

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA TRIIODOTIRONINA (T3) NO DESENVOLVIMENTO
EMBRIONÁRIO E NO DESEMPENHO DAS LARVAS DE
PINTADO (*Pseudoplatystoma coruscans*), PIRACANJUBA (*Brycon
orbignyanus*) E DOURADO (*Salminus maxillosus*)**

**Miguel Angel Landines Parra
Zootecnista**

**JABOTICABAL-SP
Fevereiro - 2003**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA TRIIODOTIRONINA (T3) NO DESENVOLVIMENTO
EMBRIONÁRIO E NO DESEMPENHO DAS LARVAS DE
PINTADO (*Pseudoplatystoma coruscans*), PIRACANJUBA (*Brycon
orbignyanus*) E DOURADO (*Salminus maxillosus*)**

**Miguel Angel Landines Parra
Zootecnista**

Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

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

**JABOTICABAL-SP
Fevereiro - 2003**

Landines-Parra, Miguel Angel
L257e Efeito da triiodotironina no desenvolvimento embrionário e no desempenho das larvas de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) e dourado (*Salminus maxillosus*) / Miguel Angel Landines Parra. -- Jaboticabal, 2003
vii, 135 f.: il.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, 2003

Orientadora: Elisabeth Criscuolo Urbinati

Banca examinadora: José Augusto Senhorini, Carlos Alberto Vicentini, Sérgio Fonseca Zaiden, Cristina Ribeiro Dias Koberstein

Bibliografia

1. Desenvolvimento. 2. Larvicultura. 3. Triiodotironina. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aqüicultura.

CDU 639.31

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

Agradecimento especial

À Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati...

É muito difícil expressar com palavras o que verdadeiramente significou para mim conhecer essa pessoa maravilhosa, grande mestre, que me ensinou a andar pelos caminhos da pesquisa. Mas que principalmente, me recebeu como uma colega, amiga, mãe, que me entendeu durante toda minha permanência longe do meu País e sempre esteve pronta para me ajudar.

Simplesmente posso dizer.....**Muito obrigado por tudo:** O carinho, a amizade, a dedicação, a alegria e o amor.

Agradeço de todo coração e só espero ter correspondido a sua confiança. Pode ter certeza que levarei o seu exemplo e tentarei sempre me esforçar para atingir meus desafios, como você me ensinou.

Muito obrigado mesmo.

DEDICO

À minha querida esposa e companheira Ana Isabel, que sempre esteve por perto e que me acompanhou em todos os momentos.

Nós dois conquistamos este sonho. Mas tenho certeza que a seu lado não pararemos por aí.....muito pelo contrario, a partir de agora começamos uma nova caminhada para atingir outros desafios e sempre vencê-los.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Dr. Sérgio Fonseca Zaiden, Dra. Cristina Ribeiro Dias Koberstein, Dr. Carlos Alberto Vicentini e Dr. José Augusto Senhorini, constituintes da banca examinadora pelas valiosas sugestões para o melhoramento do trabalho.

Ao Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), pela oportunidade de dar continuidade a minha formação profissional.

Ao Centro de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), por permitir a realização dos experimentos.

À Universidad Nacional de Colombia, por permitir o meu afastamento para a realização dos meus estudos.

Aos professores do CAUNESP pelo ensino recebido.

Ao Doutor José Augusto Senhorini pelo aprendizado e pela valiosa ajuda no desenvolvimento do trabalho, mas principalmente por sua grande amizade e por fazer com que eu estivesse como em casa. A sua querida família, também muito obrigado por me receber na sua casa. Valeu mesmo!

A toda a equipe de trabalho do CEPTA pela ajuda nos experimentos, principalmente ao biólogo Luís Alberto Gaspar "O Gordo"

Ao Senhor Donizetti Aparecido Ribeiro "Piu", por me ensinar as técnicas de análise da água, por permitir o uso do laboratório e até porque sempre tinha cafezinho para oferecer.

À Piscicultura Pirajuba, nas pessoas de Daniel e Betina, pela sua amizade e pela doação dos ovos de pintado e as fêmeas de piracanjuba. Muito obrigado.

Às professoras. Dra. Laura Sakito Okada Nakaghi e Dra. Isabel Cristina Boleli, por permitir utilizar o laboratório e os equipamentos para a medição das larvas.

À professora Dra. Julieta Rodini de Moraes, por permitir o uso do equipamento para fotografar o material.

A Cláudia Aparecida Rodrigues e Antônio Carlos Homem pela ajuda na preparação do material para microscopia eletrônica.

À Damares Percin Roviero, pela amizade e carinho a mim oferecidos.

Ao colega e amigo Mario Fernando Cerón, pela amizade e por me mostrar o caminho nas análises estatísticas.

A toda minha família pela força e apoio constantes; principalmente aos meus pais Miguel e Nelly e meus sogros José e Bertha, que mesmo de longe, me acompanharam neste processo de formação.

Aos amigos Cláudia e Henrique, meus primeiros amigos brasileiros, por me acolher nas suas famílias.

Aos colegas da pós-graduação da turma do ano 2000, principalmente Richard, Carolina e Marcelo Tesser pela convivência e companheirismo durante a época das aulas. A todos os colegas das outras turmas pelos momentos compartilhados.

A minha querida amiga Ana Paula, pela valiosa colaboração nas coletas, mas principalmente pela amizade e porque mesmo nos momentos difíceis sempre teve um sorriso para oferecer.

Aos amigos Flávio e Fabiano, pelos momentos de convivência tanto a nível acadêmico quanto pessoal, pelos bate-papo e até pelas caipirinhas compartilhadas

Aos amigos Camilo e Maurício pela força e pelos momentos compartilhados no final da minha permanência no Brasil.

À galera do futebol, pelos momentos de divertimento.

Aos todos meus colegas do Laboratório de Fisiologia de Peixes, pela convivência durante minha permanência, especialmente ao Gaúcho pela solidariedade e aos seus "filhos japoneses" Márcio e Leonardo pela amizade demonstrada.

Aos funcionários do CAUNESP, pelo carinho e constante colaboração.

A todos aqueles que de uma ou de outra maneira participaram de minha formação, muito obrigado.

ÍNDICE

Capítulo I

Influência da triiodotironina no desenvolvimento inicial e na larvicultura dos peixes

Introdução geral	2
Referências Bibliográficas	9

Capítulo II

Efeito da triiodotironina (T3) no desenvolvimento embrionário e no crescimento inicial das larvas de pintado, *Pseudoplatystoma coruscans*

Resumo	16
Abstract	17
1. Introdução	18
2. Material e métodos	21
3. Resultados	23
4. Discussão	30
Referências Bibliográficas	34

Capítulo III

Influência da triiodotironina (T3) no crescimento e sobrevivência de larvas de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*)

Resumo	40
Abstract	41
1. Introdução	42
2. Material e métodos	44
3. Resultados	46
4. Discussão	50
Referências Bibliográficas	53

Capítulo IV

Participação da triiodotironina (T3) no desenvolvimento inicial da piracanjuba, *Brycon orbignyanus*

Resumo	57
Abstract	58
1. Introdução.....	59
2. Material e métodos.....	61
3. Resultados.....	64
4. Discussão.....	70
Referências Bibliográficas.....	73

Capítulo V**Influência da triiodotironina (T3) no crescimento e sobrevivência das larvas de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)**

Resumo	79
Abstract	80
1. Introdução	81
2. Material e métodos	83
3. Resultados	85
4. Discussão	89
Referências Bibliográficas	92

Capítulo VI**Participação da triiodotironina (T3) no desenvolvimento e crescimento inicial do dourado (*Salminus maxillosus*)**

Resumo	96
Abstract	97
1. Introdução	98
2. Material e métodos	100
3. Resultados	102
4. Discussão	108
Referências Bibliográficas	111

