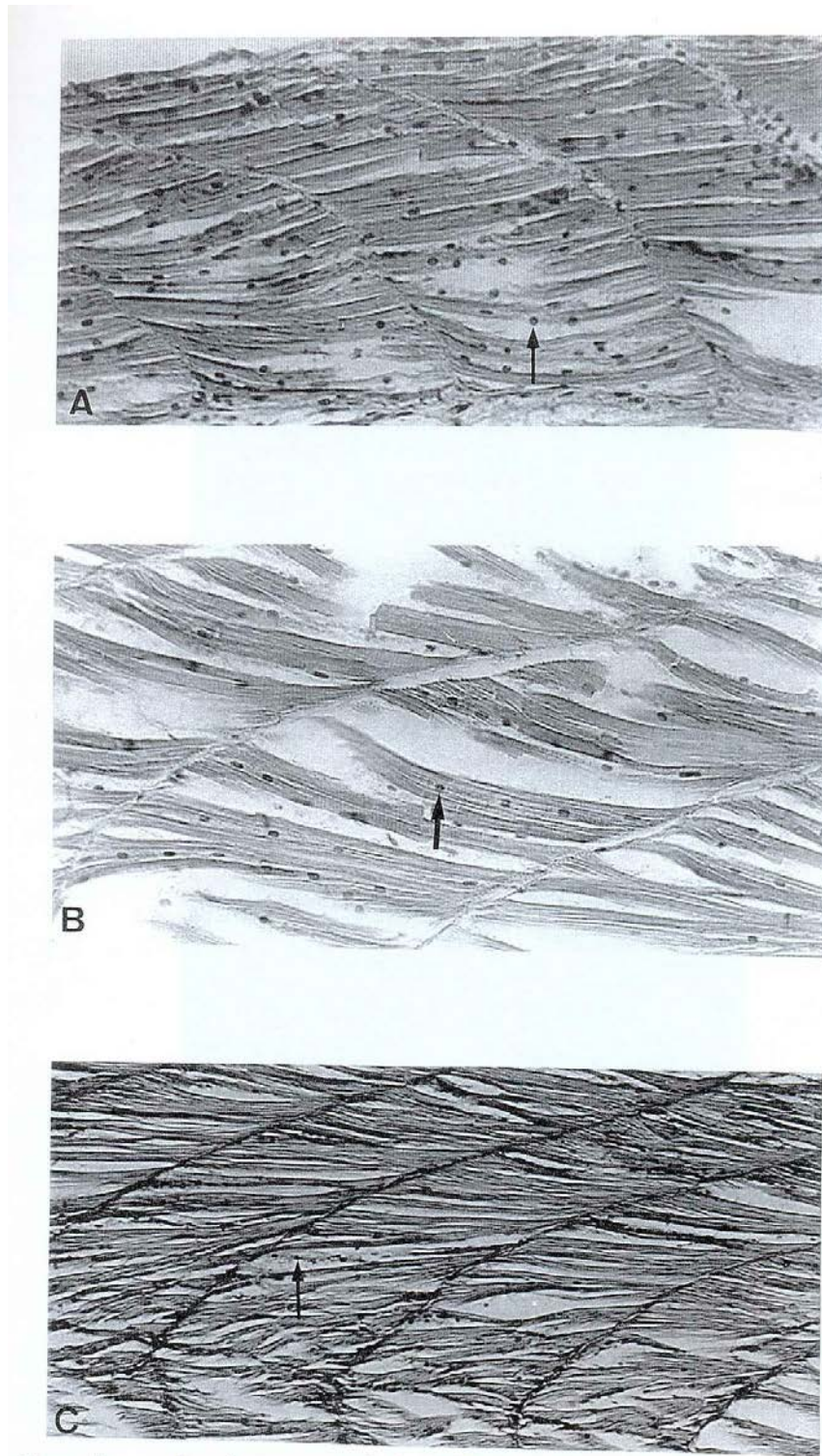


Figura 3. Fotomicrografias de cortes sagitais de fibras brancas de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A - 42 horas após a eclosão (0,00ppm). Obj. 40x. B - 126 horas após a eclosão (0,01ppm). Obj. 40x. C - 198 horas após a eclosão (0,05ppm). Obj. 20x. Seta (núcleos de mioblastos). HE.

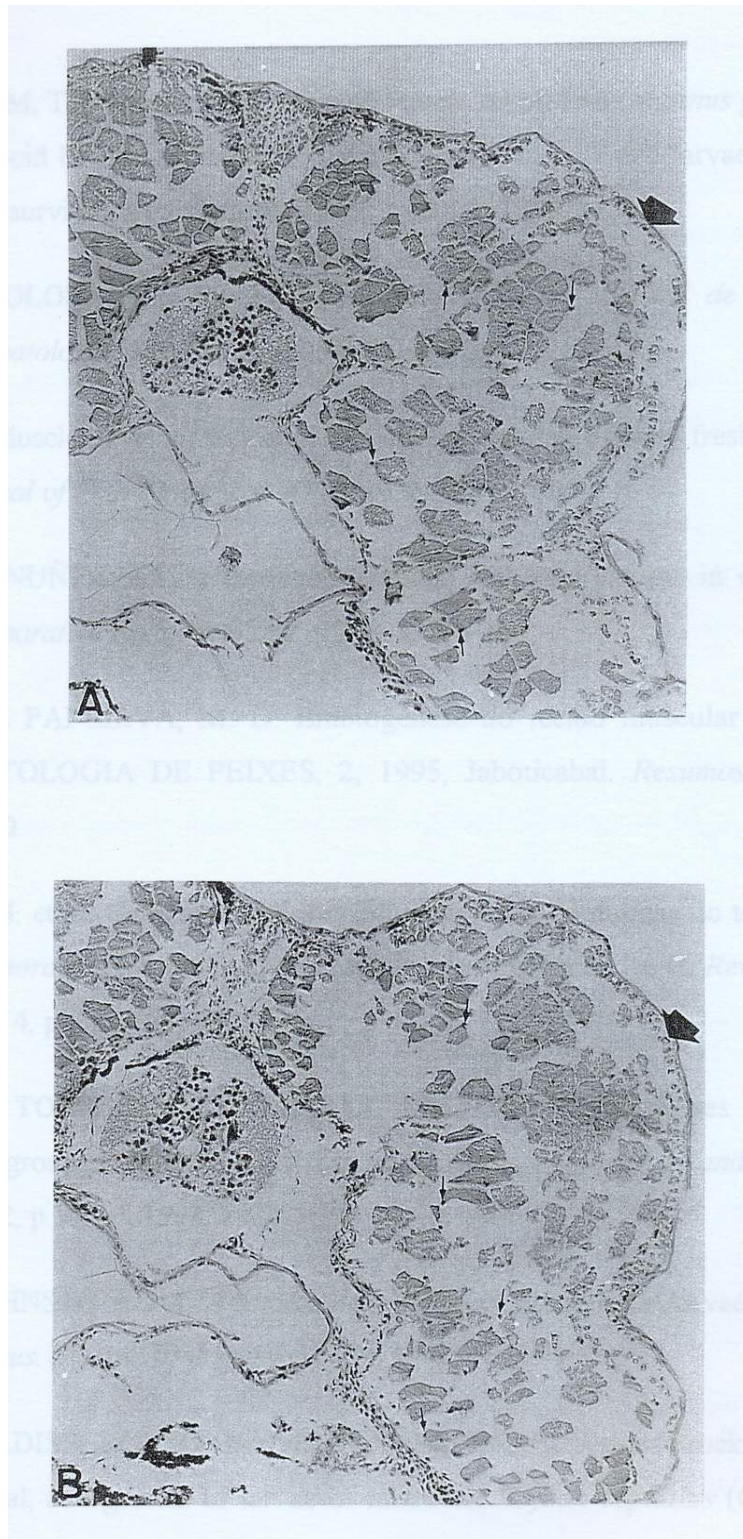


Figura 4. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A - 270 horas após a eclosão (0,05ppm). B - 270 horas após a eclosão (0,10ppm). Seta maior (fibras vermelhas). Seta menor (núcleos das fibras brancas). Objetiva 10x. HE.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYSON, F.G. & LAM, T.J. Thyroxin injection of female rabbit fish (*Siganus guttatus*) brood stock: change in thyroid hormones levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture*, v.109, p.83-93, 1993.

BEHMER, O.A., FOLOSA, E.M.C., FREITAS NETO, A.G. *Manual de técnicas para histologia normal e patologia*. São Paulo: EDART, EDUSP, 1976, 248 p.

BROOKS, S. et al. Muscle development in larvae of fast growing tropical freshwater fish, the curimatã-pacu. *Journal of Fish Biology*, v. 47, p. 1026-1037, 1995.

BROWN, C. L. & NUÑEZ, J.M. Hormones. Actions and applications in embryogenesis. *Perspectives in Comparative Endocrinology*, p.333-339, 1994.

DAL PAI, V., DAL PAI-SILVA, M. D. Embiogênese do tecido muscular de peixes. In: SEMANA DE HISTOLOGIA DE PEIXES, 2, 1995, Jaboticabal. *Resumos...* Jaboticabal: FCAV, 1995. p.73-80.

DAL PAI-SILVA, M. et al. Características morfológicas e histoquímicas do tecido muscular do *Synbranchus mamoratus* (Pisces, Synbranchidae), com fenótipos I e II. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 55, n. 4, p. 685-691, 1995.

De JESUS, E. G.; TOLEDO, J. D.; SIMPAS, M.S. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *General and Comparative Endocrinology*, v.112, p.10-16, 1998.

GIBSON, S. & JOHNSTON, I.A. Temperature and development in larvae of the turbot *Scophthalmus maximus*. *Marine Biology*, v. 124, p. 17-25, 1995.

GOMES, L.C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J.A. Effects of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture*, v.183, p.73-81, 2000.

GRIZZLE, J.M., ROGERS, W.A. *Anatomy and histology of the channel catfish* Alabama-USA: Auburn University, 1976. 94 p.

HEY, J. et al. Thyroid hormones and their influences in larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.27, n.1, p.80-90, 1996.

HOWES, G. Review of the genus *Brycon* (Teleostei, Characoidei). *Bulletin of the British Museum of Natural History and Zoology*, v.43, n.1, p. 1-47, 1982.

INUI, Y.; YAMANO, K.; MIWA, S. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. *Aquaculture*, v.135, p.87-98, 1995.

JOHNSTON, I. A. & McLAY, H. A. Temperature and family effects on muscle cellularity at hatch and first feeding in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Zoology*, v. 75, p. 64-74, 1997.

JOHNSTON, I. A. et al. Early thermal experience has different effects on growth and muscle fibre recruitment in spring- and autumn- running Atlantic Salmon populations. *Journal of Experimental Biology*, v. 203, p. 2553-2564, 2000a.

JOHNSTON, I. A. et al. Family and population differences in muscle fibre recruitment in farmed Atlantic salmon (*Salmon salar*). *Basic and Applied Myology*, v.10, n.6, p. 291-296, 2000b.

JOHNSTON, I. A. et al. Muscle growth and development in normal-sex-ratio and all-female diploid and triploid Atlantic salmon. *Journal of Experimental Biology*, v. 202, p. 1991-2016, 1999.

JOHNSTON, I. A. et al. Temperature and development plasticity of muscle in Herring larvae. *Journal of Experimental Biology*, v. 200, p. 849-868, 1997.

JOHNSTON, I. A. Genetic and environmental determinants of muscle growth patterns. In: *Fish Physiology: Muscle development and growth*. Academic Press, 2001.

JOHNSTON, I. A.; VIEIRA, V.L.; ABERCROMBY, M. Temperature and myogenesis in embryos of Atlantic herring *Clupea harengus*. *Journal of Experimental Biology*, v. 198, p. 1389-1403, 1995.

KILLEN, J.R.; McLAY, H.A.; JOHNSON, I.A. Temperature and neuromuscular development in embryos of the trout (*Salmo trutta* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, v. 122, p. 53-64, 1999.

LAM, T.J. & SHARMA, R. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, v.44, p.201-212, 1985.

LAM, T.J. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon mossambicus* ruppell. *Aquaculture*, v.21, p.287-291, 1980.

LAM, T.J.; JUARIO, J.V.; BANNO, J. Effect of thyroxine on growth and development in post-yolk-sac of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, v. 46, p. 179-184, 1985.

LIU, Y-W; CHAN, W-K. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation*, v.70, p.36-45, 2002.

LUTHER, P. K. et al. Muscle ultrastructure in the teleost fish. *Micron*, v.26, p. 431-459, 1995.

MARTINEZ, I. et al. Effects of T<sub>3</sub> and rearing temperature on growth and skeletal myosin heavy chain isoform transition during early development in the salmonid *Salvelinus alpinus* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, v. 112b, n. 4, p. 717-725, 1995.

NATHANAILIDES C.; LOPEZ-ALBORS, O.; STICKLAND, N.C. Influence of prehatch temperature on the development of muscle cellularity in posthatch Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v.52, p. 675-680, 1995.

PLISETSKAYA, E.; WOO, N.Y.S.; MURAT, J.C. Thyroid hormones in cyclostomes and fish and their role in regulation of intermediary metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, v.74A, n.2, p.179-187, 1983.

POWER, D.M. et al. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, v. 130, p. 447-459, 2001.

ROMAGOZA, E. *Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultraestrutura) e indução da reprodução do matrinxã, Brycon cephalus (Günther, 1869) em cativeiro Vale do Paraíba, São Paulo. São Carlos. Universidade Federal de São Carlos. 218p. 1998. (Tese de doutorado).*

- SCORVO-FILHO, J.D.; MARTINS, N.B.; AYROSA, L.M.S. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Informações Econômicas*. v.28, p.41-60, 1998
- TEMPLE, G.K. et al. Variability in muscle growth characteristics during the spawning season in a natural population of Atlantic herring *Clupea harengus*. *Marine Ecology Progress Series*, v.105, p.271-281, 2000.
- TEMPLE, G.K.; COLE, N.J.; JOHNSTON, I.A. Embryonic temperature and relative timing of muscle-specific genes during development in herring *Clupea harengus*. *Journal of Experimental Biology*, v.204, p.3629-3637, 2001.
- VASQUES, L.H. *Histologia da piracanjuba, Brycon orbignyanus (Valenciennes, 1849) (Pisces: Characidae): Tecidos fundamentais*. Jaboticabal, 1997. Dissertação (mestrado): Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista. 79p.
- VEGETTI, A. Differenziamento ed accrescimento del muscolo laterale di teleostei oggetto di acquacoltura. *Laguna Revista Bimestrale del Programma Integrato Mediterraneo Adriatico Settentrionale*, n.5 speciale, p.38-43, 1995.
- VIEIRA, V.L.A. & JOHNSTON, I.A. Temperature and neuromuscular development in the tambaqui. *Journal of Fish Biology*, v.55 (A), p. 66-83, 1999.
- WEATHERLEY A. H.; GILL H. S. *The biology of fish growth*. Academic Press: London, 1989.
- WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão*. FAO/ CODEVASF/ CNPq. 220p, 1983.
- ZANIBONI FILHO, E. et al. Caracterização morfológica do matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v.48, n.1, p.41-50, 1988.

***ARTIGO CIENTÍFICO III***

**ANÁLISE MORFOLÓGICA DE COMPONENTES  
DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE LARVAS DE  
MATRINXÃ (*Brycon cephalus*) APÓS A  
EXPOSIÇÃO DOS OVOS À TRIIODOTIRONINA**

## RESUMO

O presente estudo analisou o efeito da exposição de ovos de matrinxã (*Brycon cephalus*) à triiodotironina ( $T_3$ ) no desenvolvimento de estruturas do sistema digestório das larvas. A pesquisa foi desenvolvida no Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, e no Depto de Morfologia/Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP. Ovócitos fertilizados foram imersos por 15 minutos em soluções de triiodotironina (0,00; 0,01; 0,05 e 0,10ppm) e o material biológico coletado 6, 18, 30, 42, 54, 126, 198, 270 e 342 h após a eclosão das larvas, para análise em microscopia de luz e eletrônica de varredura. Em todos os tratamentos, 18 h após a eclosão, as larvas apresentavam a boca aberta e o lúmen do tubo digestório parcialmente aberto na concentração 0,10ppm. Às 30h, nas larvas oriundas de ovos expostos a 0,05 e 0,10ppm de  $T_3$ , a camada mucosa da região gástrica era mais organizada que dos demais tratamentos. Aproximadamente 33h após a eclosão, larvas de todos os tratamentos apresentaram canibalismo e, às 54 h, apenas as provenientes de ovos expostos a 0,05ppm de  $T_3$  não apresentavam mais evidência de ataques. O vitelo das larvas do tratamento 0,10ppm de  $T_3$  havia sido totalmente consumido às 54 h, e nas larvas dos demais tratamentos este fato ocorreu 126 h após a eclosão. Por outro lado, às 30 h, em larvas de todos os tratamentos, o intestino era linear, mostrando discretas vilosidades na camada mucosa, sendo que às 54 h, nas larvas expostas a 0,05ppm e 0,10ppm de  $T_3$ , a quantidade de vilosidades era relativamente maior que a dos demais tratamentos. Cinquenta e quatro horas após a eclosão, verificou-se, nas larvas dos tratamentos 0,05 e 0,10ppm  $T_3$ , o aparecimento de células vacuoladas entre as que formavam a camada mucosa do estômago. O tecido hepático das larvas dos tratamentos 0,05 e 0,10ppm de  $T_3$ , 198 h após a eclosão, apresentava células se organizando em cordões paralelos. Os resultados encontrados neste estudo mostram que a triiodotironina atua no desenvolvimento de estruturas do sistema digestório nas larvas de matrinxã.



## ABSTRACT

The present study analyzed the effect of the exposure of the eggs of matrinxã (*Brycon cephalus*) to triiodothyronine ( $T_3$ ) on the development of the components of the digestive system of the larvae. The study was carried out at the Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, and at the Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal campus, SP.

Fertilized oocytes were immersed for 15 minutes in  $T_3$  solutions (0.00; 0.01; 0.05 and 0.10ppm) and biological material was collected 6, 18, 30, 42, 54, 126, 198, 270 e 342 h after larvae hatching. Tissues and organs were analyzed in light and scanning microscopy. Larvae from all treatments showed opened mouth 18 h after hatching, and the digestive lumen was partially opened in larvae from 0.1ppm treatment. At 30 h, it was possible to observe that larvae produced by eggs exposed to 0.10ppm  $T_3$  had stomach mucus layer more organized than in larvae from the other treatments. Approximately 33 h after hatching, larvae presented cannibalism, regardless the treatment and at 54 h only those from the 0.05ppm treatment no more presented predation. Yolk in larvae from the 0.10ppm treatment was totally consumed at 54 hs but it only occurred in larvae from the other treatment at 126 h after hatching.

Otherwise, at 30 hs, in larvae from all treatments the intestine was linear, showing discrete vilosities in the mucus layer and at 54 h, in larvae from eggs exposed to 0.05ppm and 0.10ppm  $T_3$  the number of vilosities was higher than those of the larvae from the other treatments. Fifty four h after hatching, larvae from the 0.05ppm and 0.10ppm  $T_3$  treatments presented vacuolus cells among those forming the stomach mucus layer. Liver tissue of larvae from 0.05ppm and 0.10ppm  $T_3$  treatments had cells organized in parallel strings.

The results of this study suggest that triiodothyronine play a role in the development of the digestive system in larvae of matrinxã.

## INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Brycon* são de alto valor econômico (Mendonça, 1996; Senhorini et al., 1998). Entre elas, destaca-se o matrinxã, *Brycon cephalus*, originário da Bacia Amazônica (Howes, 1982), espécie onívora, de crescimento rápido (Werder & Saint Paul, 1978) e de crescente importância entre os peixes cultivados no Brasil. Atualmente, é criado comercialmente em várias regiões do país, incluindo o sudeste, onde é muito utilizado como peixe esportivo (Scorvo-Filho et al., 1998).

Os peixes ocupam diferentes nichos ecológicos, enfrentando assim, com eficácia, os desafios da complexa vida aquática. Nos teleósteos, o canal alimentar, apesar de ser mais simples que o dos vertebrados superiores, realiza com sucesso várias funções. Além de processar os alimentos, algumas partes do tubo digestório são especializadas, auxiliando na respiração, como ocorre em *Plecostomus comersonii*. Em outras espécies, o tubo digestório auxilia na osmorregulação, como na *Anguilla japonica*, possuindo, inclusive, plasticidade suficiente para modificar a sua estrutura, conforme requeiram as condições ambientais (Blasquez, 1995).

As características anatômicas do aparelho digestório dos peixes acham-se em estreita dependência com a natureza dos alimentos, as características do habitat, o estado nutricional e o estágio de desenvolvimento do animal, manifestadas especialmente por adaptações e modificações (Seixas Filho et al., 2001).

As funções básicas do sistema endócrino dos peixes ocorrem ao final da fase de desenvolvimento embrionário e desempenham um importante papel no desenvolvimento (Deane & Woo, 2002) e crescimento das larvas (Tanaka, 1991; Pavlov et al., 1998).

Os hormônios são conhecidos por regularem atividades metabólicas nos vertebrados (Varghese & Oommen, 1999). De acordo com Ayson & Lam (1993), alguns hormônios se depositam nos ovos, por transferência materna, e são utilizados até que seus próprios órgãos endócrinos estejam desenvolvidos e funcionais. Em fêmeas de *Siganus guttatus* injetadas com T<sub>4</sub>, verificou-se que, durante o desenvolvimento larval, os níveis de triiodotironina e de tiroxina sofreram drástica queda.

Brown & Nuñez (1994) relatam que o início do desenvolvimento dos peixes, assim como de todos os vertebrados, inclui uma série de períodos críticos, durante os quais acontecem a diferenciação dos sistemas e órgãos. Os hormônios tireoidianos podem estimular vários aspectos da embriogênese durante estas fases críticas, por apresentarem profunda influência no crescimento e maturação de muitos tecidos (Moon et al., 1994), tais como do sistema gastrointestinal (Miwa et al., 1992; Walford & Lam, 1993; Huang et al., 1998; Nayak et al., 2000; Liu & Chan, 2002).

Inui et al. (1995) sugerem que o desenvolvimento morfológico do estômago de *Paralichthys olivaceus* é diretamente controlado pelos hormônios tireoidianos, embora Demska-Zakes et al. (1995) tenham encontrado apenas discretas alterações morfológicas no desenvolvimento do sistema digestório de larvas de *Coregonus albula* alimentadas com uma dieta suplementada com triiodotironina.

O presente estudo teve como objetivo analisar o efeito da exposição de ovos de matrinxã à triiodotironina no desenvolvimento de estruturas do sistema digestório.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga – SP. Foram utilizadas 4 fêmeas de matrinxã que foram induzidas a reprodução, segundo Woynarovich & Horvath (1983). Os ovócitos de cada fêmea foram fertilizados e divididos em 4 partes iguais (aproximadamente 20.000 ovos/parte), e cada parte foi hidratada com 500ml de soluções de triiodotironina (0,00ppm, 0,01ppm, 0,05ppm e 0,10ppm), por 15 minutos. Em seguida, os ovos foram transferidos e mantidos em incubadoras, com água em fluxo contínuo por 54 horas após a eclosão. Posteriormente, as larvas foram mantidas em aquários de 20 L, na densidade de 10 larvas/L. As amostragens foram realizadas 6, 18, 30, 42, 54, 126, 198, 270 e 342 horas após a eclosão das larvas.

Trinta e seis horas após a eclosão, todos os grupos receberam alimentação exógena, constituída por zooplâncton, duas vezes ao dia (9h e 17h), e alimentação artificial, quatro vezes ao dia (9h, 12h, 16h e 21h).

Para a descrição estrutural dos tecidos e órgãos, as larvas foram fixadas em Karnovsky (2% paraformaldeído, 2% glutaraldeído, 0,25% CaCl<sub>2</sub>, pH 7,4), por 2 horas, transferidas para tampão cacodilato de sódio e mantidas em geladeira. As amostras foram desidratadas, diafanizadas, embebidas em parafina e seccionadas transversal e sagitalmente na espessura de 5µm. O material foi corado segundo a técnica de hematoxilina de Harris (HE), descrita por Behmer et al. (1976). Os cortes histológicos foram analisados em microscópio de luz, com objetivas de 10x e de 40x.

A área (mm<sup>2</sup>) do saco vitelínico foi calculada através de medidas do corte médio transversal de cada larva, em um analisador de imagem Videoplan Kontron Elektronik - Zeiss. Para se obter o corte médio das larvas, considerou-se os comprimentos totais registrados.

Para a observação ultraestrutural da morfologia externa das larvas, elas foram fixadas em solução de Karnovsky e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 7,4, por 2 horas, a 4°C. Em seguida, foram lavadas no mesmo tampão e desidratadas com passagens em soluções crescentes de álcool absoluto. A secagem foi realizada em secador de ponto crítico, após o que as amostras eram metalizadas e eletronicografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 5410, operado em 15KV.

Durante o experimento, registrou-se temperatura (25°C a 27°C), pH (6,8 a 7,8), oxigênio dissolvido (5,7 a 7,8 mg/L), alcalinidade (8,3 a 8,7mg/L) e amônia total (0,13 a 0,33ml/L).

## RESULTADOS

Através da microscopia de luz foi observado, em todos os tratamentos, que 6 horas após a eclosão as larvas apresentavam a boca ainda fechada e com 18 horas já estava aberta (Figuras 1A e 1B), mas o lúmem do tubo digestório, localizado dorsalmente ao saco vitelínico, mostrava-se parcialmente obliterado sendo que nas larvas do tratamento que recebeu hormônio na concentração 0,10ppm de T<sub>3</sub>, ele apresentava maior abertura (Figuras 2A, 2B, 2C e 2D).

Trinta horas após a eclosão, foi possível notar que nas larvas provenientes de ovos expostos a 0,05 e 0,10ppm de T<sub>3</sub>, a camada mucosa desta região mostrava-se pregueada e mais organizada quando comparada aos demais tratamentos, a camada submucosa bem definida e a muscular formada por fibras dispostas em uma única direção (Figuras 3A e 3B). Observou-se também, em todos os tratamentos, a presença do fígado com os hepatócitos dispostos de forma não definida.

Aproximadamente 33 horas após a eclosão, independente da dose utilizada, as larvas apresentaram canibalismo e, às 54 horas, apenas as larvas provenientes de ovos expostos a 0,05ppm de T<sub>3</sub> não apresentavam mais evidência de ataques. O mesmo ocorreu, às 126 horas, com larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10ppm de T<sub>3</sub>, e, às 196 horas, em larvas do tratamento controle e de 0,01 ppm de T<sub>3</sub> (Figuras 4A, 4B, 4C, 4D, 4E e 4F).

O vitelo das larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10ppm de hormônio havia sido parcialmente consumido às 30 horas e totalmente às 54 horas, e nas larvas dos demais tratamentos este fato foi verificado 126 horas após a eclosão. Por outro lado, às 30 horas, em larvas de todos os tratamentos, o intestino era linear, mostrando discretas vilosidades na camada mucosa, sendo que às 54 horas, nas larvas oriundas de ovos expostos a 0,05ppm e

0,10ppm de  $T_3$ , a quantidade destas estruturas era relativamente maior que a dos demais tratamentos (Figuras 5A e 5B). Quarenta e duas horas após a eclosão, em todos os tratamentos, surgiram as primeiras rotações intestinais.

Cinquenta e quatro horas após a eclosão foi possível verificar, através da microscopia de luz, o aparecimento de células vacuoladas entre as que formavam a camada mucosa do estômago nas larvas oriundas de ovos expostos a 0,05 (Figura A) e 0,10ppm, ocorrendo gradativamente um aumento no número destas células (Figuras 6B e 6D). Por outro lado, nos grupo controle e no grupo de 0,01ppm de  $T_3$ , este fato foi verificado 126 horas após a eclosão.

Observou-se, através da análise histológica, que o tecido hepático das larvas oriundas de ovos expostos a 0,05 e 0,10ppm, 198 horas após a eclosão, apresentava suas células se arranjando em cordões paralelos e, entre eles, os capilares sinusóides (Figura 6D). Já naquelas do grupo controle e da concentração 0,01ppm de  $T_3$ , este órgão não tinha esta organização (Figura 6C).

## DISCUSSÃO

As alterações morfológicas e fisiológicas do trato digestório de larvas de peixes são relativamente rápidas (Specker & Bengtson, 1995; Rojas-Gracia & Ronnestad, 2002). O desenvolvimento do canal alimentar segue desde um simples tubo linear, localizado dorsalmente ao saco vitelínico (Sarasquete et al., 1995), até um complexo e segmentado trato digestivo (Luizi et al., 1999).

No início do período larval, um dos principais acontecimentos no sistema digestório é a abertura da boca (Boulhic & Gabaudan, 1992), que aconteceu no matrinxã, independente do tratamento, 18 horas após a eclosão. Embora tenha sido verificado, neste momento, que o lúmen do tubo digestório encontrava-se parcialmente obliterado nas larvas do grupo controle, nas dos tratamentos que receberam triiodotironina, principalmente 0,10ppm, a abertura foi mais evidente, provavelmente ocasionada pela ação do hormônio.

Às trinta horas, nas larvas provenientes de ovos expostos a 0,05 e 0,10ppm de T<sub>3</sub>, a camada mucosa da região do estômago mostrou-se pregueada e mais organizada quando comparada aos demais tratamentos. De acordo com Brown & Nuñez (1994), os hormônios tireoideanos podem estimular vários aspectos do desenvolvimento embrionário, inclusive o trato gastrointestinal. Para Inui et al. (1995), o desenvolvimento morfológico do estômago de *Paralichthys olivaceus* é diretamente controlado pelos hormônios tireoidianos e Specker & Bengtson (1995) afirmam que esses hormônios estão envolvidos na estimulação do desenvolvimento gástrico dos teleósteos. Larvas de *Danio rerio* tratadas, através da imersão, em solução de tiroxina mostraram uma rápida proliferação de células epiteliais na camada mucosa do estômago (Liu & Chan, 2002), embora larvas de *Coregonus albula* alimentadas com uma dieta suplementada com triiodotironina tenham apresentado apenas discretas



diferenças morfológicas no desenvolvimento do sistema digestório quando comparadas com as larvas que não receberam hormônio (Demska-Zakes, et al. 1995).

Segundo Power et al. (2001), a ação de hormônios tireoidianos induzindo a morfologia externa de *Paralichthys olivaceus* durante a metamorfose e sua ação em tecidos como das glândulas gástricas, eritrócitos e muscular é bastante evidente. Neste estudo, nas larvas de matrinxã provenientes de ovos expostos a 0,05 e 0,10ppm de T<sub>3</sub>, às 54 horas após a eclosão, observou-se o surgimento de células vacuoladas, provavelmente células produtoras de muco, entre aquelas que formavam a camada mucosa do estômago. Nos peixes, a camada mucosa do estômago forma pregas de complexidade variável onde vários tipos de células podem participar do epitélio gástrico, como as mucosas, as enteroendócrinas, as claviformes e as ciliadas (Blazquez, 1995; Caceci et al., 1997; Hamlin et al., 2000).

Trinta horas após a eclosão, nas larvas de todos os tratamentos, o intestino tinha forma linear, com discretas vilosidades na camada mucosa e, às 54 horas, nas larvas oriundas de ovos expostos a 0,05 e 0,10ppm de T<sub>3</sub>, a presença de vilosidades era relativamente maior que a dos demais tratamentos, aumentando assim a capacidade de absorção. Segundo Specker & Bengtson (1995), os hormônios tireoidianos podem regular o desenvolvimento do epitélio intestinal, embora no presente estudo apenas a concentração de 0,10ppm parece ter influenciado o aparecimento de vilosidades intestinais. Demska-Zakes et al. (1995) observaram em larvas de *Coregonus albula* L. alimentadas com uma dieta suplementada com triiodotironina, um discreto aumento na altura do epitélio intestinal, enquanto as camadas submucosa e muscular não sofreram alterações. Brown & Kim (1995), ao estudarem o desenvolvimento de larvas de *Polydactylus sexfilis* imersas numa combinação de triiodotironina e cortisol, verificaram que o tratamento acelerou a diferenciação intestinal o que facilita a absorção dos nutrientes e implica num maior índice de sobrevivência.

Nas larvas provenientes do tratamento com 0,05 ppm de T<sub>3</sub>, o canibalismo, iniciado em todos os tratamentos aproximadamente 33 horas após a eclosão, não foi mais encontrado às 54 horas, seguido das oriundas do tratamento com 0,10 ppm (126 h). As que vieram de ovos expostos à triiodotironina na dose de 0,01ppm apresentaram, nos períodos amostrados, uma incidência de ataques relativamente mais baixa que nos outros tratamentos, apesar de tal comportamento ter se prolongado até 126 horas após eclosão. A diminuição do canibalismo tanto pode estar ligada a declínio da agressividade das larvas quanto a modificações de sua capacidade digestiva e atividade alimentar. A redução de agressividade já foi relacionada a ação de hormônios tireoidianos. Hutchison & Iwata (1998) observaram redução de agressividade ao tratarem *Salmo trutta*, *Oncorhynchus mykiss* e *Oncorhynchus masou* com tiroxina através da alimentação.

Ao mesmo tempo em que ocorria a maturação do trato digestório e sua preparação para receber alimento exógeno, as reservas alimentares endógenas foram absorvidas. Observou-se uma antecipação do desaparecimento destas reservas nas larvas em que a maturação do trato digestório foi mais precoce. A absorção do vitelo das larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10ppm de T<sub>3</sub> ocorreu às 54 horas, e nas larvas dos demais tratamentos este fato foi verificado às 126 horas após a eclosão. Os dados do presente estudo são semelhantes a de outros estudos anteriormente realizados. Nacario (1983) utilizou várias concentrações de tiroxina para observar a absorção do vitelo em larvas de *Oreochromis niloticus* e o melhor resultado foi encontrado naquela mais alta (0,5ppm). Larvas de *Sarotherodon massambicus* (Lam, 1980), *Cyprinus carpio* (Lam & Sharma, 1985), *Chanos chanos* (Lam et al., 1985) e *Carassius auratus* (Reddy & Lam, 1992) expostas aos hormônios tireoideanos, independente da dose, tiveram acelerada a absorção do vitelo.

O efeito da triiodotironina também foi observado na formação do tecido hepático. O fígado das larvas dos tratamentos com 0,05 e 0,10ppm de T<sub>3</sub>, 198 horas após a eclosão,

apresentava suas células se arranjando em cordões paralelos, antes porém que nos demais tratamentos, sugerindo que a triiodotironina pode influenciar no desenvolvimento e a organização deste órgão. Entretanto, o parênquima hepático de larvas de *Coregonus albula* L. alimentadas com uma dieta suplementada com triiodotironina não apresentou alterações quando comparado ao das larvas alimentadas sem hormônio (Demska-Zakes et al., 1995).

A análise do conjunto de resultados encontrados neste estudo sugerem que a triiodotironina atua no desenvolvimento de estruturas do sistema digestório em larvas de matrinxã.

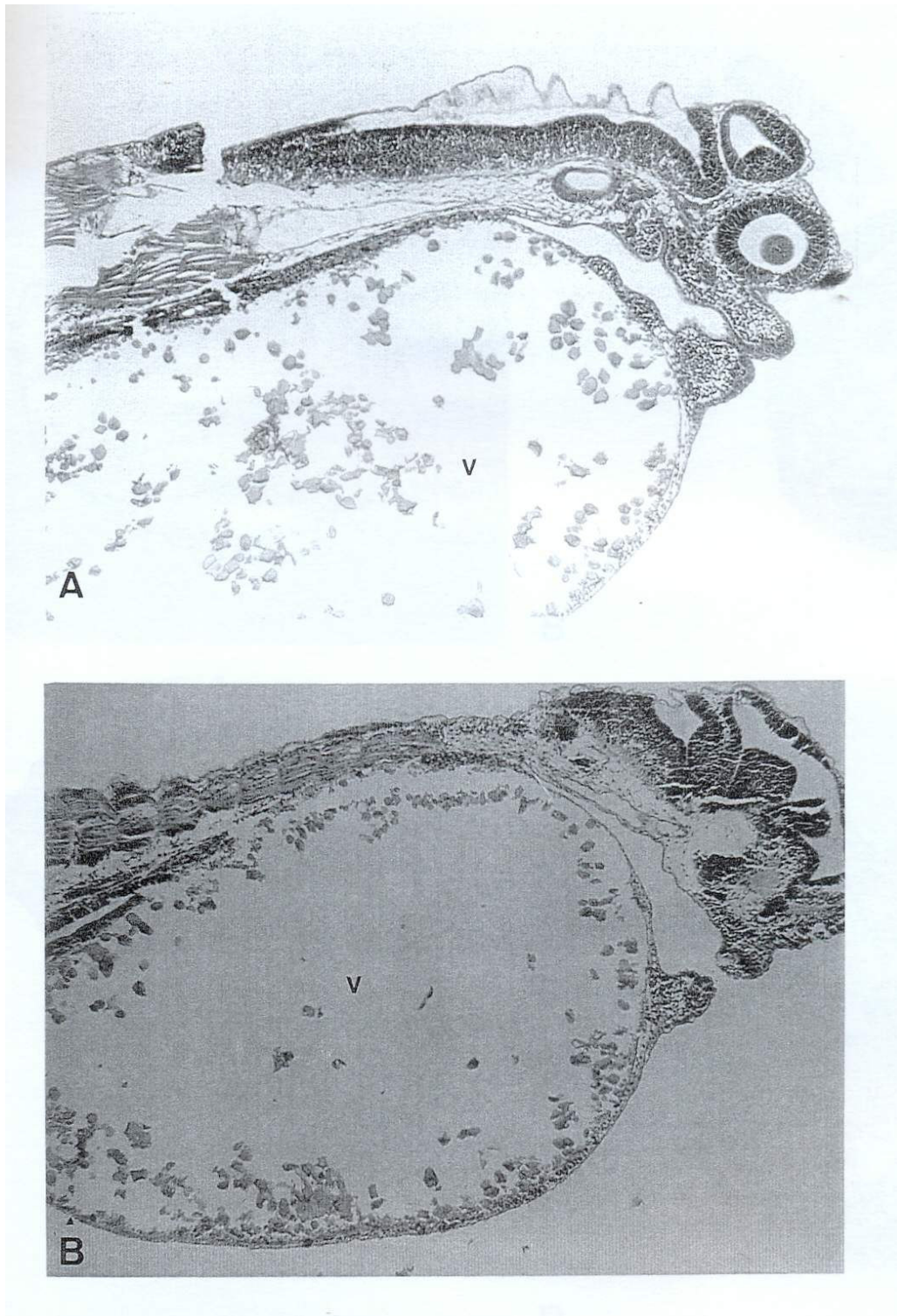


Figura 1. Fotomicrografias de cortes sagitais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A - 6 horas após a eclosão (0,10ppm) e B - 18 horas após a eclosão (0,01ppm). V (saco vitelínico). HE. Objetiva 10x.

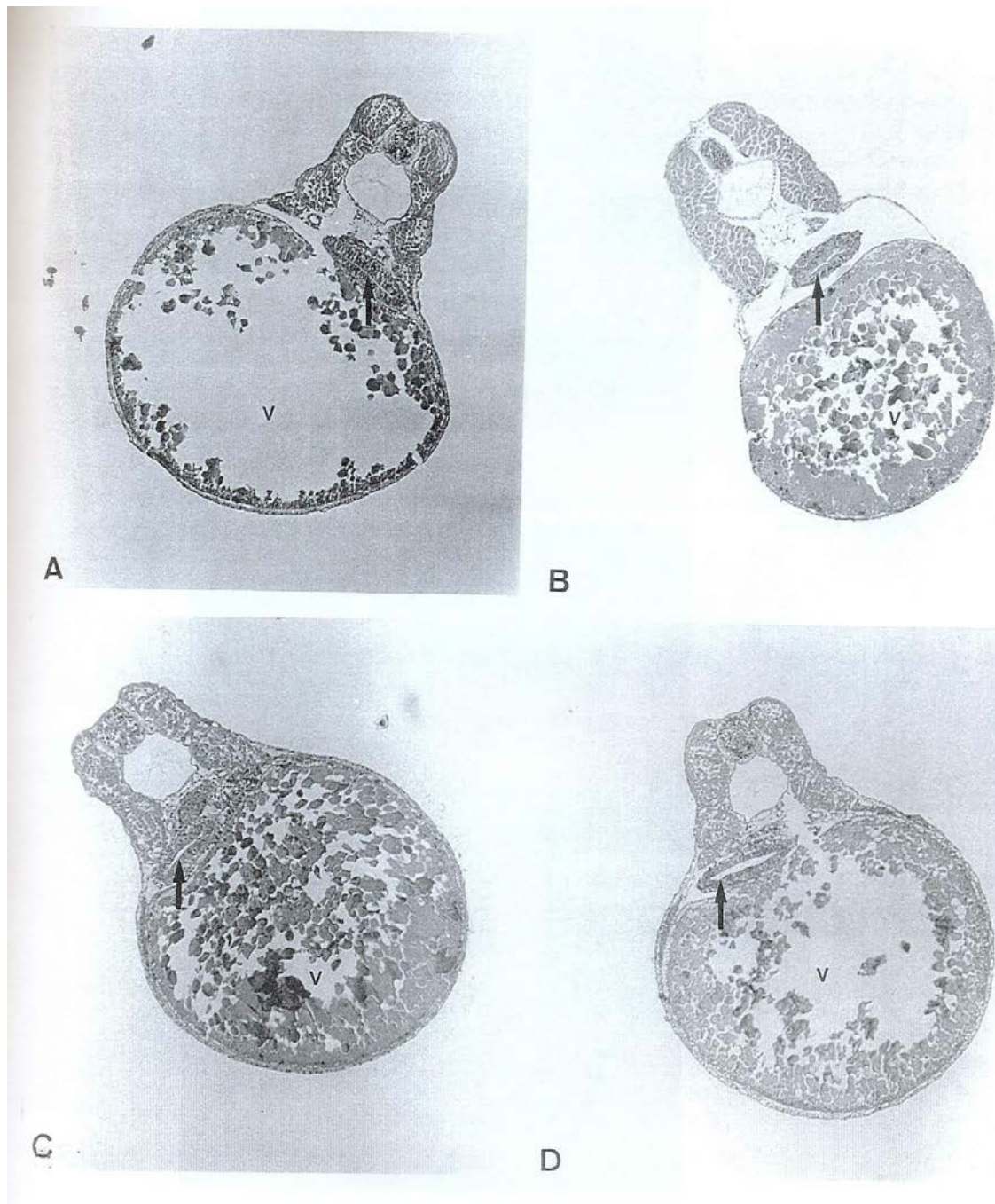


Figura 2. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 18 horas após a eclosão. A- 0,00ppm; B- 0,01ppm; C- 0,05ppm e D- 0,10ppm. Tubo digestório (seta). HE. Objetiva 10x.

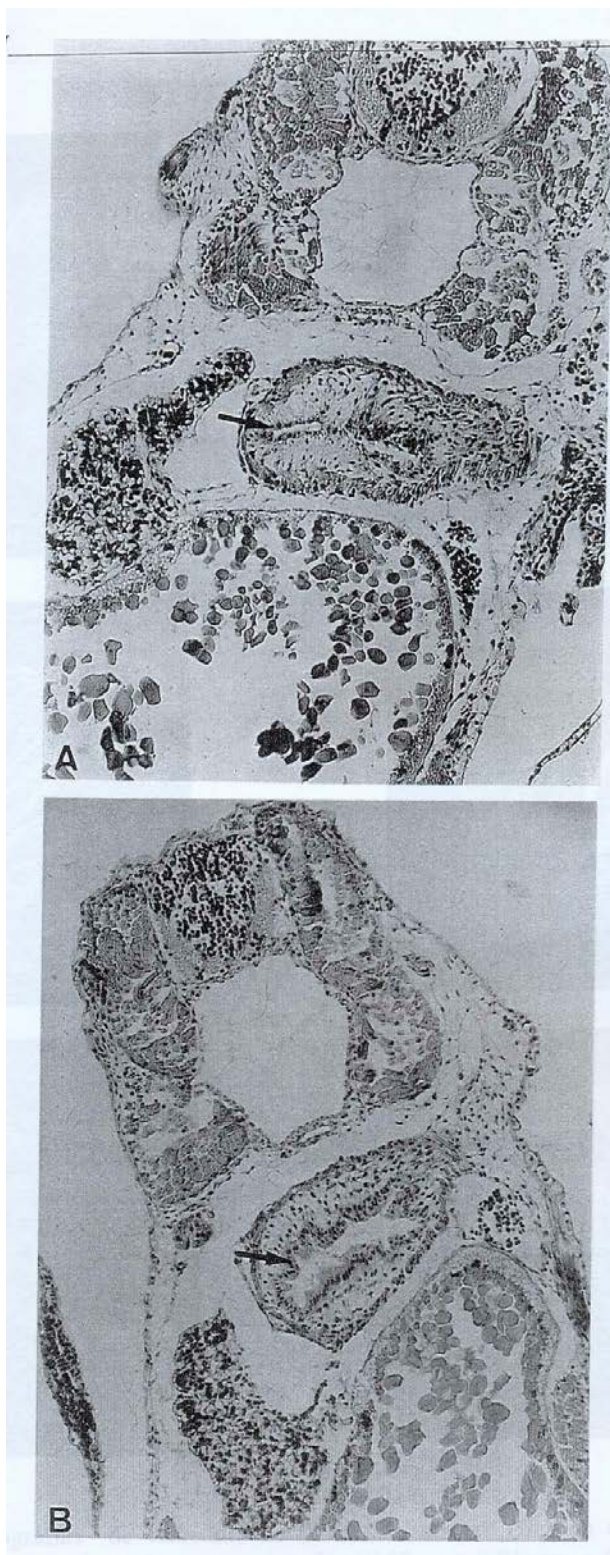


Figura 3. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 30 horas após a eclosão. A- 0,00ppm e B- 0,05ppm. Camada mucosa do estômago (seta) HE. Objetiva 20x.