Capítulo VII**Efeito da triiodotironina (T3) na larvicultura do dourado (*Salminus maxillosus*)**

Resumo	116
Abstract	117
1. Introdução	118
2. Material e métodos	120
3. Resultados	122
4. Discussão	127
Referências Bibliográficas	129

Capítulo VIII

Conclusões	134
-------------------------	------------

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DA TRIIODOTIRONINA NO
DESENVOLVIMENTO INICIAL E NA
LARVICULTURA DOS PEIXES

INTRODUÇÃO GERAL

Uma das grandes limitações da piscicultura é a produção de alevinos em larga escala. Embora as técnicas de reprodução induzida já sejam suficientemente conhecidas, o mesmo não acontece na larvicultura, fase onde ainda ocorrem as maiores perdas do processo produtivo. Estas perdas estão associadas principalmente a problemas na alimentação inicial das larvas e, em algumas espécies, ao comportamento agressivo que apresentam logo após a reabsorção do saco vitelino, problemas que devem ser solucionados através da pesquisa aplicada, já que o principal fator limitante a ser vencido na produção de peixes é a obtenção de larvas de boa qualidade (Holmefjord *et al.*, 1993; Tanaka *et al.*, 1995). Não obstante, o desenvolvimento de novas tecnologias em larvicultura ainda é limitado, pois quase todos os trabalhos existentes fazem referência, principalmente, a alimentação inicial das larvas (Atencio-Garcia, 2000; Luz, 2000; Portella *et al.*, 2000; Tesser, 2002), omitindo outros aspectos importantes, como a participação de hormônios no desenvolvimento inicial e na larvicultura, inclusive os hormônios tireoidianos (tiroxina-T4 e triiodotironina-T3), já citados por alguns autores há muito tempo (Gorbman, 1969; Goetz, 1983).

Por outro lado, é bem conhecido que esses hormônios participam no desenvolvimento inicial e na metamorfose de anfíbios e peixes (Nacario, 1983; Tagawa & Hirano, 1991; Weber *et al.*, 1994; de Jesús *et al.*, 1994; Rose, 1995a, b; Mathiyalagan *et al.*, 1996; Youson, 1997; Rollins-Smith, 1998; Manzon *et al.*, 1998; Urbinati, 2002; Liu & Chan, 2002; Gavlik *et al.*, 2002) e que estão presentes desde as primeiras fases de vida de muitas espécies (Tagawa *et al.*, 1990; Kim & Brown, 1997; Liu *et al.*, 2000; Power *et al.*, 2001; Deane & Woo, 2003).

Atualmente, já são mais comuns estudos sobre a participação dos hormônios tireoidianos (HT) no desenvolvimento inicial e na larvicultura dos peixes, mas a maioria dos trabalhos coincide em que ainda falta muita pesquisa para se determinar o seu papel nos processos embrionário e de crescimento inicial das larvas (MacKenzie *et al.*, 1989; Mylonas *et al.*, 1994; Lam, 1994; Wigham *et al.*, 1998; Deane & Woo, 2003), visto que os resultados ainda são controversos.

Por exemplo, enquanto Lam (1994) mencionou que os níveis de hormônios presentes nos ovos podem ser importantes para determinar a sua qualidade, Tagawa & Hirano (1991) reportaram que uma diminuição de até 90% no nível de hormônios tireoidianos nos ovos de *Oryzias latipes* não afetou o desenvolvimento inicial nem a sobrevivência das larvas e que, durante os primeiros 4 dias de vida da espécie, não existe um metabolismo significativo desses hormônios. Contudo, os hormônios tireoidianos presentes nos ovos de peixes podem ter uma função reguladora no desenvolvimento, crescimento e sobrevivência posterior das larvas (Lam, 1995; Hey *et al.*, 1996). Um aspecto importante a se verificar é se o hormônio nas larvas é de origem materna ou se existe produção própria. Lam (1994), afirma que a mãe passa à larva uma quantidade de hormônios tireoidianos, que garantirá o crescimento, desenvolvimento, osmoregulação e resposta ao estresse, e que tanto a T3 como a T4 estão presentes nos ovos dos peixes. Em muitos casos, os níveis vão diminuindo à medida que o indivíduo se desenvolve, durante a reabsorção do saco vitelino. Além disso, conclui que doses baixas de hormônios tireoidianos, seja por imersão ou por injeção na mãe, promovem o crescimento, desenvolvimento e sobrevivência de larvas de vários peixes, e que uma dose alta pode ser contraproducente. Essa observação também foi feita por Nugegoda *et al.* (1994) em larvas de *Lates calcarifer* e por Huang *et al.* (1996), que obtiveram

resultados negativos com o uso do hormônio em *Morone saxatilis*.

Ayson & Lam (1993), trabalhando com *Siganus guttatus*, observaram que os hormônios tireoidianos foram transferidos aos oócitos e posteriormente às larvas, e que as larvas resultantes foram maiores e tiveram melhor sobrevivência nos primeiros 7 dias, levando-os a concluir que estes hormônios têm papel importante durante o desenvolvimento inicial desta espécie. Resultados similares foram reportados por Lam (1995), que trabalhou com ovos de várias espécies de teleósteos marinhos, e por Brown *et al.* (1989) para *Morone saxatilis*.

Em *Oncorhynchus kisutch*, tanto a T3 quanto a T4 estão presentes no vitelo e no corpo dos embriões e o eixo pituitária-tecido tireoidiano está estrutural e funcionalmente intacto antes da reabsorção do saco vitelino (Leatherland & Barret, 1993). Por outro lado, Liu & Chan (2002) encontraram receptores para hormônios tireoidianos nos ovos de *Danio rerio*, e observaram que sua quantidade aumenta a partir da fase de blástula, permanecendo alta até o final da fase. Além disso, observaram que níveis excessivos de tiroxina são tóxicos e podem causar severos defeitos no desenvolvimento dos embriões, concluindo que nos peixes teleósteos a fase embrionária está caracterizada por uma dependência da síntese de hormônios tireoidianos e a concomitante auto-indução de receptores. Resultados similares foram reportados por Liu *et al.* (2000), segundo os quais, a auto-indução dos receptores (α e β) poderia servir como regulador durante o desenvolvimento embrionário e larval. Adicionalmente, esses receptores também foram reportados por Inui *et al.* (1995); Llewellyn *et al.* (1998); Raine & Leatherland (1999); Power *et al.* (2001) e Jones *et al.* (2002) em embriões e larvas de diferentes espécies de peixes, corroborando os resultados obtidos pelos outros pesquisadores.

Sabe-se que os hormônios tireoidianos mediam o desenvolvimento, metamorfose, crescimento e sobrevivência de várias espécies de peixes (Lam, 1994; Schreiber & Specker, 1998, 1999). Yamano *et al.* (1994) observaram que a T4 têm participação importante na metamorfose de *Paralichthys olivaceus*. Na mesma espécie, a T3 induz esse processo, ocorrendo em concentração alta durante essa etapa e decrescendo a seguir (Tagawa *et al.*, 1995). Por outro lado, em *Petromyzom marinus*, a participação destes hormônios é bem diferente que nos outros vertebrados, pois eles têm uma queda drástica no início da metamorfose, um dos raros casos onde os hormônios tireoidianos atuam como inibidores (antagonistas) do processo (Youson, 1997). Porém, eles são importantes, pois essa queda governa o início do processo na espécie (Manzon *et al.*; 1998), tal como acontece em *Lampetra appendix*, na qual os baixos níveis de hormônios tireoidianos são necessários para a metamorfose, embora não consigam disparar o processo por si só (Holmes *et al.* , 1999).