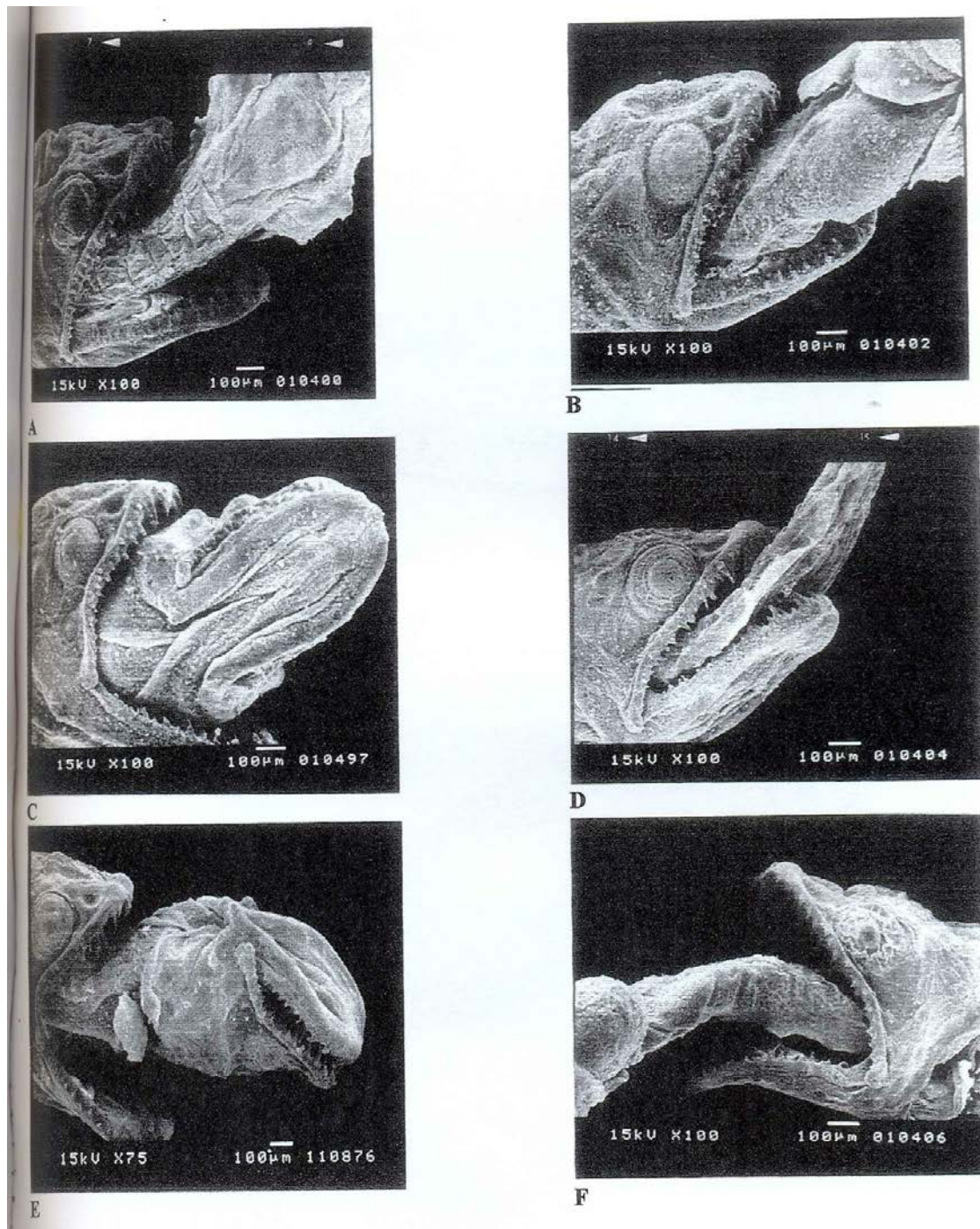


Figura 4. Elétron-micrografias de varredura de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 42 horas após a eclosão. A, B e C - Ataque no sentido postero-anterior (0,00ppm, 0,01ppm e 0,05ppm). D - Ataque no sentido antero-posterior (0,10ppm). E e F - Larvas mal formadas (predadas) com 54 horas após a eclosão (0,10ppm).

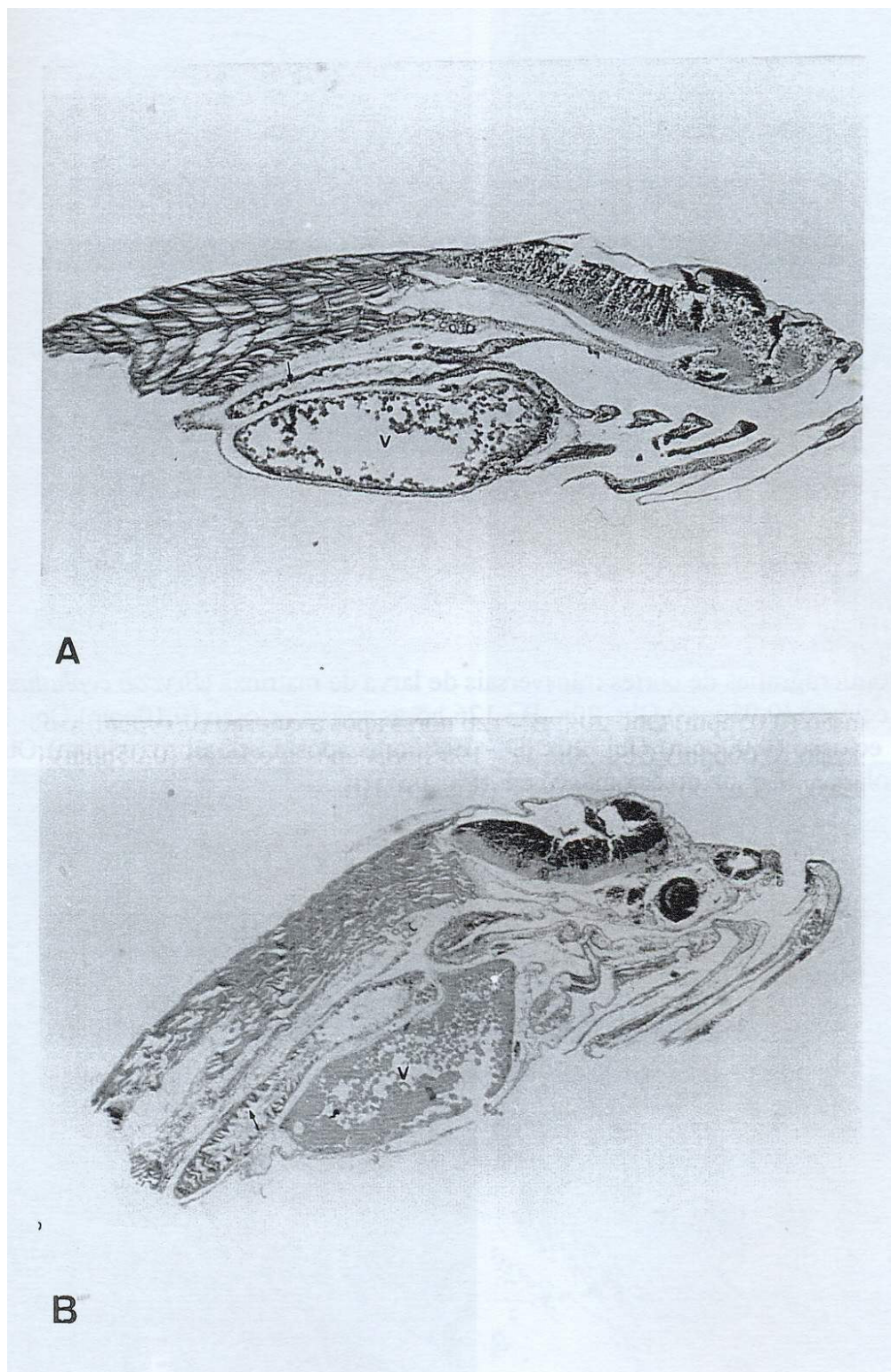


Figura 5. Fotomicrografias de cortes sagitais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 54 horas após a eclosão. A - 0,01ppm e B - 0,05ppm. Saco vitelínico (V). Vilosidades (seta). HE. Objetiva 5x.



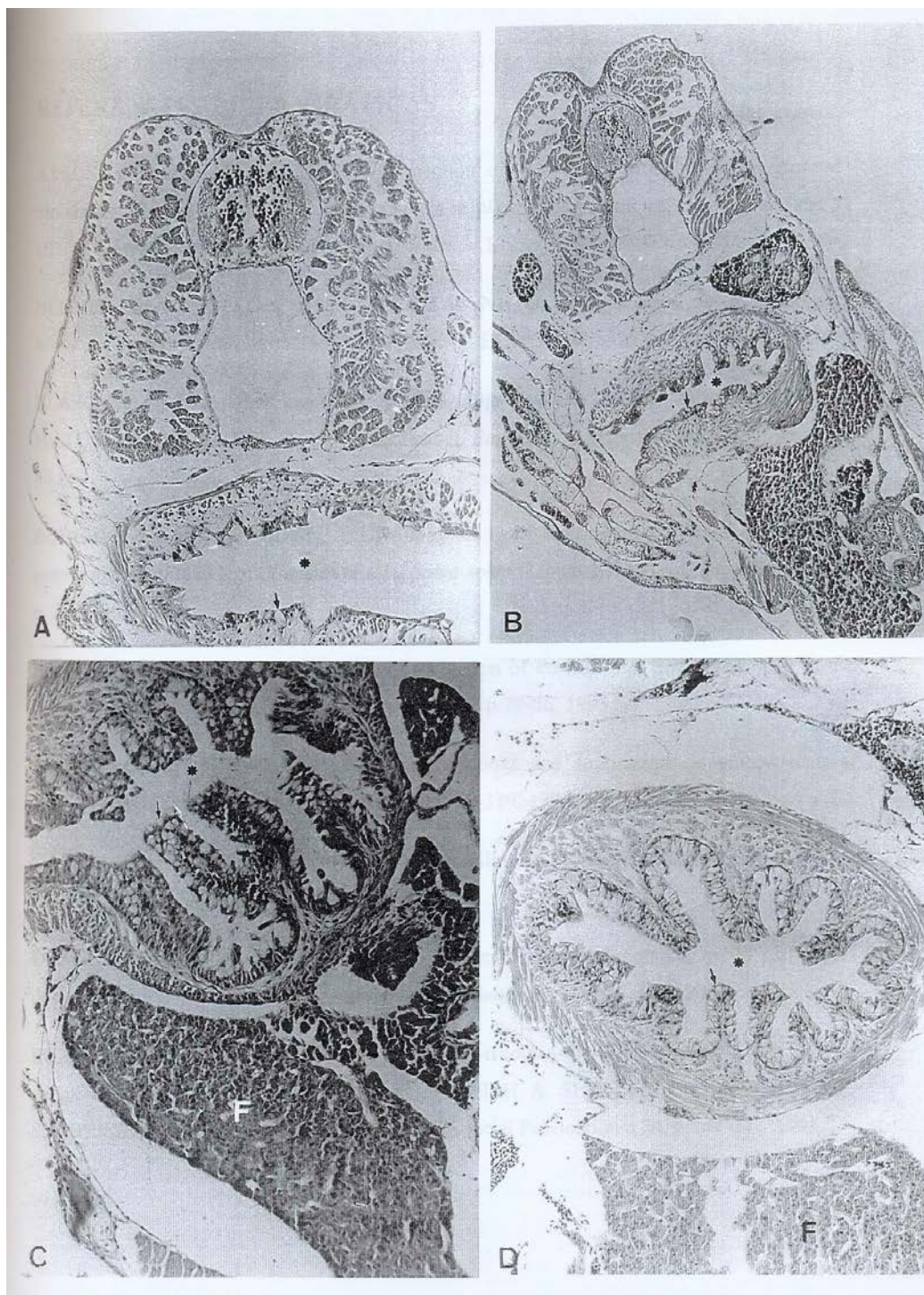


Figura 6. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A - 54 horas após a eclosão (0,05ppm) Obj. 20x. B - 126 horas após a eclosão (0,10ppm) Obj. 10x. C - 198 horas após a eclosão (0,00ppm) Obj. 20x. D - 198 horas após a eclosão (0,05ppm) Obj. 20x. Seta (células vacuoladas), \* (Luz do estômago) e F (Fígado). HE.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYSON, F.G. & LAM, T.J. Thyroxin injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: change in thyroid hormones levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture*, v.109, p.83-93, 1993.

BEHMER, O.A., FOLDOSA, E.M.C., FREITAS NETO, A.G. *Manual de técnicas para histologia normal e patologia*. São Paulo: EDART, EDUSP, 1976, 248 p.

BLAZQUEZ, F.J.H.. Histologia do Sistema Digestivo de peixes. In: SEMANA DE HISTOLOGIA DE PEIXES, 2, 1995, Jaboticabal. *Resumos...* Jaboticabal: FCAV, 1995. p.73-80.

BOULHIC, M. & GABAUDAN, J. Histology study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758). *Aquaculture*, v. 102, p. 373-396, 1992.

BROWN, C.L. & KIM, B.G. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. *Aquaculture*, v.135, p.79-86, 1995.

BROWN, C.L. & NUÑEZ, J.M. Hormones. Actions and applications in embryogenesis. *Perspectives in Comparative Endocrinology*, p.333-339, 1994.

CACECI, T. et al. The stomach of *Oreochromis niloticus* has three regions. *Journal of Fish Biology*, v. 50, n.5, p.939-952, 1997.

DEANE, E.E. & WOO, N.Y.S. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. *Life Science*, v. 9153, p. 1-14, 2002.

DEMSKA-ZAKES, K. et al. The use of 3',5',3',-triiodo-l-thyronine as larvae fish growth stimulator: histological study. In LARVI'95 - FISH & SHELLFISH LARVICULTURE SYMPOSIUM., European Aquaculture Society Special Publication n.24, p.244-247, 1995.

- HAMLIN, H.J.; HERBING, I.H; KLING, L.J. Histological and morphological evaluations of digestive tract and associated organs of haddock throughout post-hatching ontogeny. *Journal of Fish Biology*, v. 57, n.3, p.716-732, 2000.
- HOWES, G.J. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bulletin of the British Museum of Natural History and Zoology*, v. 43(1), p.1-47, 1982.
- HUANG, L. et al., Metamorphosis of summer flounder (*Paralichthys dentatus*): Thyroid status and the timing of gastric gland formation. *Journal of Experimental Zoology*, v.280, p.413-420, 1998.
- HUTCHISON, M.J. & IWATA, M. Effect of thyroxin on the decrease of aggressive behavior of four salmonids during the parr-smolt transformation. *Aquaculture*, v.168, p.169-175, 1998.
- INUI, Y.; YAMANO, K.; MIWA, S. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. *Aquaculture*, v. 135, p. 87-98, 1995.
- LAM, T.J. & SHARMA, R. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Ciprinus carpio*. *Aquaculture*, v.44, p.201-212, 1985.
- LAM, T.J. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon mossambicus* ruppell. *Aquaculture*, v.21, p.287-291, 1980.
- LAM, T.J.; JUARIO, J.V.; BANNO, J. Effect of thyroxine on growth and development in post-yolk-sac of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, v. 46, p. 179-184, 1985.
- LIU, Y-W; CHAN, W-K. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation*, v.70, p.36-45, 2002.
- LUIZI, F. S. et al. Further description of the development of the digestive organs in atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) larvae, with notes on differential absorption of copepod and *Artemia* prey. *Aquaculture*, v.176, p.101-116, 1999.
- MENDONÇA, J. O. J. O gênero *Brycon*. *Panorama da Aqüicultura*, Rio de Janeiro, v.6, n.33, p.14, 1996.
- MIWA, S.; YAMANO, K. INUI, Y. Thyroid hormones stimulates gastric development in flounder during metamorphosis. *Journal of Experimental Zoology*, v.261, p.424-430, 1992.

- MOON, H.Y.; MACKENZIE, D.S.; GATLIN, D.G. Effects of dietary thyroid hormones on the red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v.12, n.5, p.369-380, 1994.
- NACARIO, J. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (tilapia nilotica). *Aquaculture*, v.34, p.73-83, 1983.
- NAYAK, P.K.; MISHRA, T.K.; MISHRA, J. Combined application of cortisol and thyroxine in the culture of larvae of freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, v.15, p.323-328, 2000.
- PAVLOV, D.S. et al. Hormonal mechanisms of the downstream migration of larvae of roach *Rutilus rutilus*. *Journal of Ichthyology*, v.38, n.3, p. 262-271, 1998.
- POWER, D.M. et al. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, v. 130, p. 447-459, 2001.
- REDDY, P. K. & LAM, T.J. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, v.107, p.383-394, 1992.
- ROJAS-GARCIA, C. R. & RONNESTAD, I. Cholecystokinin and tryptic activity in the gut and body of developing Atlantic halibut larvae: evidence for participation in the regulation of protein digestion. *Journal of Fish Biology*, v.61, p. 973-986, 2002.
- SARASQUETE, M.C.; POLO, A.; YÚFERA, M. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, v.130, p.79-92, 1995.
- SCORVO-FILHO, J.D. et al. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Informações Econômicas* v. 28, p. 41-60, 1998.
- SEIXAS FILHO, J. T. et al. Anatomia funcional e morfometria do intestino no teleostei (Pisces) de água doce surubim (*Pseudoplatystoma coruscans* - Agassiz, 1829). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6, 2001.

SENHORINI, J.A.; MANTELATTO, F.L.M.; CASANOVA, S.M.C. Growth and survival of larvae of Amazon species "matrinxã", *Brycon cephalus* (PISCES, CHARACIDAE), in larviculture ponds. *Boletim Técnico do CEPTA*, v.11, p.13-28, 1998.

SPECKER, J.L. & BENGTON, D. A. Development and regulation of intestinal function in larval teleost fishes. In *Larvi'95 - Fish & Shellfish Larviculture Symposium*, European Aquaculture Society Special Publication n.24, p.92, 1995.

TANAKA, M. Functional development of the endocrine system during early ontogeny of marine teleost fishes. *Larvi'91-Fish & Crustacean Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society Special Publication, v.15, p.199-200,1991.

VARGHESE, S. & OOMMEN, V.O. Thyroid hormones regulate lipid metabolism in a teleost *Anabas testudineus* (Bloch). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, v.124, p.445-450, 1999.

WALFORD, J. & LAM, T.J. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. *Aquaculture*, v.109, p.187-205, 1993.

WEATHERLEY, A.H. e GILL, H.S. Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, v. 18, p. 195-208, 1981.

WERDER, U.; SAINT PAUL, U. Feeding trials with herbivorous and omnivorous Amazonian fishes. *Aquaculture*, v. 15, p. 175-177, 1978.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão*. Tradução Vera Lucia Mixtro Chama. Brasília: FAO/CODECAS/CNPq, 1983. 220p.

***ARTIGO CIENTÍFICO IV***

**INFLUÊNCIA DA TRIIODOTIRONINA NO  
INÍCIO DO DESENVOLVIMENTO E  
CRESCIMENTO DE MATRINXÃ (*Brycon  
cephalus*)**

## **RESUMO**

Este estudo avaliou a influência da triiodotironina ( $T_3$ ) no início do desenvolvimento e crescimento de matrinxã (*Brycon cephalus*) e foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, e Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal, SP. Ovócitos fertilizados foram expostos por 15 minutos a soluções de triiodotironina nas concentrações de 0,00; 0,01; 0,05 e 0,10ppm. As amostragens ocorreram 6; 18; 30; 42; 54; 126; 198; 270 e 342 horas após a eclosão das larvas. Observou-se que a hidratação dos ovos com triiodotironina não afetou significativamente o número de larvas viáveis e larvas mortas, embora pequeno aumento no número de larvas com anormalidade tenha sido registrado no grupo proveniente de ovos tratados com 0,01ppm de  $T_3$ . Às 54 horas, as larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10ppm de  $T_3$  não mais apresentavam o saco vitelínico, e nas larvas dos demais tratamentos este fato foi verificado 126 horas após a eclosão. Entre 198 e 270 horas, o grupo controle apresentou valores de peso significativamente menores e, às 342 horas, os maiores pesos foram encontrados nas larvas oriundas de ovos hidratados com 0,01 e 0,05ppm de  $T_3$ . A partir das 198 horas, o comprimento das larvas controle era menor que das experimentais, especialmente no grupo submetido a 0,05ppm de  $T_3$ . A taxa de crescimento específico confirmou o efeito mais pronunciado do tratamento dos ovos com 0,05ppm de  $T_3$ . A partir de 30 horas de incubação, quando se instalou o canibalismo, a maior taxa de crescimento foi registrada nas larvas provenientes de ovos hidratados com 0,05ppm de  $T_3$ , seguido das de 0,01 e 0,10ppm. Os resultados sugerem efeito da triiodotironina na aceleração da absorção do saco vitelínico e crescimento em peso e comprimento das larvas

## INTRODUÇÃO

Os peixes do gênero *Brycon* têm sido utilizados intensamente nas criações experimentais e comerciais. São espécies de grande valor econômico que se distribuem pelas principais bacias hidrográficas brasileiras (Mendonça, 1996). O matrinxã (*Brycon cephalus*), da Bacia Amazônica (Howes, 1982), é considerado como uma das mais promissoras devido ao seu rápido crescimento, sua rusticidade, hábito alimentar onívoro e boa aceitação no mercado (Bernardino et al., 1993; Melo & Pereira, 1999).

Apesar dessas qualidades, sua criação em sistemas controlados ainda apresenta dificuldade devido à sua baixa sobrevivência na fase larval (Ceccarelli, 1997).

O início do desenvolvimento dos peixes, assim como de todos os vertebrados, inclui uma série de períodos críticos, durante os quais acontece a diferenciação dos sistemas e órgãos (Brown & Nuñez, 1994). Os hormônios tireoidianos podem estimular vários aspectos da embriogênese durante estas fases críticas, por apresentarem profunda influência no crescimento e maturação de muitos tecidos (Moon et al., 1994) e no crescimento corporal (Weatherley & Gill, 1981).

As funções básicas do sistema endócrino dos peixes ocorrem ao final da fase de desenvolvimento embrionário e desempenham um importante papel no desenvolvimento e crescimento das larvas (Tanaka, 1991). Os processos anabólicos, por meio dos quais os nutrientes absorvidos são convertidos nos tecidos durante o metabolismo, são regulados por hormônios, incluindo-se os tireoidianos, que estão entre os principais fatores que ajudam a promover o crescimento, associados a fatores genéticos e nutricionais (Weatherley & Gill, 1981). Entretanto, ainda não está claro se o seu efeito promotor de crescimento é uma consequência de sua ação direta ou se eles potencializam a atividade anabólica de outros hormônios, especialmente o hormônio de crescimento (agindo sinergicamente ou com efeito



permissivo), ou exercem alguma influência mais generalizada no metabolismo (Plisetskaya et al., 1983).

A administração de hormônios tireoidianos provocou resultados positivos na taxa de crescimento, sobrevivência e absorção do vitelo em algumas espécies de peixes (*Morone saxatilis*, Brown et al., 1988; *Sarotherodon niloticus* L., Nacario, 1983; *Cyprinus carpio*, Lam & Sharma, 1985; *Carassius auratus*, Reddy & Lam, 1992; *Siganus guttatus*, Ayson & Lam, 1993; *Salmo trutta*, Mylonas et al., 1994; *Coregonus albula*, Mamcarz et al. 1995; *Acipenser fulvescens*, Plohman et al., 2002), apesar de doses mais altas terem causado anormalidades em *Sarotherodon niloticus* (Nacario, 1983), *Carassius auratus* (Reddy & Lam, 1992) e *Morone saxatilis* (Huang et al., 1996).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento e o crescimento de matrinxã (*Brycon cephalus*) após a exposição dos ovos à triiodotironina, através da determinação da taxa de eclosão, absorção do saco vitelínico e crescimento das larvas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga – SP. Foram utilizadas 4 fêmeas de matrinxã que foram induzidas à reprodução, segundo Woynarovich & Horvath (1983). Os ovócitos obtidos de cada fêmea foram fertilizados e divididos em 4 partes iguais (aproximadamente 20.000 ovos/parte), sendo cada parte hidratada com 500ml de soluções de triiodotironina (0,00ppm, 0,01ppm, 0,05ppm e 0,10ppm), por 15 minutos. Em seguida, os ovos foram transferidos e mantidos em incubadoras, com água em fluxo contínuo por 54 horas após a eclosão das larvas (Figura 1A). Posteriormente, as larvas foram mantidas em aquários de 20 L (Figura 1B), na densidade de 10 larvas/L. As amostragens foram realizadas 6, 18, 30, 42, 54, 126 e 198 horas após a eclosão.

A área ( $\text{mm}^2$ ) do saco vitelínico foi calculada através de medidas de cortes médios transversais de cada larva, realizadas em analisador de imagem Videoplan Kontron Elektronik, Zeiss. Para definir o corte médio, utilizou-se o comprimento total das larvas como referência.

No início do período de eclosão, foram realizados os procedimentos para se obter o cálculo da taxa de eclosão. Para isso, foram retiradas quatro amostras, de aproximadamente 200 ovos, de cada incubadora, para contagem do número de ovos e sua classificação quanto à qualidade. Os resultados foram transformados pela expressão  $y = \arcsen.\sqrt{x/100}$ , onde x foi expresso em porcentagem. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Para a observação do canibalismo, as amostragens foram realizadas 6, 18, 30, 33, 36, 39, 42, 54, 126 e 198 horas após a eclosão, sendo que a porcentagem de ataques era calculada no total de larvas coletadas.

As larvas foram pesadas em balança analítica e para aferição do comprimento foi utilizado estereomicroscópio com o auxílio de uma ocular micrométrica. Os valores de peso e comprimento foram calculados a partir do valor médio de 10 larvas de cada repetição/tratamento. Os dados obtidos foram analisados em parcelas subdivididas com quatro tratamentos primários (doses de T<sub>3</sub>), nove tratamentos secundários (períodos de amostragem) e quatro repetições (aquários) distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

A taxa de crescimento específico (%/dia) foi calculada através da equação:

$$SGR = \left( \frac{\ln \text{PesoFinal} - \ln \text{PesoInicial}}{\text{VariaçãoTempo}} \right) \times 100, \text{ os resultados tratados em delineamento}$$

inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Durante o experimento, registrou-se temperatura (25°C a 27°C), pH (6,8 a 7,8), oxigênio dissolvido (5,7 a 7,8 mg/L), alcalinidade (8,3 a 8,7mg/L) e amônia total (0,13 a 0,33ml/L).

## RESULTADOS

Pela taxa de eclosão, observou-se que a imersão dos ovos em triiodotironina não afetou o número de larvas viáveis e larvas mortas ( $P>0,05$ ), embora valor levemente maior tenha sido registrado nas larvas do grupo de 0,05ppm de  $T_3$ . Os ovos expostos à dose de 0,01ppm produziram maior número de larvas com anormalidades (Tabela 1).

Verificou-se que, aproximadamente 33 horas após a eclosão, independente da dose utilizada, as larvas apresentaram canibalismo. Cinquenta e quatro horas após a eclosão, apenas as larvas provenientes de ovos expostos a 0,05ppm de  $T_3$  não apresentavam mais evidência de ataques. O mesmo ocorreu, às 126 horas, com larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10 ppm de  $T_3$ , e, às 196 horas, em larvas do tratamento controle e 0,01 ppm de hormônio.

Através da análise morfométrica da área do saco vitelínico, verificou-se que, 54 horas após a eclosão, as larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10ppm de  $T_3$  não apresentavam mais esta estrutura, e nas larvas dos demais tratamentos este fato foi verificado às 126 horas (Tabela 2).

Até 126 horas após a eclosão, os valores de peso e comprimento não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. A partir de 198 horas após a eclosão, o peso das larvas controle sempre foi menor que das larvas provenientes de ovos expostos a  $T_3$ , sendo que, às 324 horas, essa diferença se sobressaiu nos grupos de 0,01 e 0,05ppm. Às 198 horas, o comprimento das larvas controle era menor que das larvas experimentais, embora sem diferença estatística; às 270 horas essa diferença se acentuou, o que pode ser visto mais nitidamente às 342 horas, especialmente no grupo exposto a 0,05ppm de  $T_3$  (Tabela 3 e Figuras 2A, 2B, 2C e 2D).

A taxa de crescimento específico (Tabela 4) mostrou que, do início ao final do período experimental (de 6 a 342h), a maior taxa, apesar de não diferenciar estatisticamente, foi encontrada entre as larvas provenientes de ovos expostos a 0,05ppm de T<sub>3</sub>. Ao analisar-se a taxa partir do momento em que se iniciou o canibalismo (30h) até o final do período experimental (342h), fica ainda mais evidente que a concentração de 0,05ppm apresentou o melhor resultado, seguidas pelas de 0,01ppm e 0,10ppm de T<sub>3</sub>.

## DISCUSSÃO

Uma das estratégias experimentais que tem sido utilizada em estudos para avaliar o efeito de hormônios tireoidianos no início do desenvolvimento de peixes é a imersão das larvas em diferentes concentrações destes hormônios (Reddy & Lam, 1992 e Huang et al., 1996). Outra forma é a administração do hormônio na mãe momentos antes da desova, de modo que possa haver transferência materna (Mylonas et al, 1994). Resultados satisfatórios têm sido encontrados, embora algumas espécies não respondam de forma positiva, o que provavelmente pode estar relacionado com a concentração do hormônio utilizada, o momento e a via de aplicação. O presente estudo utilizou o método de exposição de ovos à triiodotironina durante a etapa de hidratação que segue a fertilização dos mesmos, quando as diferentes soluções de hormônio eram utilizadas. O mesmo método foi utilizado por Stratholt et al. (1997), Stickney & Liu (1999) e Andrade e Urbinati (2002) para administração de cortisol e hormônio tireoidiano a ovos de peixes.

Os efeitos do hormônio triiodotironina ( $T_3$ ) foram verificados mais claramente na absorção do saco vitelínico e crescimento das larvas. Ao se analisar a qualidade das larvas no momento da eclosão, um maior número de larvas viáveis, apesar de não ser estatisticamente significativo, foi encontrado no tratamento em que os ovos foram expostos a 0,05ppm de  $T_3$  e o número de larvas com anormalidades no tratamento de 0,01ppm de  $T_3$  foi pequeno (em torno de 2% a mais que nos demais). Os hormônios tireoidianos, mais particularmente a triiodotironina, desempenham um papel significativo na embriogênese, na morfogênese, no crescimento, na taxa de eclosão e na sobrevivência de peixes (Hey et al., 1996). Lambert (1999), analisando o efeito dos hormônios tireoidianos associados com hormônios esteróides, em fêmeas de *I. punctatus*, não observou alteração na eclosão, assim como Stickney & Liu

(1999) não observaram efeito na eclosão de ovos de *Hippoglossus stenolepis* imersos em hormônios tireoidianos. Em fêmeas de *Salmo trutta* que receberam triiodotironina de forma injetável não se verificou efeito na taxa de fertilização, na taxa de eclosão e na sobrevivência e crescimento das larvas, que apresentaram anormalidades associadas à formação do esqueleto ao final do período de absorção do vitelo (Mylonas et al., 1994). Apesar de relatar efeitos benéficos dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento de *Sarotherodon niloticus*, Nacario (1983) encontrou má formação nas nadadeiras peitorais, casos de lordose e de escoliose nas larvas. No presente trabalho, não se registrou evidentes diferenças na taxa de eclosão e no número de larvas com anormalidades (exceto no tratamento de 0,01ppm de T<sub>3</sub>), mas a absorção do saco vitelínico foi acelerada pela presença do hormônio. Para Power et al. (2001), tratamento com triiodotironina pode provocar alterações no crescimento e no desenvolvimento de peixes, mas por outro lado pode induzir má formação óssea.

Cinquenta e quatro horas após a eclosão, o vitelo foi totalmente consumido pelas larvas oriundas de ovos expostos a 0,10ppm de T<sub>3</sub>, enquanto que naquelas da concentração 0,05ppm restava apenas 7% a ser consumido e nas da concentração 0,01ppm e do grupo controle 11 e 15%, respectivamente, sugerindo que a triiodotironina acelerou o desenvolvimento de matrinxã. A absorção mais rápida do vitelo também foi verificada em larvas de *Sarotherodon niloticus* imersas em tiroxina (Nacario, 1983) e em larvas de fêmeas de *Siganus guttatus* que a receberam de forma injetável (Ayson & Lam, 1993).

Com aproximadamente 33 horas após a eclosão, independente da dose utilizada, as larvas apresentaram canibalismo. Este momento é classificado como período crítico para esta espécie, devido a redução na taxa de sobrevivência provocada por este comportamento (Senhorini et al., 1998). Cinquenta e quatro horas após a eclosão, as larvas provenientes de ovos expostos a 0,05ppm de T<sub>3</sub> não apresentavam mais evidência de ataques, o mesmo ocorrendo às 126 horas nas larvas do tratamento 0,10ppm, enquanto que após 196 horas isto

foi observado em todas as larvas, independente do tratamento, sugerindo que, de alguma forma, nesta espécie, o T<sub>3</sub> diminui o período de canibalismo. Hutchison & Iwata (1998) observaram redução de agressividade ao utilizarem tiroxina na alimentação de *Salmo trutta*, *Oncorhynchus mykiss* e *Oncorhynchus masou*. Hey et al. (1996) observaram que larvas de *Stizostedion vitreum* imersas em T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, nas concentrações de 0,01; 0,05 e 0,10ppm apresentara aumento no canibalismo quando comparadas com as do grupo controle. Hey et al. (1996); Hutchison & Iwata, (1998) e Gavlik et al. (2002) associam comportamento agressivo de algumas espécies de peixes com os níveis circulantes de hormônios tireoidianos. A instalação do comportamento de canibalismo pode interferir no crescimento das larvas, quer seja por aumento de peso dos predadores, que ingerem mais proteína, quer seja por inibição do crescimento dos animais predados que têm menos acesso ao alimento durante a interação social (Trendall, 1991).

Até 128 horas após a eclosão, praticamente não houve diferença no crescimento das larvas entre os tratamentos, mas a partir de 198 horas de cultivo, as maiores larvas (peso e comprimento) foram as que vieram de ovos expostos ao hormônio, especialmente à dose de 0,05ppm. Estas foram as que apresentaram melhores resultados para a taxa de crescimento específico, confirmando os dados de peso e comprimento.

Na literatura, as respostas quanto ao crescimento de larvas tratadas com hormônio tireoidiano são divergentes. Injeção materna de triiodotironina em *Morone saxatilis* (Brown et al., 1988) e em *Siganus guttatus* (Ayson & Lam, 1993), *Salmo trutta* (Mylonas et al., 1994) promoveu o crescimento e desenvolvimento das larvas, enquanto Reddy & Lam (1992) encontraram resultados positivos para peso e comprimento em larvas de *Carassius auratus* imersas em T<sub>3</sub> na concentração de 0,01ppm. Já Plohman et al. (2002) observaram melhores taxas de crescimento específico em larvas de *Acipenser fulvescens* alimentadas com uma dieta suplementada com triiodotironina quando comparadas àquelas que tiveram esta dieta, após



algum tempo, substituída por zooplâncton. Resultados semelhantes foram encontrados em larvas de *Coregonus albula* alimentadas com uma dieta suplementada com 1,5ppm de triiodotironina (Mamcarz et al. 1995). Entretanto, Nacario (1983) verificou que 0,3 e 0,5ppm de tiroxina não aumentaram o crescimento de larvas de *Sarotherodon niloticus* quando comparadas com as que receberam 0,10ppm do hormônio e Huang et al. (1996) mostraram que larvas tratadas com concentrações mais altas (50 e 100ng/ml de dimethylsulfoxide) de triiodotironina apresentaram um retardo no crescimento e baixa taxa de sobrevivência quando comparadas com o grupo que recebeu o hormônio na dose mais baixa (25ng/ml). A mesma situação foi verificada por Reddy & Lam (1992) ao analisarem o efeito da tiroxina em larvas de *Carassius auratus*. No matrinxã, a concentração intermediária utilizada (0,05ppm) foi a que mostrou resultados mais evidentes. Uma possibilidade para explicar as divergências encontradas pode estar relacionada às doses utilizadas, espécie, momento da aplicação e via de administração do hormônio (Lam, 1994).

As alterações observadas no crescimento das larvas de matrinxã podem estar relacionadas, também, com o final do canibalismo que, no grupo de 0,05ppm de T<sub>3</sub>, ocorreu às 54 horas, antes dos demais tratamentos e também com desenvolvimento do sistema digestório (ver Artigo científico III desta tese), o que estaria promovendo menos gasto energético por menor interação social e melhor absorção dos nutrientes e, em consequência, um rápido crescimento.

Além do efeito dos hormônios tireoidianos descritos como estimuladores do crescimento e maturação de muitos tecidos (Moon et al., 1994; Liu & Chan, 2002), eles parecem estar envolvido no crescimento corporal.

Os hormônios, incluindo-se os tireoidianos, são importantes fatores de regulação dos processos anabólicos, por meio dos quais os nutrientes absorvidos são convertidos nos tecidos durante o metabolismo. Juntamente com fatores genéticos e nutricionais, eles controlam o

crescimento corporal animal (Weatherley & Gill, 1981). Não obstante, ainda não está claro se o efeito promotor de crescimento dos hormônios tireoidianos é uma consequência de sua ação direta ou se eles potencializam a atividade anabólica de outros hormônios, especialmente o hormônio de crescimento (agindo sinergicamente ou com efeito permissivo), ou se exercem alguma influência mais generalizada no metabolismo (Plisetskaya et al., 1983).

Os dados obtidos neste experimento sugerem que a triiodotironina, especialmente na concentração de 0,05ppm, acelera processos iniciais do desenvolvimento e estimula o crescimento de larvas de matrinxã expostas ao hormônio durante a fase de fertilização dos ovos.

Tabela 1. Taxa de eclosão (%) de larvas provenientes de ovos expostos a triiodotironina (T<sub>3</sub>).

Qualidade das larvas (%)	Triiodotironina (ppm)				C.V. (%)
	0,00	0,01	0,05	0,10	
Viáveis	64,75a	68,81a	72,78a	58,24a	22,22
Mortas	24,40a	19,07a	15,91a	30,38a	60,63
Anormais	5,18b	7,89a	5,28b	5,38b	59,33

Médias seguidas de mesma letra, nas linhas não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05).

C.V.: Coeficiente de variação

Tabela 2. Área do saco vitelínico (mm<sup>2</sup>) de larvas provenientes de ovos expostos a triiodotironina (T<sub>3</sub>).

T3 (ppm)		Tempo de cultivo (horas)				
		6	18	30	42	54
Área do saco vitelínico (mm <sup>2</sup> )	0,00	0,27±0,01 Aa	0,17±0,02 Bb	0,16±0,01 Ab	0,08±0,01 Ac	0,04±0,02 Ad
	0,01	0,28±0,02 Aa	0,26±0,02 Aa	0,18±0,02 Ab	0,09±0,01 Ac	0,03±0,01 Ad
	0,05	0,30±0,02 Aa	0,19±0,01 Bb	0,10±0,02 Bc	0,05±0,01 Bd	0,02±0,01 ABd
	0,10	0,30±0,02 Aa	0,20±0,02 Bb	0,13±0,02Bc	0,04±0,02 Bd	0,00±0,00 Be
c.v. doses: 0,63%		c.v. períodos: 0,69%				

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

± desvio padrão.

Tabela 4. Taxa de crescimento específico (%/dia) de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) provenientes de ovos expostos a triiodotironina (T<sub>3</sub>).

T <sub>3</sub> (ppm)	Intervalo de tempo (horas)	
	6-342 *	30-342 **
0,00	25,31 ± 0,56 a	23,60 ± 0,36 b
0,01	25,99 ± 0,61 a	25,41 ± 0,54 ab
0,05	26,45 ± 0,47 a	25,90 ± 0,36 a
0,10	26,14 ± 0,50 a	24,44 ± 0,79 ab

Médias seguidas de letras iguais nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

± desvio padrão.

\* Período total de observação

\*\* Período de observação, a partir do início do canibalismo

Tabela 3. Peso (PC) e comprimento total (CT) de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) provenientes de ovos hidratados com triiodotironina (T<sub>3</sub>).

	T <sub>3</sub> (ppm)	Tempo de cultivo (horas)								
		6	18	30	42	54	126	198	270	342
PC (mg)	0,00	1,09±0,16 Ac <sup>1</sup>	1,34±0,18 Ac	1,74±0,11 Ac	1,88±0,03 Ac	2,09±0,22 Ac	3,37±0,45 Ac	5,35±1,28 Bc	17,20±3,77 Bb	37,34±3,19 Ca
	0,01	1,19±0,12 Ad	1,32±0,07 Ad	1,66±0,11 Ad	1,90±0,25 Ad	2,38±0,39 Ad	4,29±0,53 Ad	9,60±1,66 Ac	23,70±2,76 Ab	45,20±3,49 Aba
	0,05	1,17±0,17 Ad	1,47±0,11 Ad	1,63±0,11 Ad	1,77±0,09 Ad	2,21±0,10 Ad	3,63±0,48 Ad	10,26± 2,30 Ac	22,61±3,49 Ab	47,19±1,12 Aa
	0,10	1,07±0,13 Ad	1,48±0,14 Ad	1,73±0,03 Ad	1,85±0,10 Ad	2,03±0,13 Ad	3,43±0,52 Ad	10,06±2,35 Ac	22,98±4,22 Ab	41,93± 7,72 Ba
c.v. doses: 30,70%		c.v. períodos: 20,25%								
CT (mm)	0,00	4,24±0,30 Ae	4,91±0,12 Ae	5,58±0,30 Ade	6,29±0,08 Acde	6,64±0,11 Acde	8,04±0,05 Acd	8,86±0,41 Ac	12,40±1,02 Bb	16,14±0,93 Ca
	0,01	4,44±0,05 Ae	4,85±0,28 Ae	5,58±0,07 Ae	6,14±0,08 Ade	6,93±0,52 Ade	8,58±0,74 Acd	10,72±0,67 Ac	14,40±1,66 ABb	19,46±4,83 Ba
	0,05	4,29±0,03 Ae	4,98±0,07 Ae	5,84±0,24 Ade	6,34±0,18 Ade	6,71±0,34 Ade	7,99±0,23 Acd	10,61±0,63 Ac	15,85±1,33 Ab	23,58±2,25 Aa
	0,10	4,31±0,18 Ae	4,90±0,13 Ade	5,76±0,16 Ade	6,11±0,09 Ade	6,73±0,21 Ade	7,71±0,17 Acd	9,88±0,49 Ac	14,17±1,23 ABb	18,47±5,42 BCa
c.v. doses: 21,31%		c.v. períodos: 14,73%								

<sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

± Desvio Padrão



Figura 1. A - Incubadoras utilizadas até 54 horas após a eclosão. B - Aquários utilizados entre 54 a 342 horas de eclosão.

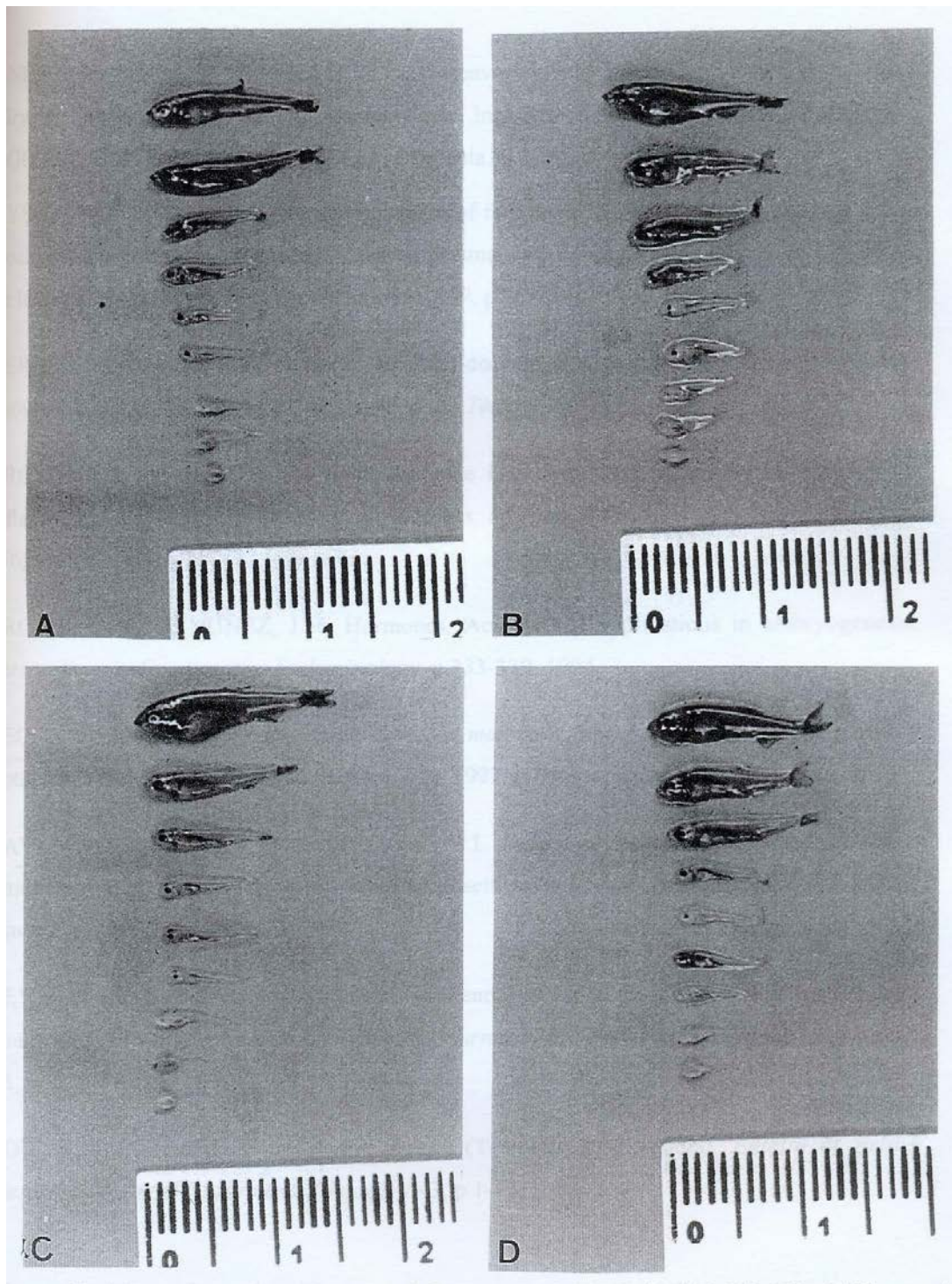


Figura 2. Fotografia de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 6; 18; 30; 42; 54; 126; 198; 270 e 342 horas após a eclosão. A - 0,00ppm; B - 0,01ppm; C - 0,05ppm e D - 0,10ppm.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L.F.M. E URBINATI, E.C. Desenvolvimento inicial de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) sob efeito do cortisol. In: XII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 2002, Goiânia. *Anais ... Goiânia*, p.273, 2002.

AYSON, F.G. & LAM, T.J. Thyroxin injection of female rabbit fish (*Siganus guttatus*) brood stock: change in thyroid hormones levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture*. v.109, p.83-93, 1993.

BERNARDINO, G. et al. Propagação artificial do matrinxã, *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869), (TELEOSTEI, CHARACIDAE). *Boletim Técnico do CEPTA*, v.6, n. 2, p.1-9, 1993.

BROWN, C.L.; et al. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J. Exp. Zool.* 248: 168-176, 1988.

BROWN, C. L. & NUÑEZ, J.M. Hormones. Actions and applications in embryogenesis. *Perspectives in Comparative Endocrinology*, p.333-339, 1994.

CECCARELLI, P.S. *Canibalismo em larvas de matrinxã, Brycon cephalus* (Gunther, 1869). Botucatu. Universidade Estadual Paulista. 92p. 1997. (Dissertação de Mestrado).

GAVLIK, S.; ALBINO, M.; SPECKER, J.L. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. *Aquaculture*, v.203, p.359-373, 2002.

HEY, J. et al. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.27, n.1, p.80-90, 1996.

HOWES, G.J. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Buletin of British Museum of Natural History and Zoology*, v.43, p.1-47, 1982.

HUANG, L.; SPECKER, J.L.; BENGTSON, D.A. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 15:1, p. 57-64, 1996.

HUTCHISON, M.J. & IWATA, M. Effect of thyroxin on the decrease of aggressive behavior of four salmonids during the parr-smolt transformation. *Aquaculture*, v.168, p.169-175, 1998.