Lam & Sharma (1985) conseguiram melhorar a viabilidade dos ovos e o desenvolvimento, crescimento e sobrevivência das larvas de *Cyprinus carpio* ao utilizar T4, embora os resultados fossem dependentes da salinidade da água. Em *Salvelinus alpinus*, a administração de T3 afetou a transição de neonato a adulto, mas o efeito foi mais evidente dependendo da temperatura da água (Martínez *et al.*, 1995). Em *Sarotherodon mossambicus*, houve um aumento no desenvolvimento e na sobrevivência das larvas tratadas por imersão com 0,1 ppm de T4 (Lam, 1980), enquanto em *Morone saxatilis*, houve aumento na sobrevivência das larvas provenientes de mães injetadas com T3 (Brown *et al.*, 1988). O desenvolvimento e crescimento das larvas de *Carassius auratus* e *Oreochromis mossambicus* também foram acelerados pelos hormônios tireoidianos em tratamentos por imersão (Reddy & Lam, 1992a, b). Estudos com

Hippoglossus stenolepis mostraram que a adição de T3 e T4 na água de cultivo melhorou a sobrevivência das larvas (Stickney & Liu, 1999). Em *Epinephelus coioides*, 0,01 ppm de T3 foi eficiente em acelerar a metamorfose e diminuir a mortalidade das larvas (de Jesus *et al.*, 1998). Os autores deste trabalho sugerem que doses baixas deste hormônio poderiam ser usadas em etapas de desenvolvimento inicial da espécie.

Brown & Kim (1995) e Kim & Brown (1997) demonstraram que a aplicação de T3 e cortisol por imersão, durante 1 hora, acelerava o desenvolvimento do intestino e melhorava a sobrevivência das larvas de *Polidactylus sexfilis* e que ambos os hormônios poderiam estar interagindo, proporcionando uniformidade do lote de larvas e diminuindo o canibalismo. Esses resultados sugerem que a utilização conjunta dos dois hormônios poderia conduzir a melhores resultados que quando utilizadas individualmente. Adicionalmente, Hseu-Jinn *et al.* (2002) observaram que larvas de *Epinephelus lanceolatus* completavam a metamorfose, ao se utilizar T3 ou T3+cortisol; porém ao utilizar unicamente cortisol o processo não era completado, concluindo que os hormônios tireoidianos são o principal regulador da metamorfose da espécie e que o cortisol é ineficaz em promover esta transformação na ausência da T3.

Lam *et al.* (1985) observaram uma marcada aceleração no desenvolvimento e crescimento de *Chanos chanos* tratado por imersão com 0,5 ppm de T4. Em *Ictalurus punctatus*, Phelps & Cyrino (1992) observaram efeito negativo ao utilizar o mesmo hormônio, enquanto que Gavlik *et al.* (2002), ao utilizar tiouréia (TU), observaram diminuição nas taxas de desenvolvimento e crescimento de larvas de *Paralichthys dentatus*. O uso de T4+TU, fez com que estas taxas fossem restauradas. Em ambos os tratamentos, não houve influência na mortalidade, como aconteceu em *Verasper moseri* tratados com diferentes doses de T3, tanto por imersão quanto por injeção nas mães

(Yamanome & Tagawa, 2000).

Tachihara *et al.* (1997) encontraram que a sobrevivência das larvas de *Seriola lalandi* melhorava consideravelmente ao utilizar T3 nas mães, enquanto que Mylonas *et al.* (1994) observaram um efeito negativo na descendência de fêmeas de *Salmo trutta* tratadas com T3, pois as larvas obtidas apresentaram uma alta porcentagem de anormalidades.

Por outro lado, enquanto Hey *et al.* (1996) mostraram que a T3 aumenta o canibalismo das larvas de *Stizostedion vitreum*, Urbinati *et al.* (2002) encontraram maior sobrevivência e redução de canibalismo nas larvas de matrinxã, sob efeito de T3 materno. Estudos recentes têm mostrado efeitos estimulatórios diretos da T3 sobre o desenvolvimento larval de *Brycon cephalus* (Vasques, 2003), embora, em *Leporinus elongatus*, o mesmo tratamento parece induzir respostas opostas (Dumont-Neto, 2000), possivelmente porque o tempo de exposição ao hormônio tenha sido muito longo.

O Brasil é um país privilegiado quanto ao número de espécies piscícolas propícias ao cultivo. Porém, faltam informações confiáveis que possam garantir o sucesso da produção. Dentre as espécies nativas próprias para cultivo, se destacam os carnívoros *Salminus maxillosus* (dourado) e *Pseudoplatystoma coruscans* (pintado), pela excelente qualidade de carne, rápido crescimento, excepcional tamanho e ótima aceitação no mercado. Por outro lado, estão as espécies do gênero *Brycon* muito importantes do ponto de vista comercial (Howes, 1982; Mendonça, 1994), com destaque para a piracanjuba (*Brycon orbignyana*), que apresenta bom crescimento, adaptação ao cativeiro e qualidade de carne (Mendonça & Colares, 1994).

O maior problema encontrado no cultivo das espécies nativas está na larvicultura, devido as altas taxas de mortalidade observadas nas primeiras fases de vida

e ao alto grau de canibalismo apresentado nessa etapa (Castagnolli, 1992; Cecarelli, 1997; Cestarolli *et al.*, 1997; Senhorini, 1999).

Por outro lado, segundo Matsuura (2001), as bacias hídricas no Brasil estão perdendo sua configuração original devido à construção de reservatórios, ações antrópicas à beira dos rios e esgotos domésticos das grandes cidades que estão degradando cada vez mais os ambientes aquáticos continentais. Adicionalmente, a pesca predatória está colocando em perigo de extinção algumas espécies de peixes, dentre as quais se encontram as utilizadas no presente estudo. Na última lista de espécies ameaçadas de extinção no Brasil, publicada no dia 12 de dezembro de 2002, aparecem o dourado e o pintado como espécies vulneráveis, enquanto que a piracanjuba é reportada como criticamente em perigo (Fundação Biodiversitas, 2003).

Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da triiodotironina no desenvolvimento inicial e na larvicultura do pintado, dourado e piracanjuba, três espécies importantes na piscicultura comercial no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATENCIO-GARCIA, V. 2000. Influência da primeira alimentação na alevinagem do yamú *Brycon siebenthalae* (Eigenmann, 1912). Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura. Florianópolis – Sc. 130p.
- AYSON, F. & LAM, J. 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its affect on larval growth and survival. *Aquaculture* 109: 83-93.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., COCHRAN, M. & BERN, H. 1989. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. *Fish. Physiol. Biochem.* 7(1-6): 295-299.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., NUÑEZ, J., HADLEY, C., VANEENENNAAM, J., NISHIOKA, R. & BERN, H. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J. Exp. Zool.* 248: 168-176.
- BROWN, C. & KIM, B. 1995. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. *Aquaculture* 135: 70-86.
- CASTAGNOLLI, N. 1992. Criação de peixes de água doce. Jaboticabal-FUNEP. 189 p.
- CECCARELLI, P. 1997. Canibalismo em larvas de matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências. Botucatu – SP. 92p.
- CESTAROLLI, M., PORTELLA, M. & ROJAS, N. 1997. Efeito do nível de alimentação e do tipo de alimento na sobrevivência e no desempenho inicial de larvas de curimatá *Prochilodus scrofa* (Sterndachner, 1881). *Bol. Inst. Pesca.* 24 (único): 119-129.
- de JESUS, E., HIRANO, T. & INUI, Y. 1994. The antimetamorphic effect of prolactin in the Japanese flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.* 93: 44-50.
- de JESUS, E., TOLEDO, J. & SIMPAS, M. 1998. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.* 112: 10-16.
- DEANE, E. & WOO, N. 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. *Life. Sci.* 72: 805-818.
- DUMONT-NETO, R. 2000. Efeito da triiodotironina no desenvolvimento inicial de piau verdadeiro (*Leporinus elongatus*), adicionada nos ovos por hidratação, durante a fertilização. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 31p.

- FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br>>. Acesso em: 21 jan. 03.
- GAVLIK, S., ALBINO, M. & SPECKER, J. 2002. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. *Aquaculture* 203: 359-373.
- GOETZ, F. 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. In: *Fish physiology*. Academic Press. New York. v. IX. part. B. p.117-170.
- GORBMAN, A. 1969. Thyroid function and its control in fishes. In: *Fish Physiology*. Academic Press. New York. v. II.
- HEY, J., FARRAR, E., BRIAN, T., BRISTOW, C., STETTNER & SUMMERFELT, R. 1996. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *J. World. Aquac. Soc.* 27(1): 40-51.
- HOLMEFJORD, I., GULBRANDSEN, J., LEIN, I., REFSTIE, T., LÉGER, P., HARBOE, T., HUSE, I., SORGELOOS, P., BOLLA, S., OLSEN, Y., REITAN, K., VADSTEIN, O., ØIE, G. & DANIELSBERG, A. 1993. An intensive approach to Atlantic halibut fry production. *J. World Aquac. Soc.* 24(2): 275-284.
- HOLMES, J., CHU, H., KHANAM, S., MANZON, R. & YOUSON, J. 1999. Spontaneous and induced metamorphosis in the American brook lamprey, *Lampetra appendix*. *Can. J. Zool.* 77: 959-971.
- HOWES, G. 1982. Review of genus *Brycon* (Teleostei-Characoidei). *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. Zool.* 43(1): 1-47.
- HSEU-JINN, K., CHANG, H. & TING, Y. 2002. Inducing effects of hormones in metamorphosis arrested grouper larvae. *J. Fish. Soc. Taiwan.* 29(1): 79-83.
- HUANG, L., SPECKER, J. & BENGTON, D. 1996. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish. Physiol. Biochem.* 15(1): 57-64.
- INUI, Y., YAMANO, K. & MIWA, S. 1995. The role thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. *Aquaculture* 135: 87-98.
- JONES, I., ROGERS, S., KILLE, P. & SWEENEY, G. 2002. Molecular cloning expression of thyroid hormone receptor alpha during salmonid development. *Gen. Comp. Endocrinol.* 125: 226-235.
- KIM, B. & BROWN, C. 1997. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of pacific threadfin. *Amer. Zool.* 37: 470-481.
- LAM, J. 1995. Eggs in fish: are hormones involved? *Aquaculture* 135(1-3): 74.
- LAM, J. 1994. Hormones and eggs/larval quality in fish. *J. World. Aquac. Soc.* 25(1): 2-12.

- LAM, J., JUARIO, J. & BANNO, J. 1985. Effect of thyroxine on growth and development in post-sac larvae of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 46: 179-184.
- LAM, J. & SHARMA, R. 1985. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 44: 201-212.
- LAM, J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (Tilapia) *mossambicus*. *Aquaculture* 21: 287-291.
- LEATHERLAND, J. & BARRETT, S. 1993. 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. Physiol. Biochem.* 12(2): 149-159.
- LIU, Y. & CHAN, W. 2002. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation* 70: 36-45.
- LIU, Y., LO, L., & CHAN, W. 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. Cell. Endocrinol.* 159: 187-195.
- LLEWELLYN, L., RAMSURN, V., SWEENEY, G., WIGHAM, T. & POWER, D. 1998. Expression thyroid hormone receptor during early development of the sea bream (*Sparus aurata*). *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 839: 610-611.
- LUZ, R. 2000. Larvicultura do mandi amarelo *Pimelodus maculatus* (Lacèpède 1803): Desenvolvimento embrionário, larval e primeira alimentação. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura. Florianópolis – Sc. 47p.
- MACKENZIE, D., THOMAS, P., & FARRAR, S. 1989. Seasonal changes in thyroid and reproductive steroid hormones in female channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in pond culture. *Aquaculture* 78: 63-80.
- MANZON, R., EALES, G. & YOUSON, J. 1998. Blocking of KClO₄- induced metamorphosis in premetamorphic sea lampreys by exogenous thyroid hormones (TH); effects of KClO₄ and TH on serum TH concentrations and intestinal thyroxine outer-ring deiodination. *Gen. Comp. Endocrinol.* 112: 54-62.
- MARTINEZ, I., DREYER, B., AGERSBORG, A., LEROUX, A., & BOEUF, G. 1995. Effects of T₃ and rearing temperature on growth and skeletal myosin heavy chain isoform transition during early development in the salmonid *Salvelinus alpinus* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 112B(4): 717-725.
- MATHIYALAGAN, A., REDDY, A., & LAM, T. 1996. Effects of cortisol on growth and development in tilapia larvae, *Oreochromis mossambicus*. *Fish. Physiol. Biochem.* 15(6): 453-458.

- MATSUURA, Y. 2001. In: Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação. Editora Universidade Estadual de Maringá. p. xv-xvi.
- MENDONÇA, J. 1994. Criação de espécies do gênero *Brycon* no CEPTA/IBAMA. In: Anais do I seminário sobre criação de espécies do gênero *Brycon*, Pirassununga – SP : CEPTA.
- MENDONÇA, J. & COLARES, J. 1994. In: Anais do I seminário sobre criação de espécies do gênero *Brycon*, Pirassununga – SP : CEPTA. 82p.
- MYLONAS, C., SULLIVAN, C., & HINSHAW, J. 1994. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish. Physiol. Biochem.* 13 (6): 485-493.
- NACARIO, J. 1983. The effect of thyroxine on larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (*Tilapia nilotica*). *Aquaculture* 34: 73-83.
- NUGEGODA, D., WALFORD, J. & LAM, J. 1994. Thyroid hormones in the early development of seabass (*Lates calcarifer*) larvae. *J. Aquac. Trop.* 9(9): 279-290.
- PHELPS, R. & CYRINO, J. 1992. The influence of thyroxine and triiodothyronine on the development of channel catfish fry. Encontro Nacional de Aqüicultura. VII SIMBRAQ e II EMBRAPOA. Peruibe, SP. p.112-115.
- PORTELLA, M., VERANI, J. & CESTAROLLI, M. 2000. 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. *J. Aquac. Trop.* 15(1): 45-58.
- POWER, D., LLEWELLYN, L., FAUSTINO, M., NOWELL, M., BJÖRNSSON, B., EINARSDOTTIR, I., CANARIO, A. & SWEENEY, G. 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp. Biochem. Physiol. part C.* 130: 447-459.
- RAINE, J. & LEATHERLAND, J. 1999. Ontogeny of thyroid tissue and tissue thyroid hormone clearance in rainbow trout embryos reared at two temperatures. *Fish. Physiol. Biochem.* 20: 209-217.
- REDDY, P. & LAM, J. 1992a. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 107: 383-394.
- REDDY, P. & LAM, J. 1992b. Role of thyroid hormones in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*) 1: Effects of the hormones and an antithyroid drug on yolk absorption, growth and development. *Fish. Physiol. Biochem.* 9: 473-485.
- ROLLINS-SMITH, L. 1998. Metamorphosis and the amphibian immune system. *Immunol Rev.* 166: 221-230.
- ROSE, C. 1995a. Skeletal morphogenesis in the urodele skull: II. Postembryonic development in the hemidactyliini (Amphibia: Plethodontidae). *J. Morphol.* 223: 149-166.

- ROSE, C. 1995b. Skeletal morphogenesis in the urodele skull: I. Effect of development stage in thyroid hormone-induced remodeling. *J. Morphol.* 223: 125-148.
- SCHREIBER, A. & SPECKER, J. 1998. Metamorphosis in summer flounder (*Paralichthys dentatus*): stage-specific developmental response to altered thyroid status. *Gen. Comp. Endocrinol.* 111: 156-166.
- SCHREIBER, A. & SPECKER, J. 1999. Early larval development and metamorphosis in the summer flounder: changes in per cent whole-body water content and effects of altered thyroid status. *J. Fish. Biol.* 55: 148-157.
- SENHORINI, J. 1999. Biologia larval do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) e da piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae) em viveiros. Tese, Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP 101 p.
- STICKNEY, R. & LIU, H. 1999. Maintenance of broodstock, spawning, and early larval rearing of pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. *Aquaculture* 176 (1-2): 75-86.
- TACHIHARA, K., EL-ZIBDEH, M., 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. & HIRANO, T. 1991. Effects of thyroid hormone deficiency in eggs early development of the medaka, *Oryzias latipes*. *J. Experim. Zool.* 257: 360-366.
- TAGAWA, M., de JESUS, E. & HIRANO, T. 1995. The thyroid hormone monodeiodinase system during flounder metamorphosis. *Aquaculture* 135: 127-129.
- TAGAWA, M., MIWA, S., INUI, Y., de JESUS, E. & HIRANO, T. 1990. Changes in thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis of the flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.* 7: 7-96.
- TANAKA, M., TANANGONAN, J., TAGAWA, M., de JESUS, E., NISHIDA, H., ISAKA, M. KIMURA, R. & HIRANO, T. 1995. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture* 135: 111-126.
- TESSER, M. 2002. Desenvolvimento do trato digestório e crescimento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) em sistemas de co-alimentação com náuplios de *Artemia* e dieta microencapsulada. Dissertação Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 59 p.
- URBINATI, E. C., SOARES, M. F. & SENHORINI, J. A. 2002. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae). *J. Aquac. Trop.* (in press).

- URBINATI, E. C. 2002. Estudos hormonais e metabólicos em peixes. Livre docência, Universidade Estadual Paulista, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal. Jaboticabal – SP. 166p.
- VASQUES, L. H. 2003. Participação do hormônio triiodotironina (T_3) no desenvolvimento inicial do matrinxã (*Brycon cephalus*). Tese, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 142p.
- WEBER, G., FARRAR, E., TOM, C & GRAU, E. 1994. Changes in whole-body thyroxine and triiodothyronine concentrations and total content during early development and metamorphosis of the toad *Bufo marinus*. Gen. Comp. Endocrinol. 94: 62-71.
- WIGHAM, T., POWER, D. & SWEENEY, G. 1998. The role of thyroid hormones and their receptors in development and growth of the sea bream: a molecular biological approach. Third European Marine Science and Technology Conference. p. 78-80.
- YAMANO, K., TAKANO-OHMURO. H. & OBINATA, T. 1994. Effect of thyroid hormone on developmental transition of myosin light chains during flounder metamorphosis. Gen. Comp. Endocrinol. 93 (3): 321-326.
- YAMANOME, T. & TAGAWA, M. 2000. Enrichment of 3,5,3'- triiodothyronine (T_3) in eggs by maternal implantation of T_3 and T_3 immersion of fertilized eggs in barfin flounder *Verasper moseri*. Bull Iwate Prefect fish technol cent. 2: 21-27.
- YOUSON, J. 1997. Is lamprey metamorphosis regulated by thyroid hormones? Amer. Zool. 37: 441-460.

CAPÍTULO II

EFEITO DA TRIIODOTIRONINA (T3) NO
DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E
NO CRESCIMENTO INICIAL DAS LARVAS
DE PINTADO, *Pseudoplatystoma coruscans*

RESUMO

Este trabalho investigou o efeito da triiodotironina (T_3) aplicada na água de hidratação dos ovos no desenvolvimento embrionário e no crescimento inicial das larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans*. O estudo foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, e na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.

Foram utilizados ovos recém fertilizados de pintado, que foram divididos em seis alíquotas e hidratados em diferentes soluções de T_3 , constituindo os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm. Após 15 minutos, os ovos foram lavados e incubados em caixas plásticas com aeração e fluxo contínuo de água. Para a análise morfológica, os ovos foram coletados logo após a fertilização e a cada 30 minutos até a hora 6; posteriormente a cada 2 horas até a eclosão das larvas. Quanto às larvas, foram coletadas a cada 12 horas até a hora 72 e posteriormente a cada 24 horas até a hora 168, para medição de peso, comprimento e cálculo do volume do saco vitelino. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%). A análise foi feita no aplicativo SAS v.8.

Os resultados mostraram que a triiodotironina não afetou o desenvolvimento embrionário, em nenhuma das concentrações utilizadas. Quanto ao crescimento, constatou-se que a partir de 120 horas, ele era maior em peso, e a partir de 144 horas em comprimento, nas larvas provenientes de ovos expostos ao hormônio, especialmente nas doses 0,1; 0,5 e 1 ppm. Porém, na última amostragem (168 horas) não houve diferenças no comprimento. Quanto ao volume do saco vitelino, observou-se, na eclosão (0 horas), volumes menores em larvas dos tratamentos em que os ovos foram expostos à concentrações mais altas (0,1; 0,5 e 1 ppm), mas essa diferença só se tornou mais evidente na hora 48, última observação da presença desta estrutura.

Concluindo, pode-se afirmar que a triiodotironina, nas doses e da forma como foi aplicada neste experimento, não teve efeito no desenvolvimento embrionário do pintado, porém afetou o crescimento inicial das larvas e a reabsorção do saco vitelino.

ABSTRACT

This study investigated the effect of triiodothyronine (T_3) applied to pintado *Pseudoplatystoma coruscans* eggs on the embryo development and initial growth of larvae. The work was conducted at Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, and at Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

Fertilized eggs were divided in 6 portions and immersed for 15 min in different solutions of T_3 , forming the treatments: T1-no hormone; T2-0.01 ppm; T3-0.05 ppm; T4-0.1 ppm; T5-0.5 ppm and T6-1 ppm. After immersion, eggs were washed and incubated in plastic boxes. For the morphological analysis, eggs were collected after fertilization and at each 30 min until hour 6, and following at each 2 h until the hatching. Larvae were sampled at each 12 h until hour 72 and at 24 h until hour 168, for the weight and length determination and yolk sac volume calculation. The results were subjected to ANOVA and means compared to Tukey test (5%).

The results showed that triiodothyronine did not affect the embryo development in any concentration tested. Regarding growth, it was higher in weight since hour 120 and in length after hour 144 in larvae produced by eggs exposed to hormone, especially in doses 0.1; 0.5 and 1 ppm. At the last sampling (hour 168) there were no differences in length. At the hatching, the volume of yolk sac was lower in larvae from eggs exposed to the highest concentrations (0.1; 0.5 and 1 ppm), but the difference became more evident only at hour 48, when the structure was seen for the last time.

Concluding, triiodothyronine, in the doses and application method utilized, did not affect the embryo development of pintado but stimulated the initial growth of larvae besides to accelerate the yolk sac resorption.

1. INTRODUÇÃO

Está comprovado que os hormônios tireoidianos, tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), têm participação direta no desenvolvimento inicial e na metamorfose de anfíbios e peixes (Nacario, 1983; Tagawa & Hirano, 1991; Weber *et al.*, 1994; de Jesús *et al.*, 1994; Rose, 1995a, b; Mathiyalagan *et al.*, 1996; Schmidt-Nielsen, 1997; Youson, 1997; Rollins-Smith, 1998; Manzon *et al.*, 1998; Schreiber & Specker, 1998, 1999; Nayak *et al.*, 2000a, b; Urbinati, 2002; Liu & Chan, 2002; Gavlik *et al.*, 2002) e que estão presentes desde as primeiras fases de vida de muitas espécies (Tagawa *et al.*, 1990; Kim & Brown, 1997; Liu *et al.*, 2000; Power *et al.*, 2001; Deane & Woo, 2003).