INUI, Y.; YAMANO, K.; MIWA, S. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. *Aquaculture*, v.135, p.87-98, 1995.

LAM, T.J., Hormones and egg/larval quality in fish. *Journal of World Aquaculture Society*, v. 25, p. 2-12, 1994.

LAM, T.J. & SHARMA, R. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Ciprinus carpio*. *Aquaculture*, v.44, p.201-212, 1985.

LAMBERT, D.M. et al. Effects of seasonal variations, thyroid and steroid hormones, and carp pituitary extract on the artificial production of channel catfish *Ictalurus punctatus* x blue catfish *I. furcatus* hybrids. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.30, n.1, p.80-90, 1999.

LIU, Y-W; CHAN, W-K. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation*, v.70, p. 36-45, 2002.

MAMCARZ, A.. et al. Effects of 3',5',3',-triiodo-l-thyronine in a dry diet on the and survival of *Coregonus albula* L. larvae in tanks. In LARVI'95- FISH & SHELLFISH LARVICULTURE SYMPOSIUM.,European Aquaculture Society Special Publication n.24, p.248-250, 1995.

MELO, J.S.C. & PEREIRA, J.A. Efeito da densidade de estocagem e da aeração no crescimento de matrinxã (*Brycon cephalus* GÜNTHER, 1869). *Bol. Téc. CEPTA*, v.12, p. 33-38, 1999.

MENDONÇA, J. O. J. O gênero *Brycon*. Panorama da Aqüicultura, Rio de Janeiro, v.6, n.33, p.14, 1996.



MYLONAS, C.C.; SULLIVAN, C.V.; HINSHAW, J.M. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.13, n.6, p.485-493, 1994.

MOON, H. Y.; MACKENZIE, D. S.; GATLIN, D.G. Effects of dietary thyroid hormones on the red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v.12, n.5, p.369-380, 1994.

NACARIO, J. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (tilapia nilotica). *Aquaculture*, v.34, p.73-83, 1983.

PLISETSKAYA, E.; WOO, N.Y.S.; MURAT, J.C. Thyroid hormones in cyclostomes and fish and their role in regulation of intermediary metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.74A, n.2, p.179-187, 1983.

PLOHMAN, J.C.; DICK, T.A.; EALES, G. Thyroid of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens* II. Deiodination properties, distribution, and effects of diet, growth, and a T<sub>3</sub> challenge. *General Comparative Endocrinology*, v. 125, p. 56-66, 2002.

POWER, D.M. et al. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp. Biochem. and Physiology Part C*, v. 130, p. 447-459, 2001.

REDDY, P. K. & LAM, T.J. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, v.107, p.383-394, 1992.

SENHORINI, J.A.; MANTELATTO, F.L.M.; CASANOVA, S.M.C. Growth and survival of larvae of Amazon species "matrinxã", *Brycon cephalus* (PISCES, CHARACIDAE), in larviculture ponds. *B. Téc. CEPTA*, v.11, p.13-28, 1998.

STICKNEY, R. R, & LIU, H.W. Maintenance of broodstock, spawning, and early larval rearing of Pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. *Aquaculture*, v.176, p. 75-86, 1999.

STRATHOLT, M. L.; DONALDSON, E. M.; ROBIN LILEY, N. Stress induced elevation of plasma cortisol in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), is reflected in egg cortisol content, but does not appear to affect early development. *Aquaculture*, v. 158, p.141-153, 1997.

TANAKA, M. Functional development of the endocrine system during early ontogeny of marine teleost fishes. *Larvi'91- Fish & Crustacean Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society Special Publication, v.15, p.199-200,1991.

TRENDALL, J. Reduce your chances of being a victim of cannibalism. *Barramundi Aquaculture*, v. 1, n. 4, p. 1-3, 1991.

WEATHERLEY, A.H. & GILL, H.S. Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, v. 18, p. 195-208, 1981.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão*. FAO/ CODEVASF/ CNPq. 220p, 1983.

***ARTIGO CIENTÍFICO V***

**CANIBALISMO EM LARVAS DE MATRINXÃ  
*Brycon cephalus* APÓS A EXPOSIÇÃO DOS OVOS  
À TRIIODOTIRONINA**

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da exposição dos ovos de matrinxã à triiodotironina, durante a hidratação, no processo de fertilização, sobre o comportamento de canibalismo das larvas. A pesquisa foi desenvolvida no Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal, SP. Os ovócitos fertilizados foram imersos por 15 minutos em soluções de triiodotironina nas concentrações de 0,00; 0,01; 0,05 e 0,10ppm. As amostragens aconteceram às 6, 18, 30, 33, 36, 39, 42, 54, 126 e 198 horas após a eclosão, para verificar a incidência de canibalismo. A descrição estrutural dos tecidos e órgãos foi realizada através das microscopias de luz da eletrônica de varredura. Larvas de todos os tratamentos abriram a boca às 18 horas após eclosão. Foi verificado que o canibalismo, em todos os grupos, teve início aproximadamente 33 horas após a eclosão das larvas e com 54 horas as larvas provenientes de ovos expostos à 0,05ppm de  $T_3$  não apresentavam mais evidências deste comportamento. A análise estrutural mostrou que, às 30 horas, a bexiga natatória das larvas dos tratamentos 0,05ppm e 0,01ppm de  $T_3$  estava parcialmente insuflada, fato verificado nos demais tratamentos às 42 horas. Além disso, ocorreu um desenvolvimento mais acelerado do sistema digestório, principalmente do intestino, em larvas que tiveram seus ovos expostos à 0,10ppm de  $T_3$ . O saco vitelínico desapareceu primeiro (30 horas) nas larvas deste tratamento. Às 54 horas, quando o canibalismo não foi mais verificado nas larvas do tratamento 0,05ppm de  $T_3$ , o grupo apresentou o crescimento mais homogêneo.

Os dados obtidos neste experimento sugerem que a triiodotironina atua na redução do canibalismo entre larvas de matrinxã por promover crescimento mais homogêneo e acelerar a maturação do trato digestório.

## ABSTRACT

The objective of the present experiment was to assess the effect of the exposure of the eggs of matrinxã, *Brycon cephalus*, to triiodothyronine ( $T_3$ ) during the fertilization on the cannibalism behavior of the larvae. The study was carried out at Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, and at the Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP.

Fertilized eggs were exposed to 0.00; 0.01; 0.05 and 0.10ppm  $T_3$  solutions and samplings were carried out at 6, 18, 30, 33, 36, 39, 42, 54, 126 and 198 h after hatching. Tissues and organs were analyzed in light and scanning microscopy. In larvae from all hormone treatment the mouth opened at 18h. Thirty three hs after hatching, cannibalism was registered in larvae from all treatments and at 54 h it had disappeared in larvae from 0.05ppm treatment. Structural analysis showed a more accelerated development of the digestive system, especially intestine, in larvae from 0.10ppm treatment. At 30 h, the swim bladder of the larvae of the treatments 0.05ppm and 0.01ppm  $T_3$  was partially inflated, fact that was verified in the other treatments only at 42 h. Yolk sac disappeared firstly (30 h) in larvae from this treatment. At 54 h, when cannibalism disappeared in larvae from the treatment 0.05ppm, the group presented the more homogeneous growth.

Data from this study suggest that triiodothyronine play a role in the reduction of the cannibalism in larvae of matrinxã by promoting higher capacity to escape, more homogeneous growth and accelerated maturation of the digestive system.

## INTRODUÇÃO

Muito se tem buscado sobre o conhecimento da biologia de espécies oriundas de bacias hidrográficas brasileiras que podem ser usadas com sucesso na piscicultura. Os peixes do gênero *Brycon* são espécies de alto valor econômico (Mendonça, 1996; Senhorini et al., 1998). Entre elas, destaca-se o matrinxã, *Brycon cephalus*, originário da Bacia Amazônica (Howes, 1982), espécie onívora, de crescimento rápido (Werder & Saint Paul, 1978) e de crescente importância entre os peixes cultivados no Brasil. Atualmente, é criado comercialmente em várias regiões do país, incluindo o sudeste, onde é muito utilizado como peixe esportivo (Scorvo-Filho et al., 1998).

O limitado conhecimento sobre a biologia de algumas espécies está intimamente relacionado com a incipiente tecnologia de cultivo. No caso das espécies do gênero *Brycon* e de outras espécies, a baixa sobrevivência, principalmente durante a fase larval (Senhorini et al., 1998; Kovac, 2000; Sokolovskaya & Sokolovskii, 2001), é uma dificuldade que preocupa a produção. As pesquisas com larvicultura de peixes nativos têm abordado dentre outros aspectos, alimentação e nutrição, comportamento, sistemas de cultivo e qualidade da água (Basile Martins et al., 1984; Zaniboni Filho & Barbosa, 1992; Bernardino et al., 1993; Cecarelli, 1997; Pelli et al., 1997; Senhorini, 1999; Portella et al., 2000).

Muitos problemas relacionados ao cultivo de peixes já foram solucionados, mas a larvicultura continua sendo um fator limitante da produção. Uma das razões é a alta taxa de mortalidade provocada pelo comportamento de canibalismo (Basile-Martins, 1984; Baras, 1999; Baras et al., 2000), observado em diversas espécies como pintado, *Pseudoplatystoma coruscans* (Cardoso et al., 1988), jaú, *Paulicea lutkeni* (Zaniboni Filho & Barbosa, 1992), dourado, *Salminus maxillosus* (Zaniboni Filho & Barbosa, 1992) e em espécies do gênero

*Brycon* (Sato et al., 1988; Woynarovich & Sato, 1990; Piovezan, 1994; Cecarelli, 1997; Andrade-Tamelli, 1997). Este comportamento é causa de prejuízo econômico na aquicultura (Smith & Reay, 1991).

Em alguns estudos, condições foram testadas para se estudar o comportamento da agressão intraespecífica e de canibalismo em várias espécies de peixes, incluindo-se intervalos de tempo no fornecimento de alimento, condições no oferecimento de luz, heterogeneidade de tamanho (Hecht & Pienaar, 1991; Folkvord & Ottera, 1993; Greaves & Tuene, 2001; Brannas et al., 2002), consorciação entre outras espécies (Ceccarelli, 1997) e densidade de estocagem (Gomes et al., 2000).

Dados da literatura associam comportamento agressivo de muitas espécies com os hormônios tireoidianos (Hey et al., 1996; Hutchison & Iwata, 1998; Gavlik et al., 2002; Urbinati et al., 2002). Segundo Hey et al. (1996), estes hormônios apresentam efeitos metabólico, estrutural e comportamental nos vertebrados, e embora sejam conhecidos por desempenhar importante papel no desenvolvimento de vertebrados em geral (Raine & Letherland, 1999), suas funções e níveis exigidos para o desenvolvimento de teleósteos ainda são desconhecidos.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da exposição dos ovos de matrinxã à triiodotironina ( $T_3$ ), durante a hidratação, no processo de fertilização, sobre o comportamento de canibalismo das larvas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa em Peixes Tropicais (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, SP, e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal, SP. Foram utilizadas 4 fêmeas de matrinxã que foram induzidas a reprodução segundo técnica de Woynarovich & Horvath (1983). Os ovócitos extrusados de cada fêmea foram fertilizados e divididos em 4 partes iguais (aproximadamente 20.000 ovos/parte), e cada parte foi hidratada com 500ml de soluções de triiodotironina ( $T_3$ ) (0ppm, 0,01ppm, 0,05ppm e 0,10ppm), por 15 minutos. Em seguida, os ovos foram transferidos e mantidos em incubadoras (Figura 1A), com água em fluxo contínuo, por 54 horas após a eclosão. Posteriormente, as larvas foram mantidas em aquários de 20 L (Figura 1B), na densidade de 10 larvas/L. As amostragens foram realizadas 6, 18, 30, 33, 36, 39, 42, 54, 126 e 198 horas após a eclosão. A maior frequência de amostragens, entre 30 e 42 horas, deve-se ao fato de que o canibalismo se instalou neste período. Nestas amostragens, completadas as observações, as larvas eram devolvidas às incubadoras, enquanto que nas outras as larvas eram fixadas para posterior observação e biometria.

Para descrição estrutural dos tecidos e órgãos, as larvas foram fixadas em solução de Karnowsky, por 2 horas, transferidas para tampão cacodilato de sódio e mantidas em geladeira. As amostras foram desidratadas, diafanizadas, embebidas em parafina e seccionadas transversal e sagitalmente na espessura de 5 $\mu$ m. O material foi corado segundo a técnica de hematoxilina de Harris –HE (Behmer et al., 1976). Os cortes histológicos foram analisados por microscópio de luz, com objetivas de 10x e de 40x.



Para a observação ultraestrutural da morfologia externa das larvas e dos ataques de canibalismo, as larvas foram fixadas em solução de Karnovsky (2% paraformaldeído, 2% glutaraldeído, 0,25%  $\text{CaCl}_2$ , pH 7,4) e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 7,4, por 2 horas, a 4°C. Em seguida, foram lavadas no mesmo tampão e desidratadas com passagens em soluções crescentes de álcool absoluto. A secagem foi realizada em secador de ponto crítico, as amostras foram metalizadas e eletronicografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 5410, operado em 15KV.

Os dados de incidência de canibalismo (ataques) foram transformados pela expressão  $y = \arcsen.\sqrt{x/100}$ , onde x foi expresso em porcentagem e analisados em parcelas subdivididas, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

Durante o experimento, registrou-se temperatura (25°C a 27°C), pH (6,8 a 7,8), oxigênio dissolvido (5,7 a 7,8 mg/L), alcalinidade (8,3 a 8,7mg/L) e amônia total (0,13 a 0,33ml/L) da água das incubadoras e aquários.

## RESULTADOS

Na microscopia de luz observou-se, 6 horas após a eclosão, que larvas de todos os tratamentos apresentavam a boca ainda fechada e, às 18 horas, já estava aberta, mas o tubo digestório estava, ainda, parcialmente obliterado sendo que nas larvas do tratamento que recebeu 0,10ppm de  $T_3$ , ele apresentava uma abertura maior (Figuras 2A, 2B, 2C e 2D).

O canibalismo teve início aproximadamente 33 horas após a eclosão das larvas, independente da dose utilizada. Cinquenta e quatro horas após a eclosão, apenas as larvas provenientes de ovos expostos a 0,05ppm de  $T_3$  não apresentavam mais evidência de ataques. O mesmo ocorreu, às 126 horas, com larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10ppm de  $T_3$ , e, às 196 horas, em larvas do tratamento 0,01ppm de hormônio e controle. A incidência de canibalismo sempre foi mais baixa entre larvas do tratamento 0,01 ppm de  $T_3$  (Tabela 1).

Através da microscopia de luz, verificou-se que, 30 horas após a eclosão, a bexiga natatória das larvas dos tratamentos 0,05ppm e 0,10ppm de  $T_3$  apresentava-se parcialmente insuflada, fato verificado nos demais tratamentos somente às 42 horas.

O vitelo das larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10ppm de  $T_3$  havia sido parcialmente consumido às 30 horas (Figuras 3A e 3B) e totalmente às 54 horas, e nas larvas dos demais tratamentos este fato foi verificado 126 horas após a eclosão. Por outro lado, às 30 horas, o intestino era linear em larvas de todos os tratamentos, com vilosidades na camada mucosa. Às 54 horas, a quantidade de vilosidades era relativamente maior nas larvas que tiveram seus ovos expostos a 0,05ppm e 0,10ppm de  $T_3$  que nas dos demais tratamentos (Figuras 4A e 4 B).

Verificou-se, ainda, pela microscopia óptica, que, 30 horas após a eclosão, a retina ocular das larvas de todos os tratamentos apresentava o tecido pigmentar constituído por

cones e bastonetes e que o sistema nervoso central, mais particularmente a medula espinhal, estava totalmente organizado, no que se refere à distribuição das substâncias branca e da cinzenta (Figura 5).

Em todos os tratamentos, 42 horas após eclosão, as larvas apresentavam boca grande em relação à cabeça, dentes cônicos e pontiagudos (Figura 6C), olhos e narinas bem desenvolvidos.

Com relação ao tamanho das larvas, os valores médios de peso e comprimento, até 54 horas após a eclosão, não apresentaram diferença significativa, independente da dose utilizada. Cento e noventa e oito horas após a eclosão, as larvas oriundas de ovos hidratados com as três doses de  $T_3$  apresentaram peso maior que as do grupo controle, enquanto que o comprimento total mostrou perfil semelhante, especialmente nas doses 0,01 e 0,05 ppm de  $T_3$  (Tabela 2). Observa-se, pelo desvio padrão da média de peso, que no grupo de larvas no qual o canibalismo desapareceu primeiro (0,05ppm) o crescimento era mais homogêneo.

Na maioria dos casos de canibalismo, observou-se que as presas eram menores que o predador, em alguns casos do mesmo tamanho ou mal formadas (Figuras 6A e 6B). Em grande parte dos ataques, o predador capturou a presa no sentido postero-anterior (Figuras 7A, 7B e 7C) e, com menor frequência, a captura foi antero-posterior (Figura 7D). No grupo controle e naquele em que os ovos foram hidratados com 0,01ppm de  $T_3$ , observou-se casos em que uma larva mordeu e apreendeu a outra e em seguida foi mordida por uma terceira larva.

Em todos os tratamentos, encontraram-se larvas com lesões no pedúnculo caudal, provavelmente provocadas por situações de apreensão e escape.

## DISCUSSÃO

A fase larval dos *Brycon* tem se mostrado a principal limitante tecnológica para sua criação devido o canibalismo que se inicia 35-36 horas após a eclosão das larvas (Bernardino et al., 1993; Belmont, 1994; Andrade-Talmelli, 1997; Ceccarelli, 1997; Senhorini et al., 1998; Gomes et al., 2000). Elas nadam em sentido vertical, com a bexiga natatória insuflada em apenas 50% de sua capacidade e se transferidas, nesta ocasião, para viveiros, apresentarão baixa sobrevivência (Mendonça, 1996). No presente estudo, em todos os tratamentos, os primeiros ataques foram verificados 33 horas após a eclosão, semelhante ao encontrado para esta espécie e outras do mesmo gênero, pelos autores supracitados, indicando que neste momento as larvas já podem receber alimentação exógena, um importante fator relacionado à sobrevivência.

O canibalismo desapareceu primeiro (54 horas) nas larvas provenientes de ovos tratados com 0,05ppm de T<sub>3</sub>, seguido das oriundas do tratamento com 0,10ppm (126 horas). Este fato pode estar, em parte, associado com a insuflação da bexiga natatória, que teve início 30 e 42 horas após a eclosão das larvas destes tratamentos. Por ser um órgão com função hidrostática, a bexiga facilita a natação nos sentidos horizontal e vertical, possibilitando uma maior capacidade de fuga. Em larvas de *Morone saxatilis*, a injeção materna de triiodotironina causou aumento da insuflação da bexiga natatória (Brown et al., 1988).

As larvas que vieram de ovos expostos a 0,01ppm de T<sub>3</sub> apresentaram, nos períodos amostrados, uma incidência de ataque relativamente mais baixa que nos outros tratamentos, apesar de tal comportamento ter se prolongado até 126 horas após eclosão. É possível que tenha ocorrido redução do comportamento de predação entre as larvas. O declínio da agressividade tem sido relacionado a ação dos hormônios tireoidianos. Hutchison & Iwata

(1998) observaram redução de agressividade ao utilizarem tiroxina na alimentação de *Salmo trutta*, *Oncorhynchus mykiss* e *Oncorhynchus masou*, enquanto Urbinati et al. (2002) observaram redução do canibalismo em larvas de matrinxã produzidos por fêmeas injetadas com T<sub>3</sub>.

Nas larvas provenientes de ovos hidratados com 0,10ppm de T<sub>3</sub>, o vitelo foi totalmente consumido 54 horas após a eclosão. De acordo com Gerking (1994), após a depleção do vitelo, quando as larvas passam a depender somente do alimento exógeno, ocorre um período crítico para a sua sobrevivência. Para algumas espécies de peixes, o início da alimentação exógena acontece antes mesmo que o vitelo tenha sido completamente consumido, mas estas não apresentam, ou é raro, o canibalismo, como é o caso do *Clarias gariepinus* (Hecth & Appelbaum, 1998) e *Heterobranchus longifilis* (Baras, 1999). Segundo Baras et al. (2000), os peixes do gênero *Brycon* representam potenciais modelos de extremo canibalismo, devido ao rápido desenvolvimento e capacidade predatória.

A depleção mais precoce do vitelo em larvas tratadas com hormônio coincidiu com maturação mais acelerada do sistema digestório, podendo estar relacionados com maior capacidade do organismo em aceitar alimentação exógena.

Dezoito horas após a eclosão, o tubo digestório das larvas que receberam 0,10ppm de T<sub>3</sub> mostrava-se mais aberto que o dos demais tratamentos. Trinta horas após a eclosão, o intestino das larvas estava organizado de forma linear com dobras na camada mucosa e as primeiras vilosidades intestinais foram observadas, 54 horas após a eclosão, em todos os tratamentos. Entretanto, Demska-Zakes et al. (1995) não encontraram diferença expressiva no desenvolvimento do sistema digestório em larvas de *Coregonus albula* L. alimentadas com uma dieta suplementada com triiodotironina e alimentadas sem hormônio, enquanto que Brown & Kim (1995) relataram maior desenvolvimento do trato digestório em larvas tratadas com cortisol e moderada melhora na associação com hormônio tireoidiano (T<sub>3</sub>). Em larvas de

*Heteropneustes fossilis* expostas a uma mistura de tetraiodotironina ( $T_4$ ) e cortisol, a reabsorção do saco vitelino e a formação do trato digestório foram aceleradas em relação às não expostas, indicando antecipada da função digestória (Nayak et al., 2000). Um papel pré-adaptativo fundamental dos hormônios tireoidianos na preparação dos tecidos gastrointestinais para o uso de novas fontes de alimento foi proposto por Specker (1988).

Verificou-se, em todos os tratamentos, que as larvas apresentavam olhos bem desenvolvidos, característica de peixes que têm maior facilidade em direcionar visualmente o ataque às suas presas (Ceccarelli, 1997) e a retina apresentava o tecido pigmentar constituído por cones e bastonetes. Hecht & Appelbaum (1998), ao cauterizarem os olhos ou amputarem os barbilhões de larvas de *Clarias gariepinus*, verificaram que a espécie apresentava comportamento agressivo e de canibalismo estimulado muito mais por estímulos tácteis do que visuais. Como o matrinxã não apresenta barbilhões, e tem, no início da alimentação, olhos grandes e pigmentados, deve apresentar maior habilidade de localização da presa em resposta ao estímulo visual. Segundo Ceccarelli (1997), a eficácia do canibalismo em fase precoce, no *Brycon cephalus*, parece possível pela presença nesta fase, além de olhos bem desenvolvidos, de narinas, importantes na percepção da presa, porque possibilitam percebê-la mesmo antes de enxergá-la.

A ocorrência mais longa de canibalismo, neste estudo, foi encontrada nas larvas dos grupos controle e na de dose mais baixa (0,01ppm) de  $T_3$ , embora nas tratadas com hormônio tenha ocorrido em menor intensidade, fato que pode estar relacionado a ação do  $T_3$ . Diferentemente, em larvas de *Stizostedion vitreum*, imersas em diferentes doses de triiodotironina e de tiroxina, ocorreu mais canibalismo do que naquelas não foram expostas aos hormônios (Hey et al., 1996).

Observou-se nas larvas do tratamento 0,05ppm de  $T_3$ , às 54 horas, que o grupo apresentou os pesos mais homogêneos quando o canibalismo desapareceu. Segundo Sakakura

& Tsukamoto (1997), o canibalismo tem início no momento que começa ocorrer variação de tamanho das larvas. Em larvas de *Clarias gariepinus*, a maior incidência deste comportamento foi encontrada nos grupos com grande diferença de tamanho entre os animais (Baras & D'Almeida, 2001), enquanto que, em *Salvelinus alpinus*, o canibalismo foi mais evidente entre animais de tamanho semelhante (Brannas et al., 2002). Entre larvas de *Gadus morhua* L, de mesmo tamanho, este comportamento não foi evidenciado (Folkvord & Ottera, 1993).