Esses hormônios estão presentes nos ovos de peixes e parecem ter função reguladora no desenvolvimento, crescimento e sobrevivência posterior das larvas (Lam, 1994, 1995; Hey *et al.*, 1996; Tagawa & Brown, 2001). Por exemplo, em *Oncorhynchus kisutch*, a T3 e a T4 estão presentes no vitelo e no corpo dos embriões e seus níveis podem variar segundo o grau de desenvolvimento (Leatherland & Barret, 1993). Além disso, existem receptores para hormônios tireoidianos nos ovos de *Danio rerio*, os quais estão presentes desde a blástula. Esses receptores, junto com a síntese de hormônios tireoidianos, participam da regulação do desenvolvimento embrionário e larval dos peixes teleósteos (Liu *et al.*, 2000; Liu & Chan, 2002).

Lam *et al.* (1985) observaram que o desenvolvimento e crescimento de *Chanos chanos* foi mais rápido quando foram imersos em solução com 0,5 ppm de T4. Em *Paralichthys olivaceus*, foi observada uma participação importante da T3 e T4 na metamorfose (Yamano *et al.*, 1994; Tagawa *et al.*, 1995). Em *Epinephelus coioides*, 0,01 ppm de T3 foi eficiente para acelerar a metamorfose e diminuir a mortalidade das

larvas. Segundo de Jesus *et al.* (1998), doses baixas deste hormônio poderiam ser usadas em etapas de desenvolvimento inicial da espécie. Numa espécie parecida, *Epinephelus lanceolatus*, Hseu-Jinn *et al.* (2002) observaram que a metamorfose era completada ao se tratar as larvas com T3 ou T3+cortisol, e que ao utilizar só cortisol o processo não era concluído. Esta observação sugeriu que os hormônios tireoidianos regulam a metamorfose dessa espécie. Do mesmo modo, foi demonstrado que a aplicação de T3 e cortisol acelerava o desenvolvimento do intestino e melhorava a sobrevivência das larvas de *Polidactylus sexfilis* e que ambos os hormônios poderiam estar interagindo no desenvolvimento da espécie (Brown & Kim, 1995; Kim & Brown, 1997).

Contudo, a ação dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento inicial de peixes nativos é pouco estudada e ainda existem muitas dúvidas sobre sua verdadeira participação no processo.

Por outro lado, o estudo do desenvolvimento inicial das espécies e sua descrição embriológica é muito importante, pois pode fornecer ferramentas para o conhecimento biológico das espécies que poderiam ser de utilidade na aquicultura (Pinto & Castagnolli, 1984; Matkovic *et al.*, 1985; Alves & Moura, 1992). No entanto, embora vários pesquisadores tenham estudado o desenvolvimento inicial de algumas espécies nativas (Luz, 2000), a maioria das informações encontra-se dispersa, incompleta ou é de difícil acesso (Nakatani *et al.*, 2001).

O pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) é um siluriforme distribuído nas bacias Amazônica, de São Francisco e do Prata (Fowler, 1951, citado por Nakatani *et al.*, 2001), de grande interesse na aquicultura brasileira por possuir carne de excelente qualidade e alto valor comercial, razão pela qual vêm sofrendo pesca predatória, com uma gradativa diminuição nos estoques naturais (Giaquinto, 2001). Por esta razão, esta

espécie está classificada como vulnerável à extinção (Fundação Biodiversitas, 2003).

O presente estudo teve como objetivo estudar a participação da triiodotironina (T3) no desenvolvimento inicial do pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), uma das espécies mais promissórias dentro da piscicultura brasileira.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

O trabalho foi desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, na Piscicultura Pirajuba (Porto Ferreira) e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), câmpus de Jaboticabal.

2.2 Material biológico e tratamentos

Foram utilizados ovos e larvas de *Pseudoplatystoma coruscans*, provenientes de reprodução induzida com extrato de pituitária de carpa (EPC). Os ovos recém fertilizados foram divididos em seis alíquotas para serem hidratados durante 15 minutos nas seguintes soluções (tratamentos): T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm de T₃. Previamente, a T₃ foi diluída em di-metil-sulfóxido (DMSO) segundo a metodologia de Brown *et al.* (1988). Após a hidratação, os ovos foram lavados com água corrente e transferidos para incubadoras com fluxo contínuo de água e aeração constante, numa temperatura média de $26,5 \pm 0,38^{\circ}\text{C}$. As larvas obtidas foram mantidas uma semana nas incubadoras, sendo alimentadas sete vezes por dia com náuplios de *Artemia salina*.

2.3 Coleta e preservação do material

Vinte ovos de cada tratamento foram coletados logo após a fertilização e posteriormente a cada 30 minutos até a hora 6 e depois a cada 2 horas até a eclosão. Quanto às larvas, foram coletadas a cada 12 horas até a hora 72 e posteriormente a cada 24 horas até a hora 168. Todo o material foi fixado em glutaraldeído 2,5%, lavado e mantido a 4°C em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH=7,4) para posterior análise.

2.4 Análise e processamento do material

A observação da morfologia externa dos ovos e embriões foi realizada depois do rompimento do cório, em um microscópio estereoscópico Karl Zeiss[®], com câmara fotográfica. As larvas foram medidas em microscópio estereoscópico com ocular micrométrica e pesadas em balança analítica Sartorius[®], com precisão de 0,01 mg. Para o cálculo do volume do saco vitelino foi utilizada a equação de Blaxter & Hempel (1963), citada por Lein *et al.* (1997).

Adicionalmente, outras larvas foram posfixadas com tetróxido de ósmio (1%), desidratadas em séries crescentes de álcool etílico, secas com CO₂ em secador de ponto crítico Tousimis[®] 780A, metalizadas com ouro em metalizador Jeol[®] JFC1100 e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura Jeol[®] JSM5410, utilizando filme Kodak[®] TMAX120.

2.5 Análise estatística

Os resultados de desenvolvimento inicial não receberam tratamento estatístico. Já os de peso, comprimento e volume do saco vitelino das larvas foram submetidos a análise de variância e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). A análise foi feita no aplicativo SAS v.8.

3. RESULTADOS

A triiodotironina não afetou o desenvolvimento embrionário, em nenhuma das concentrações utilizadas. Este fato foi comprovado pela observação de, no mínimo, 20 ovos ou embriões de cada um dos tratamentos, em todos os estágios de desenvolvimento, sendo evidente uma semelhança no desenvolvimento de todos eles. A única diferença aparente foi no tempo de eclosão que variou de 16 horas e 45 minutos no tratamento 4 (0,1 ppm) a 17 horas no tratamento 1 (0 ppm). De maneira ilustrativa, o desenvolvimento da espécie é apresentado a seguir.

Os ovos recém fertilizados eram telolécitos e apresentavam uma camada gelatinosa envolvendo todo o ovo, que foi mantida durante todo o desenvolvimento. A coloração dos ovos era amarela clara e o diâmetro médio de $0,96 \pm 0,11$ mm (n=200). A segmentação era meroblástica e discoidal, podendo-se observar o aumento no número de blastômeros em decorrência dos primeiros planos de clivagem culminando com o estabelecimento da blástula (Figuras 1a, 1b, 1c). Na hora 3, foi identificada a fase de gastrulação com o início do espessamento da blastoderme originando o anel embrionário que através do movimento de epibolia motivou as células da blastoderme a

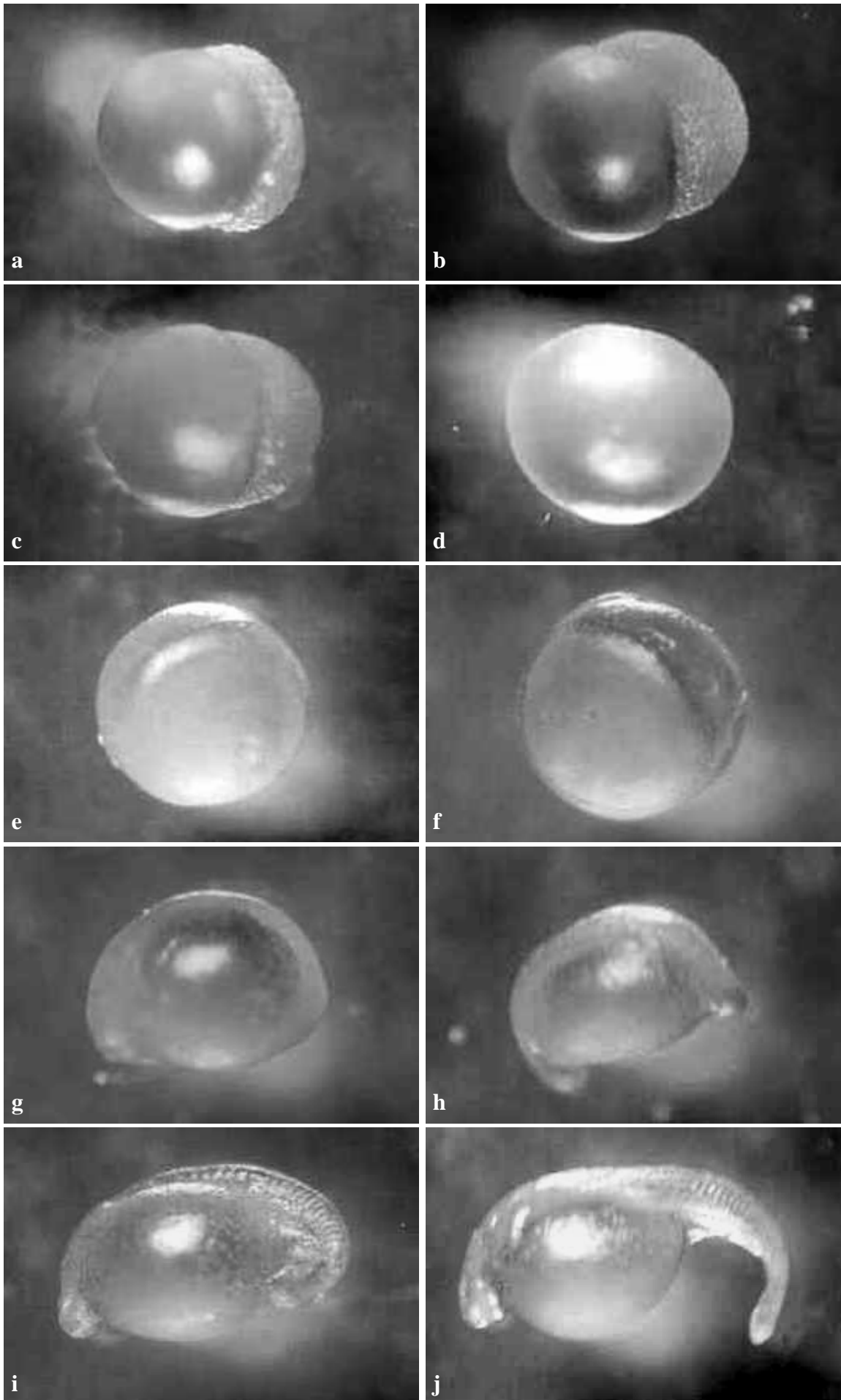


Figura 1. Desenvolvimento embrionário de *Pseudoplatystoma coruscans*

- a. Fase de segmentação. 1 h. e 30 min. após fertilização (50X)
- b. Fase de segmentação. 2 h. após fertilização (50X)
- c. Fase de segmentação. 2 h. e 30 min. após fertilização (50X)
- d. Fase de gastrulação inicial. 3 h. após fertilização (40X)
- e. Fase de gastrulação intermediária. 3 h. e 30 min. após fertilização (50X)
- f. Fase de gastrulação final. 4 h. após fertilização (50X)
- g. Embrião com 8 h. após fertilização (40X)
- h. Embrião com 10 h. após fertilização (40X)
- i. Embrião com 12 h. após fertilização (40X)
- j. Embrião com 14 h. após fertilização (50X)