Neste estudo verificou-se que, na maioria dos casos, as presas eram menores que os predadores ou, algumas vezes, do mesmo tamanho. Segundo Ceccarelli (1997), apesar das presas maiores serem facilmente detectadas pelos predadores, nas larvas de espécies de pequeno porte a abertura da boca do predador limita o tamanho máximo das presas.

Os tipos de canibalismo encontrados entre larvas de *Brycon cephalus* foram postero-anterior e antero-posterior, acontecendo o primeiro numa frequência maior. Os mesmos tipos foram verificados por Ceccarelli (1997) que estudou este comportamento na espécie, sendo os resultados contrários apenas na frequência dos mesmos. Giri et al. (2002), ao estudarem a sobrevivência e crescimento de *Wallago attu*, verificaram que nesta espécie não existe um tipo de ataque que predomina. Em larvas de *Clarias gariepinus*, sob condições controladas, o tipo postero-anterior de ataque aconteceu no período em que os animais eram menores e que a presa representava 80% do tamanho do predador. Por outro lado, o ataque antero-posterior ocorreu em animais maiores, e a presa correspondia a 44% do tamanho do predador (Hetch & Appelbaum, 1988). Esta preferência foi atribuída ao sucesso da captura, relacionando a proporção de energia gasta na perseguição com a taxa de energia ganha com a captura.

No matrinxã, o tipo de ataque pode estar relacionado à facilidade de ingerir a presa no sentido postero-anterior, uma vez que as presas apresentavam estruturas, como dentes cônicos e pontiagudos, que poderiam ferir o predador e inviabilizar o sucesso da captura.

Ataques que não resultam em morte produzem larvas severamente feridas, que podem crescer e apresentar deformações típicas, como escoliose. Em criação de *Brycon cephalus*, tem sido relatada grande quantidade de alevinos com escoliose, o que está relacionado à agressão intraespecífica, a qual pode estar associada ao aumento de confrontos por deficiência nutricional (Ceccarelli, 1997).

No presente trabalho, observou-se que a triiodotironina atuou na redução do canibalismo, ao mesmo tempo que estimulou o desenvolvimento acelerado de estruturas que capacitaram as larvas para fuga da predação (bexiga natatória), promoveu menor interação social (crescimento homogêneo) e antecipou a atividade alimentar (maturação do sistema digestório e reabsorção do vitelo).

Tabela 1. Incidência de canibalismo em larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) provenientes de ovos hidratados com triiodotironina (T<sub>3</sub>).

	T3 (ppm)	Tempo de cultivo (horas)							
		30	33	36	39	42	54	126	198
Canibalismo	0,00	0,0Ac	12,5Ab	28,7Aa	20,0Aab	22,5Aab	5,0Bc	5,0Ac	0,0Ac
(%)	0,01	0,0Ab	5,0Bb	15,0ABa	5,0Bb	2,5Bb	5,0Bb	5,0Ab	0,0Ab
	0,05	0,0Ab	12,5Aa	15,0ABa	21,2Aa	21,2Aa	0,0Bb	0,0Ab	0,0Ab
	0,10	0,0Ab	17,5Aa	10,0Ba	15,0Aa	12,5Aa	21,2Aa	0,0Ab	0,0Ab
c.v. doses: 81,1%							c.v. períodos: 34,5%		

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).



Tabela 2. Peso corporal e comprimento total de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) provenientes de ovos hidratados com triiodotironina (T<sub>3</sub>)

	T3 ( ppm)	Tempo de cultivo (horas)						
		6	18	30	42	54	126	198
Peso corporal (mg)	0,00	1,09±0,16 Ac	1,33±0,18 Ac	1,74±0,11 Ac	1,88±0,03 Abc	2,09±0,22 Abc	3,37±0,45 Ab	5,35±1,28 Ba
	0,01	1,19±0,12 Ac	1,32±0,07 Ac	1,66±0,11 Ac	1,90±0,25 Ac	2,38±0,39 Ac	4,29±0,53 Ab	9,60±1,66 Aa
	0,05	1,17±0,17 Ac	1,47±0,11 Ac	1,63±0,11 Ac	1,77±0,09 Ac	2,21±0,10 Abc	3,63±0,48 Ab	10,26±2,30 Aa
	0,10	1,07±0,13 Ac	1,48±0,14 Ac	1,73±0,03 Ac	1,85±0,10 Ac	2,03±0,13 Abc	3,43±0,52 Ab	10,06±2,35 Aa
c.v. doses: 33,42%		c.v. períodos: 25,02%						
Comprimento total (mm)	0,00	4,24±0,30 Ae	4,91±0,12 Ad	5,58±0,30 Ad	6,29± 0,08 Ac	6,64±0,11 Ac	8,04±0,05 ABb	8,86±0,41 Ca
	0,01	4,44±0,05 Ae	4,85± 0,28 Ae	5,58± 0,07 Ad	6,14±0,08 Ac	6,93±0,52 Ac	8,58±0,74 Ab	10,72±0,67 Aa
	0,05	4,29±0,03 Af	4,98± 0,07 Ae	5,84± 0,24 Ad	6,34±0,18 Acd	6,71±0,34 Ac	7,99±0,23 ABb	10,61±0,63 Aa
	0,10	4,31±0,18 Ae	4,90± 0,13 Ae	5,76± 0,16 Ad	6,11±0,09 Acd	6,73±0,21 Ac	7,71±0,17 Bb	9,88±0,49 Ba
c.v. doses: 6,74%		c.v. períodos: 4,53%						

<sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

± Desvio Padrão



Figura 1. A- Incubadoras utilizadas até 54 horas após a eclosão. B- Aquários utilizados após 54 horas de eclosão.

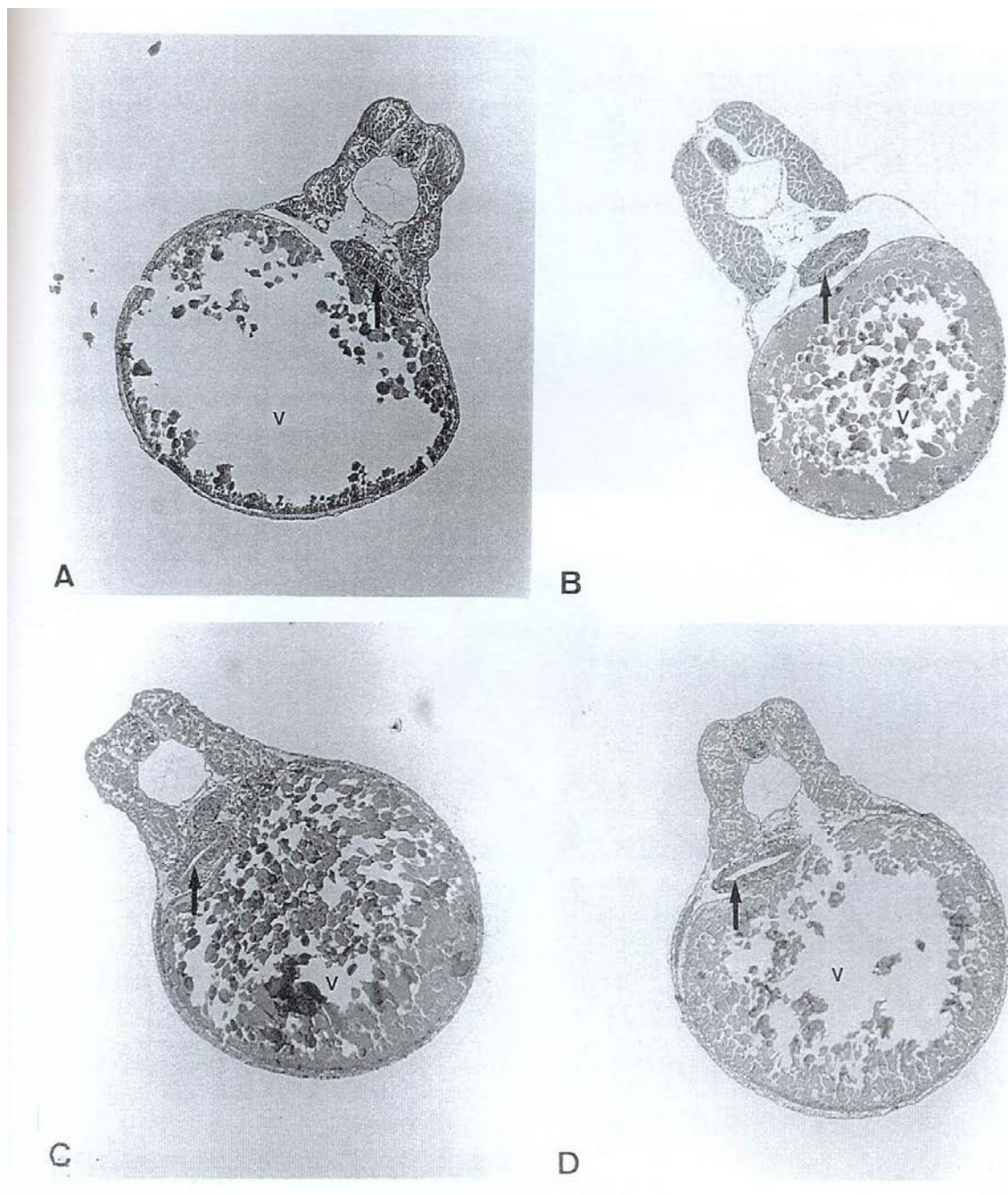


Figura 2. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 18 horas após a eclosão. A- 0,00ppm; B- 0,01ppm; C- 0,05ppm e D- 0,10ppm. Tubo digestório (seta). HE. Objetiva 10x.

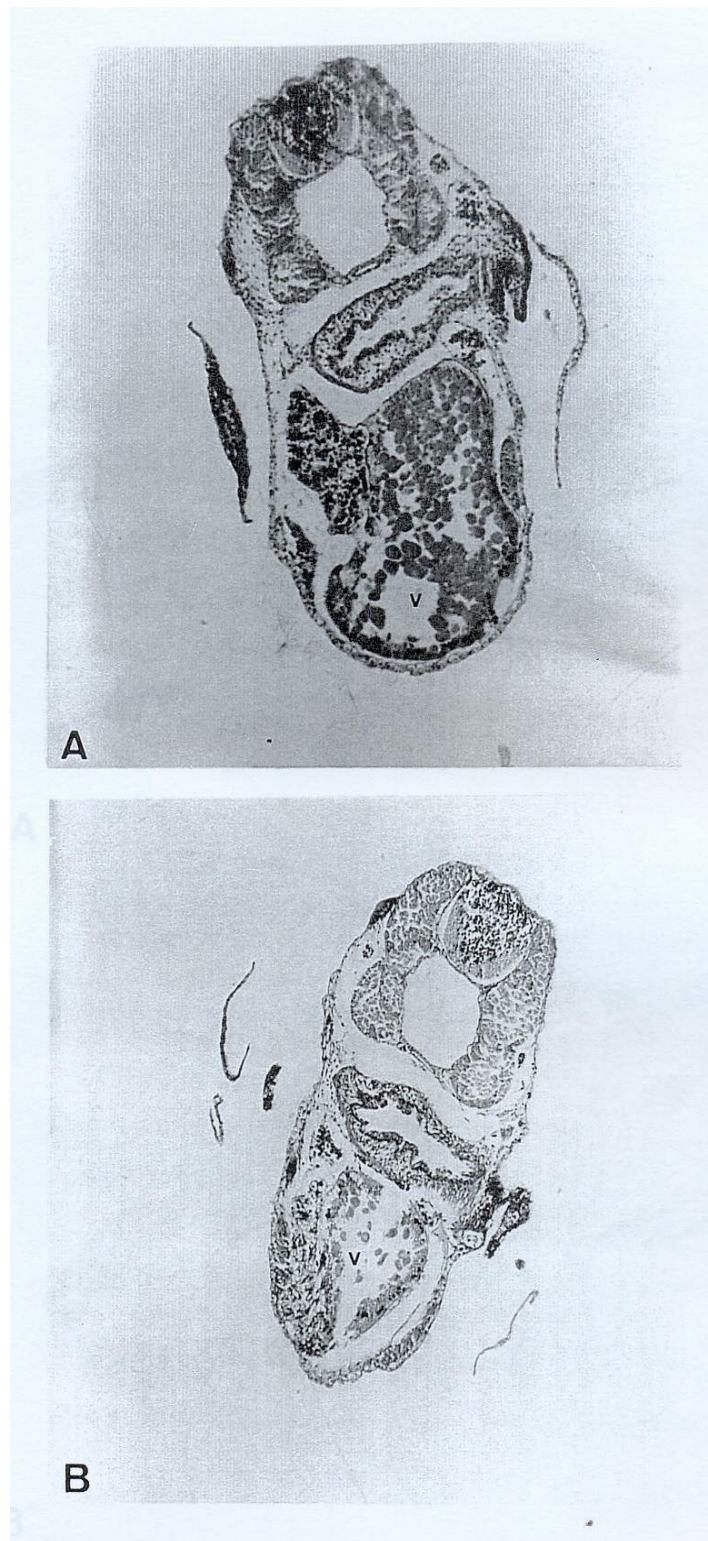


Figura 3. Fotomicrografias de cortes transversais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 30 horas após a eclosão. A- 0,01ppm e B- 0,10ppm. Saco vitelínico (V). HE. Objetiva 10x.

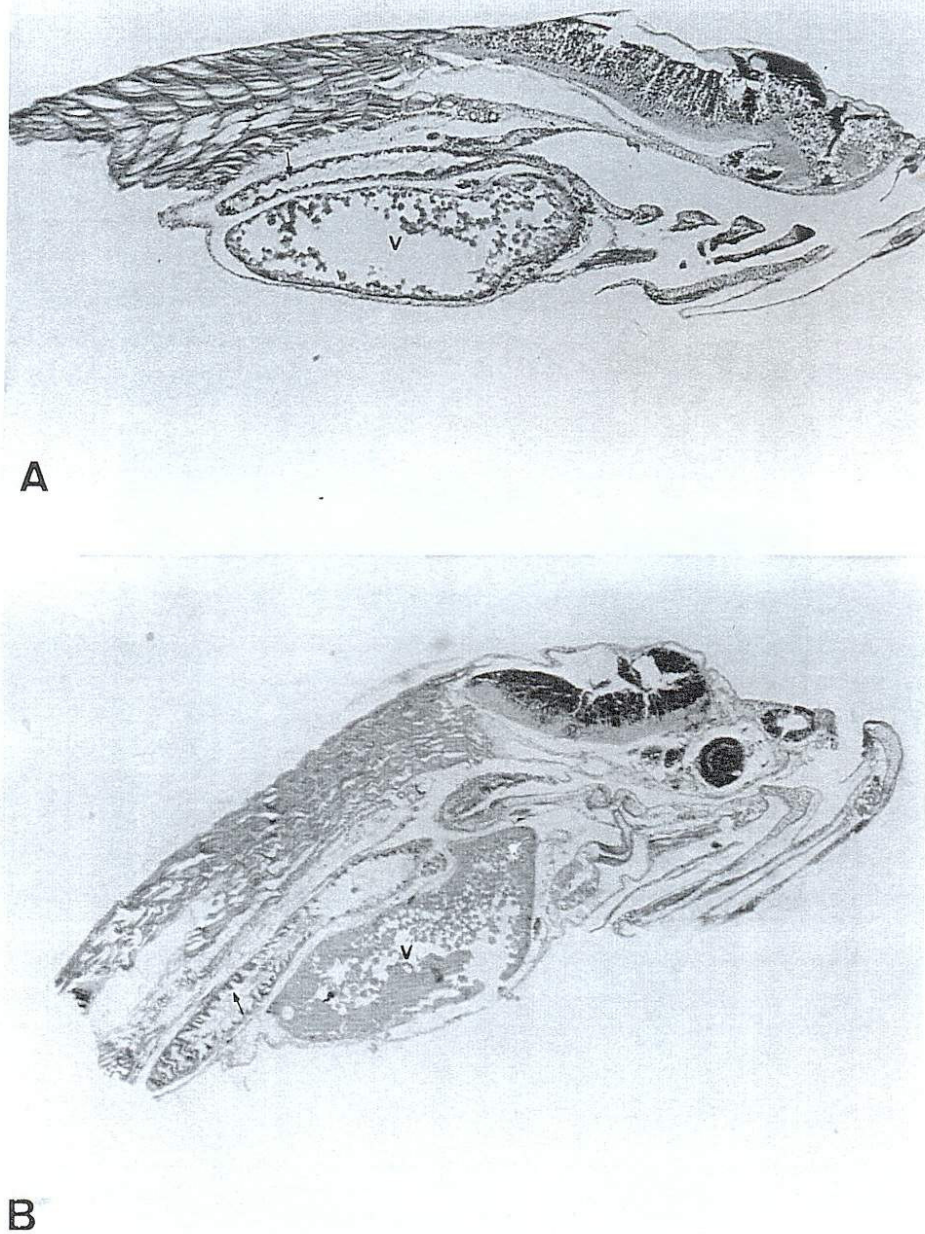


Figura 4. Fotomicrografias de cortes sagitais de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 54 horas após a eclosão. A- 0,01ppm e B- 0,05ppm. Saco vitelínico (V). Vilosidades (seta). HE. Objetiva 5x.

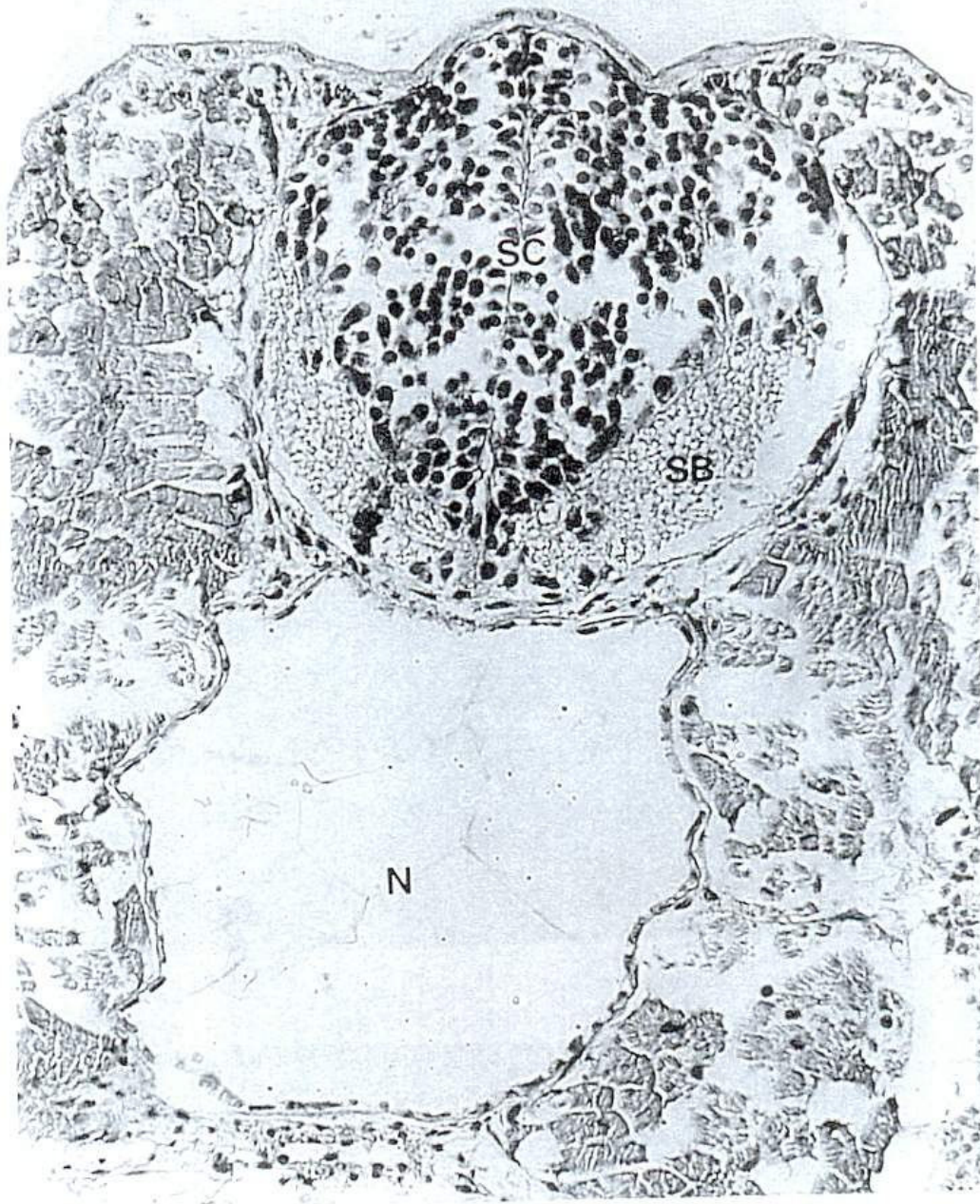


Figura 5. Fotomicrografia de corte transversal de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 30 horas após a eclosão. Substância cinzenta (SC). Substância branca (SB). Notocorda (N). HE. Objetiva 40x.

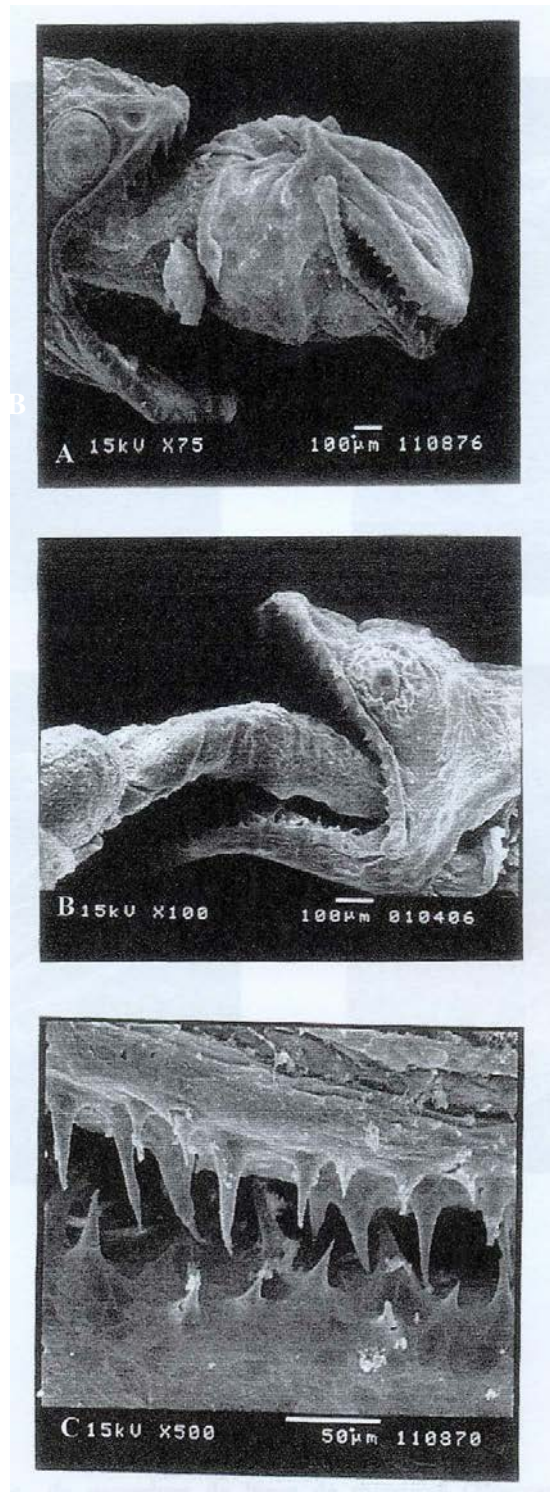


Figura 6. Elétron-micrografias de varredura de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*). A e B- Larvas mal formadas (predadas) com 54 horas após a eclosão (0,10ppm). C- Dentes de larvas com 42 horas após a eclosão (0,05ppm).

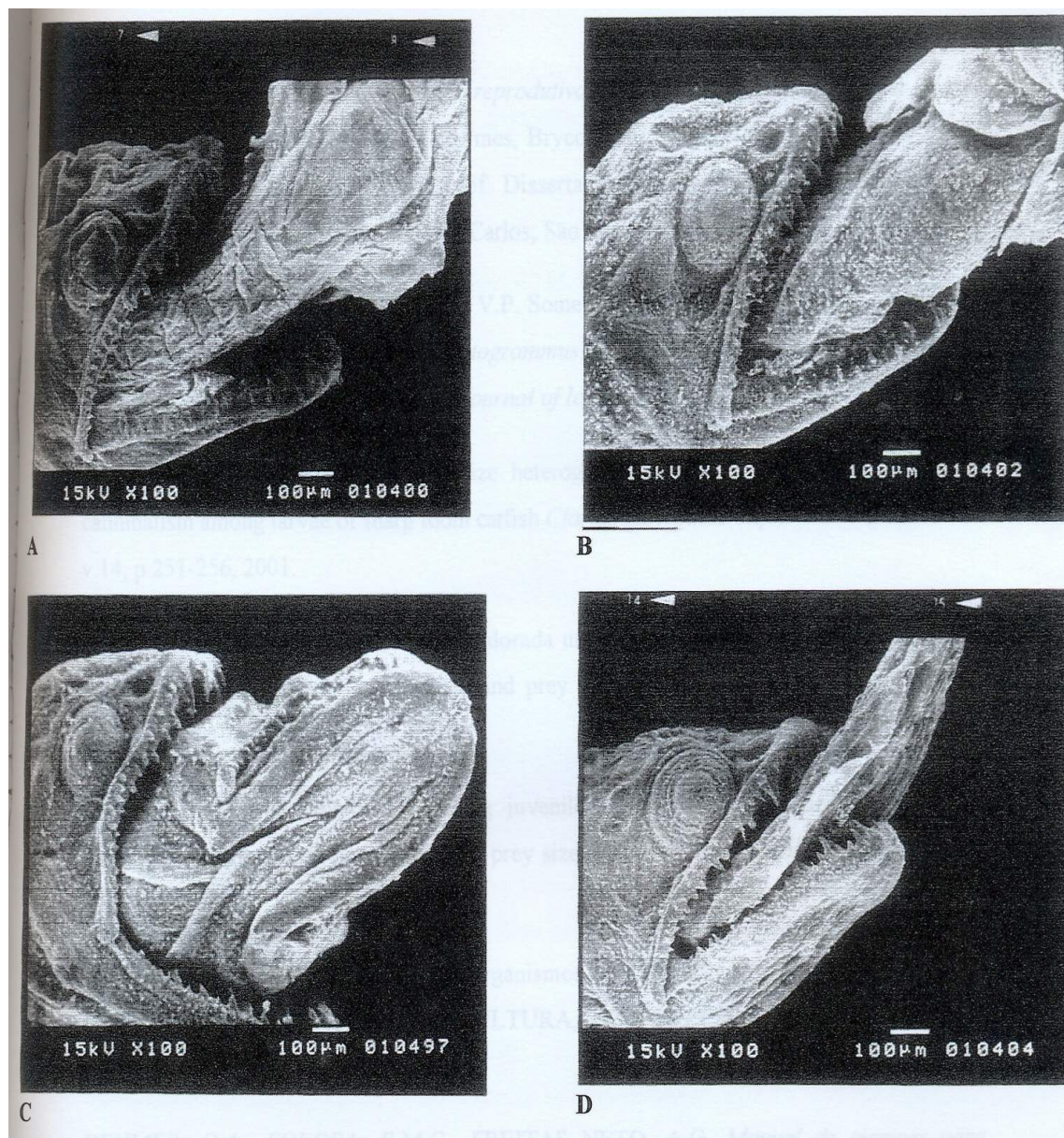


Figura 7. Elétron-micrografias de varredura de larva de matrinxã (*Brycon cephalus*) com 42 horas após a eclosão. A, B e C- Ataque no sentido postero-anterior (0,00ppm, 0,01ppm e 0,05ppm). D- Ataque no sentido ântero-posterior (0,10ppm).



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE-TALMELLI, E. F. *Indução reprodutiva e ontogenia inicial da piabanha *Brycon insignis* (Seindachner, 1876) (Characiformes, Bryconinae), mantida em confinamento - Vale do Paraíba, SP.* São Carlos, 1997. 185f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

ANTONENKO, D.V. & GNYUBKINA, V.P. Some specific features of the early ontogenesis of masked greenling *Hexagrammos octogrammus* and white-spotted greenling *H. stelleri* from peter the great bay (sea of Japan). *Journal of Ichthyology*, v.41, n.9, p.761-765, 2001.

BARAS, E. & D'ALMEIDA, A. F. Size heterogeneity prevails over kinship in shaping cannibalism among larvae of sharp tooth catfish *Clarias gariepinus*. *Aquatic Living Resources* v.14, p.251-256, 2001.

BARAS, E. et al. Sibling cannibalism in dorada under experimental condition. I. Ontogeny, dynamics, bioenergetics of cannibalism and prey size selectivity. *Journal of Fish Biology*, v.57, p.1001-1020, 2000.

BARAS, E. Sibling cannibalism among juvenile vundu under controlled conditions. I. cannibalistic behavior, prey selection and prey size selectivity. *Journal of Fish Biology* v.54, p.82-105, 1999.

BASILE-MARTINS, M. A. Criação de organismos para alimentação de larvas de peixes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 1984, São Carlos. *Anais ...* São Carlos, p.97-100, 1984.

BEHMER, O.A., FOLOSA, E.M.C., FREITAS NETO, A.G. *Manual de técnicas para histologia normal e patologia.* São Paulo: EDART, EDUSP, 1976, 248 p.

BELMONT, R.A. F. Considerações sobre a propagação artificial da piracanjuba, *Brycon orbignianus*. CESP. In: I SEMINÁRIO SOBRE CRIAÇÃO DE ESPÉCIES DOS GÊNERO *Brycon*, 1, 1994, Pirassununga: CEPTA, 1994. P.17-18.

BERNARDINO, G. et al. Propagação artificial do matrinxã, *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869), (TELEOSTEI, CHARACIDAE). *Boletim Técnico do CEPTA*, v.6, n. 2, p.1-9, 1993.

- BRÄNNÄS, E.; LINNÉR, J.; ERIKSSON, O. Aggression and growth as an effect of size composition in groups of arctic charr. *Journal of Fish Biology* v.60, p.1331-1334, 2002.
- BROWN, C.L.; DOROSHOV, S.L.; COCHRAN, M.D.; BERN, H.A. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. *Fish Physiology and Biochemistry* v.7, p. 295-299, 1988.
- BROWN, C.L. & KIM, B.G. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. *Aquaculture*, v.135, p.79-86, 1995.
- CARDOSO, E. L.; FERREIRA, R. M. A.; ALVES, M.S.D. Desenvolvimento embrionário e estádios larvários iniciais em surubim (*Pseudoplatystoma coruscans* Agassiz, 1829). In: VI ENCONTRO ANUAL DE AQUICULTURA ASSOCIAÇÃO MINEIRA DE AQUICULTURA, 1988, Belo Horizonte. *Resumos ...* Belo Horizonte - MG, p.22, 1988.
- CECCARELLI, P.S. Canibalismo em larvas de matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). Botucatu. Universidade Estadual Paulista. 92p. 1997. (Dissertação de Mestrado).
- DEMSKA-ZAKES, K. et al. The use of 3',5',3',-triiodo -l-thyronine as larvae fish growth stimulator: histological study. In LARVI'95 - FISH & SHELLFISH LARVICULTURE SYMPOSIUM., European Aquaculture Society Special Publication n.24, p.244-247, 1995.
- FOLKVORD, A. & OTTERA, H. Effects of initial size distribution, day length, and feeding frequency on growth, survival, and cannibalism in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture* v.114, p.243-260, 1993.
- GAVLIK, S.; ALBINO, M.; SPECKER, J.L. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. *Aquaculture* v.203, p.359-373, 2002.
- GERKING, S. *Feeding ecology of fish*. New York: Academic Press, 1994. 416p.
- GIRI, S.S. et al. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. *Aquaculture*, v.213, p.151-161, 2002.

GOMES, L.C.; BALDISSEROTTO, B.; SENHORINI, J.A. Effects of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture*, v.183, p.73-81, 2000.

GREAVES, K. & TUENE, S. The form and context of aggressive behaviour in farmed Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, v.193, p.139-147, 2001.

HETCHT, T. & PIENAAR, A. G.. Cannibalism: the hidden mortality in larviculture. In LARVI'91- FISH & CRUSTACEAN LARVICULTURE SYMPOSIUM. European Aquaculture Society Special Publication v.15, p.277, 1991.

HETCHT, T. & APPELBAUM, S. Observations on intraspecific aggression and coeval sibling cannibalism by larval and juvenile *Clarias gariepinus* (Clariidae: Pisces) under controlled conditions. *Journal of Zoology*, v.214, p.21-44, 1998.

HEY, J. et al. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.27, n.1, p.80-90, 1996.

HOWES, G.J. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bulletin of the British Museum of Natural History and Zoology*, v. 43(1), p.1-47, 1982.

HUTCHISON, M.J. & IWATA, M. Effect of thyroxin on the decrease of aggressive behavior of four salmonids during the parr-smolt transformation. *Aquaculture*, v.168, p.169-175, 1998.

KIM, B.G.; BROWN, C.L. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of Pacific threadfin. *American Zoologist*, v. 37, p. 470-481, 1997.

KOVAC, V. Early development of *Aingel streber*. *Journal of Fish Biology*, v.57, p.1381-1403, 2000.

LAUREL, B.J.; BROWN, J.A.; ANDERSON, R. Behavior, growth and survival of redfish larvae in relation to prey availability. *Journal of Fish Biology*, v.59, p.884-901, 2001.

MELO, J.S.C. & PEREIRA, J.A. Efeito da densidade de estocagem e da aeração no crescimento de matrinxã (*Brycon cephalus* GÜNTHER, 1869). *Boletim Técnico do CEPTA*, v.12, p. 33-38, 1999.

- MENDONÇA, J. O. J. O gênero *Brycon*. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro, v.6, n.33, p.14, 1996.
- NAYAK, P.K.; MISHRA, T.K.; MISHRA, J. Combined application of cortisol and thyroxin in the culture of larvae of freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, v. 323-328, 2000.
- PELLI, A.; DUMONT-NETO, R.; SILVA, J.D. & BARBOSA, N.D.C. 1997. Observações sobre o hábito alimentar de pós-larvas e alevinos do dourado (*Salminus maxillosus* Val. 1849) em diferentes condições de cultivo. *Revista UNIMAR*,19: 509-520.
- PIOVEZAN, U. Efeito da dieta na sobrevivência de larvas de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). In: SEMINÁRIO SOBRE CRIAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Brycon*. v.1, 1994, Pirassununga, São Paulo, SP. *Anais...*Pirassununga, SP, 1994, p.21-24.
- PORTELLA, M.C.; VERANI, J.R. & CESTAROLLI, M.A. Use of live and artificial diets enriched with several fatty acid sources to feed *Prochilodus scrofa* larvae and fingerlings. 1. Effects on survival and growth rates. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, v.15(1), p. 45-58, 2000.
- RAINE, J.C. & LEATHERLAND, J.F. Ontogeny of thyroid and tissue thyroid hormone clearance in rainbow trout embryos reared at two temperatures. *Fish Physiology and Biochemistry*, v.20, p.209-217, 1999.
- SAKAKURA, Y.; TSUKAMATO, K. Onset and development of cannibalistic behaviour in early life stages of yellowtail. *Journal of Fish Biology*, v. 48, p.16-29, 1996.
- SATO, Y.; CARDOSO, E. L.; OSÓRIO, F. M. F. reprodução induzida da matrinhã, (*Brycon lundii*) In: ASSOCIAÇÃO MINEIRA DE AQUICULTURA DE MINAS GERAIS, 1982-1987, Brasília. *Resumos...* Brasília CODEVASF, 1988, p.108.
- SCORVO-FILHO, J.D. et al. Piscicultura em São Paulo: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Informações Econômicas*, v. 28, p. 41-60, 1998.
- SENHORINI, J. A. *Biologia larval do matrinxã Brycon cephalus* (Gunther, 1869) e da piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849), (Pisces Characidae) em viveiros.

Botucatu, 1999, 101p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas Zoologia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SENHORINI, J.A.; MANTELATTO, F.L.M.; CASANOVA, S.M.C. Growth and survival of larvae of Amazon species "matrinxã", *Brycon cephalus* (PISCES, CHARACIDAE), in larviculture ponds. *Boletim Técnico do CEPTA*, v.11, p.13-28, 1998.

SMITH, C.; REAY, P. Cannibalism in teleost fishes. *Reviews in Biology of Fish*, v.1, p.41-64, 1991.

SPECKER, J.L. Preadaptative role of thyroid hormones in larval and juvenile salmon: growth, the gut, and evolutionary considerations. *American Zoologist*, v. 28, p. 337-350, 1988.

SOKOLOVSKAYA, T.G. & SOKOLOVSKII, A. S. Biology and larval development of agassiz snailfish *Liparis agassizi* (Liparidae) from peter the great bay, sea of Japan. *Journal of Ichthyology*, v.41, n.8, p.615-619, 2001.

URBINATI, E.C.; SOARES, M.C.F.; SENHORINI, J.A. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã *Brycon cephalus* (Characidae). *Journal of Aquaculture in the Tropics* (in press).

WERDER, U.; SAINT PAUL, U. Feeding trials with herbivorous and omnivorous Amazonian fishes. *Aquaculture*, v. 15, p. 175-177, 1978.

WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão*. Tradução Vera Lucia Mixtro Chama. Brasília: FAO/CODECASF/CNPq, 1983. 220p.

WOYNAROVICH, E.; SATO, Y. Special rearing of larvae of matrinchã (*Brycon Iundii*) and dourado (*Salmino brasiliensis*). In: HARVEY, B., CAROLSFELD, J. of *Workshop on Larval rearing of FINFISH*. [s.1.]: CIDA/CASAFA/ICSU,1990. p.134-136.

ZANIBONI FILHO, E.; BARBOSA, N. D. DE C. Larvicultura na CEMIG. In: X ENCONTRO ANUAL DE AQUICULTURA DE MINAS GERAIS, 1992, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte MG,1992. v. 10, p.36-42.

***ARTIGO CIENTÍFICO VI***

***EARLY DEVELOPMENT OF MATRINXÃ,  
BRYCON CEPHALUS (TELEOST, CHARACIDAE),  
AFTER MATERNAL TRIIODOTHYRONINE  
INJECTION AND EGG EXPOSUR.***

## ABSTRACT

The present study compared the early development of matrinxã, Brycon cephalus, a freshwater species from the Amazon Basin, after maternal T<sub>3</sub> injection or exposure of the fertilized eggs to T<sub>3</sub> solutions. Two experiments were performed. In the first one, three groups of four females each were artificially induced to spawning with carp pituitary extract - CPE. The first group received CPE and a corn oil injection (control group), while the other two groups received CPE plus a 10mg or 20mg kg<sup>-1</sup>bw T<sub>3</sub> injection (experimental groups). Fertilized eggs from each female were incubated for 60 h. Larvae were sampled at hatching (0 h) and at 12, 24, 36, 48 and 60 h after for body weight and length measurement. Hatching time and hatching rate (viable, died larvae, and abnormalities) were registered. In the 2<sup>nd</sup> experiment, fertilized eggs from four females were split into four batches per female and exposed for 15 min to T<sub>3</sub> solutions (0.0; 0.01; 0.05 and 0.10ppm) before the incubation. Larvae were sampled at hatching (0 h) and at 6, 18, 30, 42, 54, 126 and 198 h after for body weight and length measurement. Hatching time and hatching rate were also registered. Hatching time was not affected in both means of the hormone administration. Abnormalities decreased as the T<sub>3</sub> concentration increased in injected mothers and increased slightly when eggs were immersed in 0.01ppm T<sub>3</sub>. Larvae from T<sub>3</sub> injected females had higher body weight since 24 h after hatching and higher total length since the hatching, while the growth of larvae produced from eggs exposed to T<sub>3</sub> was affected later by the hormone. Their body weight changed significantly only at 198 h of cultivation and total length at 126 h. Both routes of T<sub>3</sub> administration have shown to affect the early development of matrinxã but the effect on the larvae growth was observed earlier through the mother injection method.

Key words: thyroid hormone, early development, larvae, Brycon cephalus



## INTRODUCTION

Efforts at developing commercial aquaculture have many focuses including fry production. Early culture remains a primary problem to fish farming, especially for species that present aggressive behavior such as those from Genus Brycon, an economically important fish in South America (Saint Paul, 1986). Among them, matrinxã, Brycon cephalus, is a native stenohaline freshwater fish of the Amazon Basin (Howes, 1982) with increasingly importance among the commercially farmed fishes in Brazil. However, heavy larval losses during the initial culture period are still a problem against the successful farming of the species (Woynarovich and Sato, 1989).

Hormonal treatments may offer practical means of improving fish propagation techniques. Exogenous thyroid hormones (TH) have been successfully used to improve the initial culture of many species (Lam, 1994; Tachihara et al., 1997; Stickney and Lui, 1999) enhancing larval growth, development, survival, and accelerating yolk absorption (Lam, 1980; Lam and Sharma, 1985, Brown et al., 1988, 1989; Ayson and Lam, 1993; Brown and Kim, 1995; Hey et al., 1996; de Jesus et al., 1998; Liu and Chan, 2002). However, Tagawa and Hirano (1991) showed that TH deficiency in eggs of medaka, Oryzias latipes, had no effect on the growth and survival of the larvae and the excessive and prolonged treatment caused growth retardation and abnormal development in tilapia, Sarotherodon niloticus (Nacario, 1983, Reddy and Lam, 1992a), goldfish, Carassius auratus (Reddy and Lam, 1992b), brown trout, Salmo trutta (Mylonas et al., 1994), striped bass, Morone saxatilis (Huang et al., 1996) and zebrafish, Danio rerio (Liu and Chan, 2002). The controversial results may be explained by the stage in which T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub> are supplemented. The ontogenetic changes in the levels of thyroid hormones vary markedly among species. Fluctuations may be registered in fertilized

eggs, hatching, yolk sac resorption, metamorphosis and other marked changes in morphology, physiology, behavior, food habit and habitat (Lam, 1994). In some studies, hormones are administered through injection to the mother fish (Brown et al., 1988; Brown et al., 1989; Ayson and Lam, 1993; Mylonas et al., 1994; Tachihara et al., 1997; Lambert et al., 1999) and in others eggs, embryos, larvae or fries are treated by immersion in  $T_4$  and  $T_3$  solutions (Lam, 1980; Nacario, 1983; Lam and Sharma, 1985; Hey et al., 1996; Huang et al., 1996; de Jesus et al., 1998; Liu and Chan, 2002). Both broodstock injection and hormone administration to the eggs seem to be practicable methods for improving commercial aquaculture. Studies are needed to evaluate the methods for different fish species.

Preliminary studies have shown that maternal  $T_3$  injection shortly before spawning induction enhanced the survival of matrinxã larvae (Urbinati et al., unpublished data). The present study compared the early development of this species through maternal  $T_3$  injection and  $T_3$  addition to the fertilized eggs.

## MATERIAL AND METHODS

The experiments were conducted at the National Center of Research in Tropical Fish, Pirassununga, and at the Aquaculture Center of the University of Sao Paulo State, Jaboticabal, SP, Brazil, in Jan. 2001.

### *Experiment 1. Growth of larvae from females $T_3$ injected*

Three groups of four females each were injected i.m. with carp pituitary extract - CPE (0.5 and 5.0mg kg<sup>-1</sup>bw) with 8 h between dosis. The first group received a corn oil injection i.p. at the first CPE dose (control group), while the other two groups received a single 10mg or 20mg kg<sup>-1</sup>bw i.p. injection of  $T_3$  at the first dose of CPE (experimental groups). The  $T_3$  was dissolved in corn oil. Twelve males were induced only with CPE (1.0mg kg<sup>-1</sup>bw) at the time of the second CPE injection in females. Five hours after the second CPE injection, eggs were stripped and fertilized with milt from the induced males. Fertilized eggs from each female were held separately in fiberglass incubators supplied with flowing water, at 27°C. After hatching, larvae were maintained in the incubators for additional 60h. They were collected at hatching (0 h) and at 12, 24, 36, 48 and 60 h after (40 larvae in each sampling per incubator) and fixed in Karnowsky solution for weight and length measurement. The rate hatching was calculated at 0 h (number of viable and died larvae, and abnormalities). Thirty six hours after hatching, larvae start feeding plankton, mainly cladocerans and copepods, twice a day (09.00 and 16.00 h), supplied ad libitum. During the 60h of incubation, water temperature (24.0 - 25.5 °C), pH (5.0 - 6.8), dissolved oxygen (4.5 -5.5 mg/L) and total ammonia (0.13 - 0.27mg L<sup>-1</sup>) were monitored daily, in the morning before the first feeding.

*Experiment 2. Growth of larvae from eggs exposed to  $T_3$*  Eggs of matrinxã were collected from induced spawning of four females and four males (as the protocol presented for Experiment

1). Fertilized eggs from each female were split into four batches (about 20,000 eggs each) and immersed for 15 min in T<sub>3</sub> solutions (0.00; 0.01; 0.05 and 0.10ppm) prepared with the water of the incubators. Following, eggs were transferred to individual fiberglass incubators supplied with flowing water, at 26°C. After hatching, larvae were maintained in the incubators for additional 54 h and sampled (fixed in Karnowsky solution) at hatching (0 h) and at 6, 18, 30, 42, 54 h (40 larvae in each sampling per incubator) for weight and length determinations. At 0h, the rate hatching was calculated by the number of viable and died larvae, and abnormalities. Larvae from each incubator were, then, transferred to 20L aquaria (10 larvae L<sup>-1</sup>) and the sampled at 126 and 198 h after hatching. At the incubators, at 36 h after hatching, larvae fed plankton, mainly cladocerans and copepods, twice a day (09.00 and 16.00 h) supplied ad libitum and at the aquaria, additional powder ration (30.9% crude protein) was provided four times a day (09.00, 12.00, 16.00 and 21.00 h), 2g for each aquarium in the first 3 days and 4g in the remaining days. Every morning, before feeding, the bottoms of the aquaria were siphoned and 2/3 of the water volume were changed. Water temperature (24.0 - 25.0 °C), pH (6.8 - 7.8), dissolved oxygen (5.7 - 7.8 mg L<sup>-1</sup>) and total ammonia (0.13 - 0.33 mg L<sup>-1</sup>) were monitored daily.

### **Statistical analysis**

In both experiments, the hatching time and hatching rate results were analyzed by one-way analysis of variance. For body weight and length a Split Plot design was employed and data were analyzed by two-way analysis of variance. In both analysis means were compared by Tukey test (P<0.05). Data expressed in percentage were submitted to angular transformation  $y = \arcsen.\sqrt{x/100}$  to minimize the coefficient of variation. Analysis were made using a SAS software.

## RESULTS

The larval treatment with triiodothyronine did not alter the hatching time, neither by maternal injection nor by egg exposure (Table 1). The values registered in the maternal injection treatment were higher (from 15.91 to 16.08 h) than those of the egg exposure (from 12.51 to 12.73 h) but they were not compared because the water temperatures of the incubators, in the first and second experiments, were not the same at the hatching time (27 and 26°C, respectively).

The hatching rate was determined by the percentage of viable and died larvae, and the occurrence of abnormalities. The T3 treatment did not affect the number of viable and died larvae, similarly in both ways of T3 administration but the percentage of abnormalities decreased as the T3 concentration injected in females increased. Otherwise, larvae abnormalities were slightly higher when eggs were exposed to 0.01ppm T3 (Table 1).

The growth in weight and length of larvae from females treated with 10 and 20mg of triiodothyronine were higher than those from the non-treated females (Table 2). Larvae from treated mothers presented higher weight since 24 h of incubation. At 60h larvae from non-treated mothers had mean weight of  $1.84 \pm 0.15$  mg and larvae from 10 and 20mg injected mother  $2.05 \pm 0.08$  and  $2.12 \pm 0.08$  mg, respectively. The total length differed since 0 h (at hatching) and at 60 h larvae of non treated mother measured  $4.98 \pm 0.18$  mm and larvae from 10 and 20mg injected mother  $6.0 \pm 0.19$  and  $6.7 \pm 0.26$  mm, respectively.

The growth of larvae produced from eggs exposed to T3 was affected later compared to those of the larvae from T3 treated females (Table 3). Body weight changed significantly only at 198 h of incubation and total length at 126 h. At the final sampling, larvae weight and total length in the different T3 treatments were  $5.35 \pm 1.28$  mg and  $8.86 \pm 0.41$  mm (0.0ppm),  $9.60$

$\pm 1.66$  mg and  $10.72 \pm 0.67$  mm (0.01ppm),  $10.26 \pm 2.30$  mg and  $10.61 \pm 0.63$  mm (0.05ppm)  
and  $10.06 \pm 2.35$  mg and  $9.88 \pm 0.49$  mm (0.10ppm).

## DISCUSSION

Hormone treatment did not affect the hatching time of matrinxã regardless the route of administration although inhibition in tilapia, *Oreochromis moossambicus* (Reddy and Lam, 1991) and acceleration in chum salmon, *Oncorhynchus keta* (Dales and Hoar, 1954) were related. The temperature where fertilized eggs were incubated might be the factor promoting the anticipation of the hatching time in the maternal injected group of larvae. Studies using artificially fertilized eggs and yolk-sac larvae of the freshwater tropical/subtropical fish *Clarias gariepinus* showed a tentative mechanism that leads to the positive or negative response of the body size to temperature (Kamler et al., 1994). Increase up to a certain point (25°C) accelerated the early development of the fish. Increase in temperature also accelerated development in *Chondrostoma nasus* and made it more synchronous (Kamler et al., 1998).

There was a trend to diminish the abnormalities in larvae from T3 mother injected, although a slight increase in larvae from eggs exposed to 0.01ppm was verified. Contrarily, in *Salmo trutta* T3 mother injection in the same T3 concentration (20 mg) of this study provoked skeletal abnormalities in the progeny (Mylonas et al., 1994). Otherwise, T3 in high concentrations (0.10 ppm) induced abnormalities in immersed larvae of *Carassius auratus* (Reddy and Lam, 1992b) although this was not found in matrinxã.

In the present experiment, larvae under influence of T3 maternally-injected were bigger than those without maternal exogenous T3, since the hatching until 60 h of incubation when the experimental observation stopped, in both utilized doses (10 and 20mg kg<sup>-1</sup> bw). The growth promoting effect of T3 appeared well later (at 198 h) in larvae produced from eggs exposed to the hormone, although changes as accelerated swimbladder inflation, maturation of the gastrointestinal system, resorption of yolk sac and trunk musculature hypertrophy were

registered earlier in those larvae (Vasques, L.H. and Urbinati, E.C., unpublished data). Thyroid hormones (THs) are known to play important role in the early development and growth of vertebrates accelerating tissue growth and maturation processes (Schwartz, 1983). The thyroid hormone role on early development and growth of teleost has been described (Brown et al., 1987; Lam, 1994; Deane and Woo, 2003). The anabolic processes that promote the nutrients utilization by the body tissues are regulated by hormones, including those from thyroid gland, which help to stimulate the body growth (Weatherley and Gill, 1989). Besides it has been suggested that THs enhance lipid mobilization to provide energy, thereby sparing proteins (Donaldson et al., 1979) that may be essential enzymes of metabolism or substrate for growth. Metabolic effects of T3 include increased rates of protein synthesis and lipolysis (Sobol, 1993) and, in *Carassius auratus*, Leary et al. (1996) have shown direct effects of T3 in increasing oxidation rates of substrates in mitochondria of liver and red muscles.

Contrarily to our findings, T3 caused growth delay on tilapia (Nacario, 1983, Reddy and Lam, 1992a) and striped bass (Huang et al., 1996) larvae. Controversial results could be due to the experimental design, including means of administration and dosages, and genetic differences. The endogenous levels of THs in broodstock in the final stages of reproduction may stimulate or inhibit steroidogenesis and final oocyte maturation by gonadotropins if a certain threshold were overcome (Dickhoff et al., 1989; Sullivan et al., 1989; Mylonas et al., 1994). The maternal transfer of THs to the eggs could affect differently the larval performance depending on the maternal plasma levels of THs. Hormones from the mother blood seem to have altered the larvae development (Brown et al., 1988, Brown et al., 1989; Ayson and Lam, 1993; Mylonas et al., 1994). Otherwise, the immersion of eggs, embryos, larvae and fries in hormone solutions (Lam, 1980; Nacario, 1983; Lam and Sharma, 1985; Hey et al., 1996; Huang et al., 1996; de Jesus et al., 1998; Liu and Chan, 2002) have shown to be effective in promoting changes in early development of fish. Although both means of T3 administration to



the eggs of matrinxã offer great potential as practicable methods for enhancement of the seed production, T3 effects seemed to be achieved earlier through the injection to the mother fish.

The biological effects exerted by THs are mediated through specific nuclear receptors which function as hormone-dependent transcription factors (Brent, 1994), stimulating the transcription of target genes in the presence of thyroid hormones. In all species so far studied, two thyroid hormone receptors (TR) isoforms, designated TR $\alpha$  and TR $\beta$ , are present. Zebrafish TR $\alpha$ 1 was found by Essner et al. (1997) to be abundantly expressed in embryos and ovary. TR $\beta$ 1, on the other hand, is present at very low level as maternal mRNAs, and barely detectable until the onset of zygotic expression. In addition, Liu et al. (2000) have demonstrated that the zygotic expression of zebrafish TR $\alpha$ 1 occur several cell division cycles before midblastula transition stage. Additionally, the transactivating activity of TR $\alpha$ 1 and TR $\beta$ 1 was enhanced with the addition of T3 in embryos and larvae.

An important aspect to be pointed out is the time needed by T3 to entry the oocyte and reach the nuclear receptors. In teleosts, THs have been shown to occur in large amount in the yolk of the eggs and embryos (Brown et al., 1987; Brown et al., 1988; Greenblatt et al., 1989; Tagawa and Hirano, 1990). The high levels of THs in yolk decline as development proceeds. It has been proposed that the maternal hormone could potentially provide a physiological source of THs before the onset of maturation of the thyroid gland in the embryo or larvae (Lam, 1994). The increased amount of T3 in the yolk from the maternal origin after the T3 injection, as previously described by Brown et al. (1988, 1989), could be activating the TRs since the earlier developmental phases of the embryo of matrinxã. Possibly, the same did not happen through exposure of fertilized eggs to T3. The time needed by T3 to entry the cell and reach and interact with the TRs of the embryos through this route of administration is probably much long to promote effects as early as through the maternal injection. In vitro studies on tilapia oocytes have shown that free T3 seems to enter oocytes freely across the

membranes by diffusion (Tagawa and Brown, 2001). The T3 entry appeared to reach an equilibrium with the culture medium at approximately 18 h. In the present study, eggs were exposed to T3 for only 15 min.

Information brought by the present study show that hormone treatment may have practical application in Brycon sp farming and thyroid hormones may be used to enhance growth of the fingerlings and improve the production profits.

### **Acknowledgements**

The authors would like to thank the National Center of Research in Tropical Fish (CEPTA/IBAMA), Pirassununga, and the Aquaculture Center of the University of Sao Paulo State (CAUNESP), for the fish donation and facilities.

## REFERENCES

- Ayson, F.G., Lam, T.J., 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs and yolk-sac larvae, and its effects on larval growth and survival. *Aquaculture* 109, 83-93.
- Brent, G.A., 1994. The molecular basis of thyroid action. *New England J. Med.* 13, 847-853.
- Brown, C.L., Kim, B.G., 1995. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. *Aquaculture* 135, 79-86.
- Brown, C.L., Sullivan, C.V., Bern, H.A., Dickhoff, W.W., 1987. Occurrence of thyroid hormones in early development stages of teleost fish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 2, 144-150.
- Brown, C.L., Doroshov, S.I., Nuñez, J.M., Hadley, C., Vaneennaam, J., Nishioka, R.S., Bern, H.A., 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J. Exper. Zool.* 248, 168-176.
- Brown, C.L., Doroshov, S.I., Cochran, M.D., Bern, H.A., 1989. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. *Fish Physiol. Biochem.* 7, 295-299.
- Brown, C.L., Bern, H.A., 1989. Hormones in early development with special reference to teleost fishes. In: Schreibman, M.P., Scanes, C. S. (Eds), *Hormones in Development, Maturation, and Senescence of Neuroendocrine Systems. A Comparative Approach.* Academic Press. New York, p. 289-306.
- Dales, S., Hoar, W.S., 1954. Effects of thyroxine and thiourea on the early development of chum salmon *Onchorhynchus keta*. *Can. J. Zool.* 32, 244-251.
- Deane, E.E., Woo, N.Y.S., 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. *Life Science* 74, 805-818.
- de Jesus, E. G., Toledo, J.D., Simpas, M.S., 1998. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.* 112, 10-16.

- Dickhoff, W. W., Yan, L., Plisetskaya, E. M., Sullivan, C.V., Swanson, P., Hara, A., Bernard, M.G., 1989. Relationship between metabolic and reproductive hormones in salmonid fish. *Fish Physiol. Biochem.* 7, 147-155.
- Donaldson, E. M., Fagerlund, U. H. M., Higgs, D. A., McBride, J. R., 1979. Hormonal enhancement of growth. In: Hoar, W. S., Randal D. J., Brett, J. R. (Eds.), *Fish Physiology*. Academic Press, New York, v. 8, p. 455-597.
- Essner, J.J., Breuer, J.J., Essner, R.D., Fahrenkrug, S.C., Hackett, P.B., 1997. The zebrafish thyroid hormone receptor  $\alpha 1$  is expressed during early embryogenesis and can function in transcriptional repression. *Differentiation* 62, 107-117.
- Greenblatt, M., Brown, C.L., Lee., Dauder, S., Bern, H.A. 1989. Changes in thyroid hormone levels in eggs and larvae and in iodide uptake by eggs of coho and chinook salmon *Oncorhynchus kisutch* and *O. tshawytscha*. *Fish Physiol. Biochem.* 6, 261-278.
- Hey, J., Farrar, E., Bristow, B.T., Stettner, C., Summerfelt, R.C., 1996. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *J. World Aquac. Soc.* 27, 40-51.
- Howes, G.J., 1982. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Zool.* 43, 1-47.
- Huang, L., Jennifer, L.S., Bengtson, D.A., 1996. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish Physiol. Biochem.* 15, 57-64.
- Kamler, E., Keckeis, H., 1998. Temperature-induced changes of survival, development and yolk partitioning in *Chondrostoma nasus*. *J. Fish Biol.* 53, 658-682.
- Kamler, E., Szlaminska, M., Kuzynski, J., Hamackvá, J., Dabrowski, R. 1994. Temperature-induced changes of early development and yolk utilization in the African catfish *Clarias gariepinus*. *J. Fish Biol.* 44, 311-326.
- Lam, T.J., 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon (Tilapia) mossambicus*. *Ruppel. Aquaculture* 21, 287-291.
- Lam, T.J., 1994. Hormones and egg/larval quality in fish. *J. World Aquac. Soc.* 25, 2-12.

- Lam, T.J., Sharma, R., 1985. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 44, 179-184.
- Lambert, D.M., Argue, B.J., Dunham, R.A. 1999. Effects of seasonal variations, thyroid and steroid hormones, and carp pituitary extract on the artificial production of channel catfish *Ictalurus punctatus* x blue catfish *I. furcatus* hybrids. *J. World Aquac. Soc.* 30, 80-88.
- Leary, S.C., Barton, K.N., Ballantyne, J.S., 1996. Direct effects of 3, 5, 3'-triiodothyronine and 3,5-diiodothyronine on mitochondrial metabolism in the goldfish *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 104, 61-66.
- Liu, Y-W; Chan, W-K., 2002. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation* 70, 36-45.
- Liu, Y-W; Lo, L-J., Chan, W-K., 2000. Temporal expression and T3 induction of thyroid hormone receptors  $\alpha 1$  and  $\beta 1$  during early embryonic and larval development in zebrafish, *Danio rerio*. *Mol. Cel. Endocrinol.* 159, 187-195.
- Mylonas, C.C., Sullivan, C.V., Hinshaw, J.M., 1994. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish Physiol. Biochem.* 13, 485-493.
- Nacario, J.F., 1983. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. *Tilapia nilotica*. *Aquaculture* 34, 73-83.
- Reddy, P.K., Lam, T.J., 1991. Effect of thyroid hormones on hatching in the tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 81, 484-491.
- Reddy, P.K., Lam, T.J., 1992a. Role of the thyroid hormones in tilapia larvae *Oreochromis mossambicus*: I. Effects of the hormones and an anti-thyroid drug on yolk sac resorption, growth and development. *Fish Physiol. Biochem.* 9, 473-485.
- Reddy, P.K., Lam, T.J., 1992b. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 107, 383-394.
- Saint Paul, U., 1986. Potential for aquaculture of South America: a review. *Aquaculture* 54, 205-240.

- Schwartz, H.L., 1983. Effect of thyroid hormone in growth and development. In: Molecular Basis of Thyroid Hormone Action. Academic Press, New York.
- Sobol, S., 1993. Long-term and short-term changes in mitochondria respiration by thyroid hormones. *Biochem. Soc. Trans.* 21, 799-803.
- Stickney, R.R., Liu, H.W., 1999. Maintenance of broodstock, spawning, and early larval rearing of Pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. *Aquaculture* 176, 75-86.
- Sullivan C.V., Bernard, M.G., Hara, A., Dickhoff, W.W., 1989. Thyroid hormones in trout reproduction: enhancement of gonadotropin-releasing hormone analogue and partially purified salmon gonadotropin-induced ovarian maturation in vivo and in vitro. *J. Exper. Zool.* 250, 188-195.
- Tachihara, K., El-Zibdeh, M.K., Ishimatsu, A., Tagawa, M. 1997. Improved seed production of goldstriped amberjack *Seriola lalandi* under hatchery conditions by injection of triiodothyronine (T3) to broodstock fish. *J. World Aquac. Soc.* 28, 34-44.
- Tagawa, M., Brown, C.L., 2001. Entry of thyroid hormone into tilapia oocytes. *Comp. Biochem. Physiol.* 129B, 605-611.
- Tagawa, M., Hirano, T., 1990. Changes in tissue and blood concentrations of thyroid hormones in developing chum salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.* 76, 437-443.
- Tagawa, M., Hirano, T., 1991. Effects of thyroid hormone deficiency in eggs on the early development of the medaka, *Oryzias latipes*. *J. Exp. Zool.*, 257, 360-366.
- Weatherley, A. H., Gill H. S., 1989. *The Biology of Fish Growth*. Academic Press: London.
- Woinarovich, E., Sato, J., 1989. Special rearing of larvae of matrinchã (*Brycon lundii*) and dourado (*Salminus brasiliensis*). In: Harvey, B., Carosfeld, J. (Eds), *Workshop on Larval Rearing of Finfish*, Pirassununga, Brazil, CIDA/CASAFA/ICSU, p. 134-136.

Table 1. Hatching time (h) and hatching rate (% of viable and died larvae, and abnormalities)

	Maternal T <sub>3</sub> injection (mg)				Egg immersion in T <sub>3</sub> (ppm)				
	0	10	20	c.v. (%)	0.00	0.01	0.05	0.10	C.V. (%)
Hatching time (h)	16.03 a <sup>1</sup>	15.91 a	16.08 a	1.45	12.51 a	12.73 a	12.62 a	12.53 a	1.51
Viable larvae (%)	63.69 a	55.69 a	57.64 a	19.25	64.75 a	68.81 a	72.78 a	58.24 a	22.22
Died larvae (%)	16.99 a	27.37 a	29.01 a	59.58	24.40 a	19.07 a	15.91 a	30.38 a	60.63
Abnormalities (%)	19.45 a	15.27 ab	11.44 b	28.69	5.18 b	7.89 a	5.28 b	5.38 b	29.33

<sup>1</sup>Same lower case letters in the lines are not different (P>0.05).

C.V.: coefficient of variation

Table 2. Growth in weight and total length of larvae from T<sub>3</sub> injected females during 60 h of incubation

	T <sub>3</sub> (ppm)	Time of incubation (h)					
		0	12	24	36	48	60
Body weight (mg)	0	0.98± 0.11 Ad <sup>1</sup>	1.13± 0.02 Ad	1.34± 0.19 Bc	1.47±0.27 Bbc	1.59±0.25 Bb	1.84±0.15 Ba
	10	1.06±0.04 Ad	1.12±0.02 Ad	1.57±0.10 Ac	1.75±0.06 Abc	1.93±0.10 Aab	2.05±0.08 Aa
	20	1.06±0.01 Ac	1.18±0.01 Ac	1.53± 0.06 ABb	1.63±0.03 ABb	1.92±0.49 Aa	2.12±0.08 Aa
c.v <sup>1</sup> : 13.40%		c.v <sup>2</sup> : 6.31%					
Total length (mm)	0	3.70±0.70 Cd	3.79±0.10 Cd	3.84±0.09 Ccd	4.12±0.25 Cc	4.47±0.21 Cb	4.98±0,18 Ca
	10	4.74± 0.37 Be	5.17±0.41 Bd	5.35±0.39 Bcd	5.66±0.23 Bbc	5.74±0.26 Bab	6.00±0,19 Ba
	20	5.30±0.040 Ae	5.81±.14 Ad	6.02±0.03 Acd	6.19±0.05 Abc	6.47±0.19 Aab	6.70±0,26 Aa
c.v <sup>1</sup> : 8.03%		c.v <sup>2</sup> : 3.03%					

Same lower case letters in the lines and upper case letters in the columns are not different (P>0.05).

c.v.<sup>1,2</sup>: coefficients of variation for dosis (%) and time of incubation (%), respectively.

Mean ± SD



Table 3. Growth in weight and total length of larvae from eggs exposed to T<sub>3</sub> during hydration for 198 hours of cultivation

	T <sub>3</sub> (ppm)	Time of cultivation (h)						
		6	18	30	42	54	126	198
Weight (mg)	0.00	1.09±0.16* Ac	1.33±0.18 Ac	1.74±0.11 Ac	1.88±0.03 Abc	2.09±0.22 Abc	3.37±0.45 Ab	5.35±1.28 Ba
	0.01	1.19±0.12 Ac	1.32±0.07 Ac	1.66±0.11 Ac	1.90±0.25 Ac	2.38±0.39 Ac	4.29±0.53 Ab	9.60±1.66 Aa
	0.05	1.17±0.17 Ac	1.47±0.11 Ac	1.63±0.11 Ac	1.77±0.09 Ac	2.21±0.10 Abc	3.63±0.48 Ab	10.26±2.30 Aa
	0.10	1.07±0.13 Ac	1.48±0.14 Ac	1.73±0.03 Ac	1.5±0.10 Ac	2.03±0.13 Abc	3.43±0.52 Ab	10.06±2.35 Aa
c.v. dosis: 33.42%		c.v. períodos: 25.02%						
Total length (mm)	0.00	4.24±0.30 Ae	4.91±0.12 Ad	5.58±0.30 Ad	6.29± 0.08 Ac	6.64±0.11 Ac	8.04±0.05 ABb	8,86±0,41 Ca
	0.01	4.44±0.05 Ae	4.85± 0.28 Ae	5.58± 0.07 Ad	6.14±0.08 Ac	6.93±0.52 Ac	8.58±0.74 Ab	10.72±0.67 Aa
	0.05	4.29±0.03 Af	4.98± 0.07 Ae	5.84± 0.24 Ad	6.34±0.18 Acd	6.71±0.34 Ac	7.99±0.23 ABb	10.61±0.63 Aa
	0.10	4.31±0.18 Ae	4.90± 0.13 Ae	5.76± 0.16 Ad	6.11±0.09 Acd	6.73±0.21 Ac	7.71±0.17 Bb	9.88±0.49 Ba
c.v. <sup>1</sup> . 6.74%		c.v. <sup>2</sup> . 4.53%						

Same lower case letters in the lines and upper case letters in the columns are not different (P>0.05).

c.v.<sup>1,2</sup>: coefficients of variation for dosis (%) and time of cultivation (%), respectively.

\* Mean ± SD

## ***CONCLUSÕES***

O presente trabalho estudou a ação do hormônio tireoidiano triiodotironina ( $T_3$ ) no desenvolvimento inicial do matrinxã (*Brycon cephalus*), através do monitoramento do desenvolvimento embrionário, do crescimento larval, do desenvolvimento dos sistemas muscular e digestório, da reabsorção do saco vitelínico e da instalação do comportamento de canibalismo. Este hormônio que tem sido relatado, na literatura especializada, como um estimulador da embriogênese, crescimento e maturação de muitos tecidos e no crescimento corporal dos peixes. Embora evidências demonstrem que a glândula tireóide não esteja presente na início da vida embrionária dos peixes, os hormônios tireoidianos estão presentes nos ovos vindos do organismo materno. O presente estudo utilizou a técnica da exposição dos ovos fertilizados ao hormônio utilizado (triiodotironina,  $T_3$ ), através da hidratação dos mesmos durante o procedimento de rotina da reprodução artificial. A administração do hormônio se mostrou uma técnica de fácil manipulação e reprodutibilidade. As doses testadas foram escolhidas com base em estudos prévios, disponíveis na literatura.

O monitoramento da resposta biológica dos ovos e larvas ao  $T_3$  se deu através de técnicas morfológicas e morfométricas, com apoio de microscopia de luz e eletrônica de varredura.

Através das análises realizadas, nas condições experimentais do presente estudo, foi possível elaborar as seguintes conclusões:

1. A triiodotironina, nas condições e doses utilizadas, não afetou o tempo e a taxa eclosão e o desenvolvimento embrionário da espécie estudada.
2. A triiodotironina acelerou o desenvolvimento da musculatura esquelética das larvas produzidas a partir de ovos expostos ao hormônio (0,05 e 0,10ppm).

3. A triiodotironina estimulou o desenvolvimento de estruturas do sistema digestório das larvas produzidas a partir de ovos expostos ao hormônio (0,05 e 0,10ppm).
4. As larvas provenientes de ovos expostos a solução de 0,05ppm de triiodotironina foram as que tiveram maior crescimento, com a maior taxa de crescimento específico e crescimento mais homogêneo.
5. A triiodotironina estimulou a reabsorção das reservas nutricionais endógenas, acelerando o desaparecimento do saco vitelínico das larvas produzidas a partir de ovos expostos à concentração de 0,10ppm do hormônio.
6. A triiodotironina acelerou a insuflação da bexiga natatória das larvas produzidas a partir de ovos expostos ao hormônio (0,05 e 0,10ppm).
7. A triiodotironina atuou na redução do canibalismo entre larvas produzidas de ovos expostos ao hormônio.