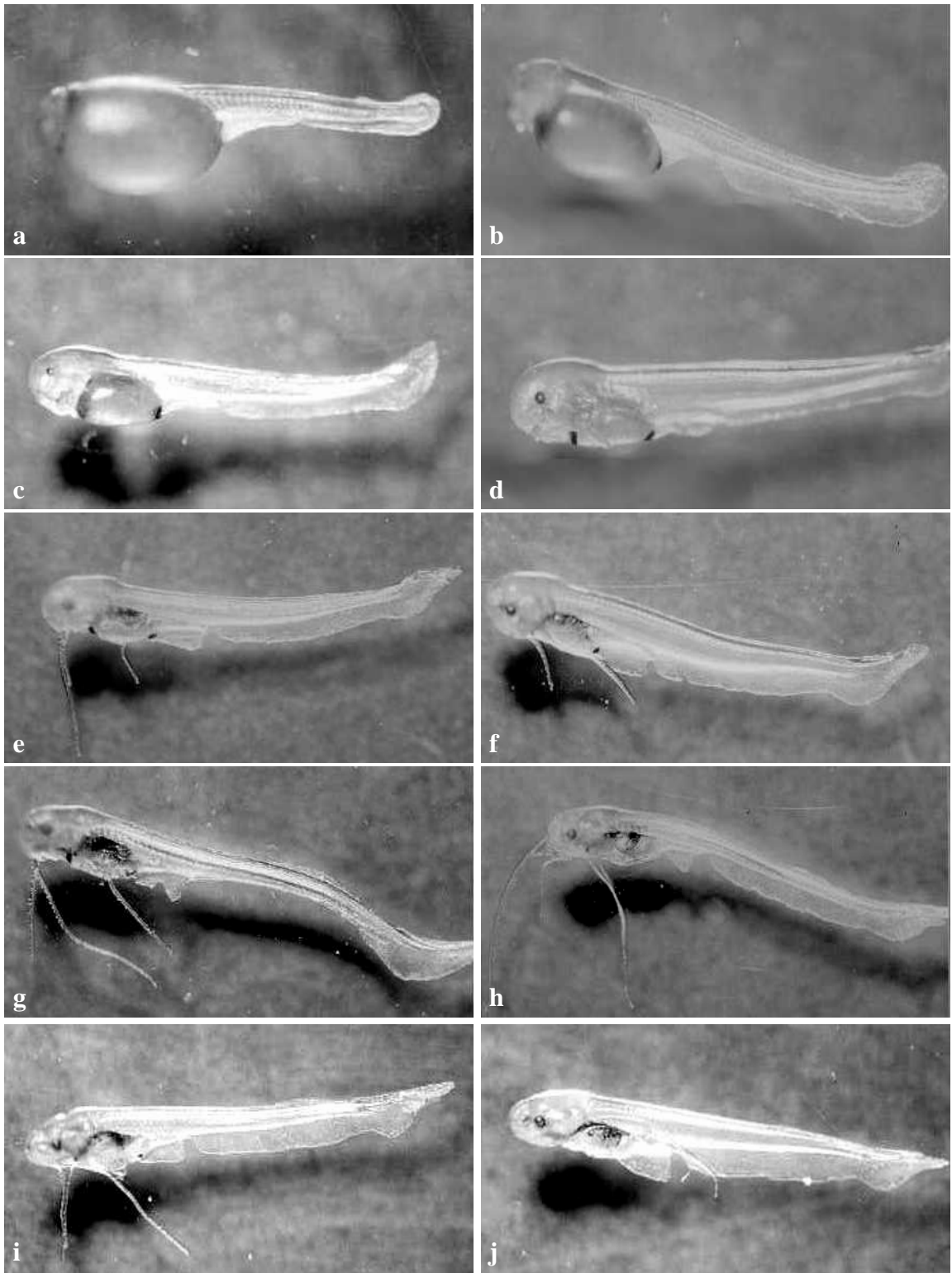


Figura 2. Desenvolvimento larval de *Pseudoplatystoma coruscans*

- a. Larva recém eclodida (40X)
- b. Larva com 12 h. após a eclosão (32X)
- c. Larva com 24 h. após a eclosão (25X)
- d. Larva com 36 h. após a eclosão (25X)
- e. Larva com 48 h. após a eclosão. Reabsorção do saco vitelino (20X)
- f. Larva com 60 h. após a eclosão (20X)
- g. Larva com 72 h. após a eclosão (25X)
- h. Larva com 96 h. após a eclosão (20X)
- i. Larva completamente desenvolvida. 120 h. após a eclosão (20X)
- j. Larva com 144 h. após a eclosão (20X)

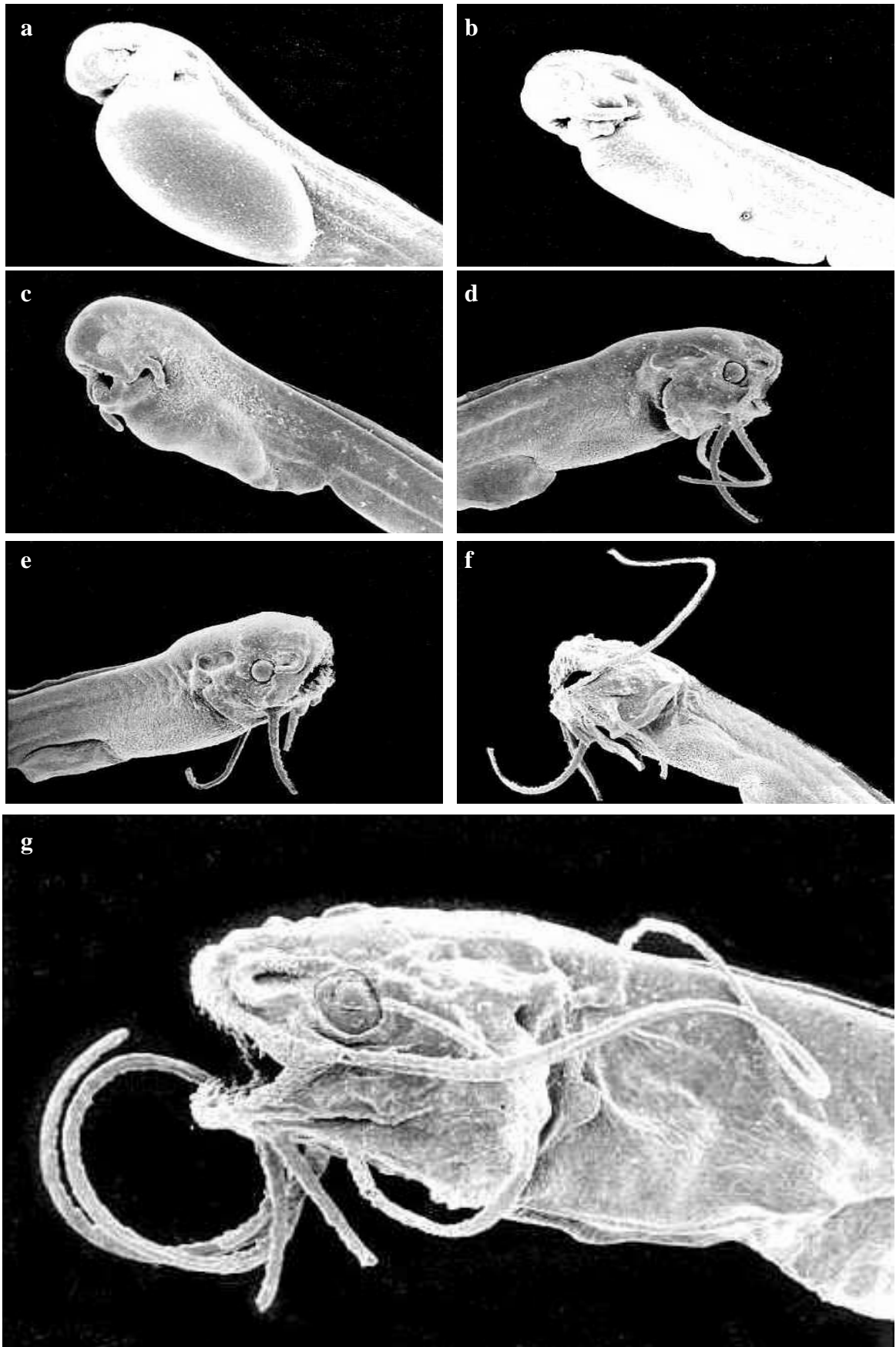


Figura 3. Desenvolvimento bucal de *Pseudoplatystoma coruscans*

- a. Vestígio da boca. 12 h. após a eclosão (350X)
- b. Início da abertura bucal. 24 h. após a eclosão (262X)
- c. Vestígio do primeiro par de barbilhões. 36 h. após a eclosão (262X)
- d. Aparecimento do segundo par de barbilhões. 48 h. após a eclosão (262X)
- e. Maior abertura bucal; presença de dentes. 60 h. após a eclosão (262X)
- f. Aparecimento do terceiro par de barbilhões. 72 h. após a eclosão (262X)
- g. Completo desenvolvimento da boca (525X)

se moverem sobre a superfície do vitelo na direção do polo vegetativo (Figura 1d). O movimento continuou (Figuras 1e, 1f) até o fechamento do blastóporo que é a abertura do intestino primitivo (5 horas após fertilização). Observando-se, o final da gastrulação e o começo da organogênese com contorno do embrião se estabelecendo e razoavelmente distinto em seu aspecto dorsal. Na hora 8, se observou um embrião (Figura 1g), sendo possível identificar os primeiros pares de somitos e foi evidente o início da formação do botão caudal que continuou com crescimento posterior assim como a região cranial ou cefálica. A utilização metabólica do vitelo e sua conseqüente diminuição em quantidade, comprimiram o saco vitelino que diminuiu em comprimento evidenciando as dobras subcefálica e subcaudal dando a forma corporal do embrião inicial, no qual o saco vitelino, ainda continuou como estrutura extremamente evidente. A partir daí, o embrião continuou a crescer (Figura 1h), começando a desprender a cauda na hora 12 (Figura 1i). Na hora 14, a cauda já estava livre (Figura 1j) e a região da cabeça ampliou-se algumas vezes indicando prolongamento do futuro cérebro e especialização para órgãos dos sentidos que irão se originar a medida do desenvolvimento como olhos, narinas e barbilhões. Finalmente, próximo da hora 17 ocorreu a eclosão (Figura 2a), com as larvas pesando $0,29 \pm 0,07$ mg e medindo $2,56 \pm 0,14$ mm.

Na figura 2, pode-se observar o desenvolvimento completo das larvas, que, na hora 48, ainda apresentavam um pequeno saco vitelino (figura 2e), o qual desapareceu por completo na hora 60 (Figura 2f). Na hora 120, a larva já estava completamente desenvolvida (Figura 2j) com peso de $0,55 \pm 0,08$ mg e comprimento $6,41 \pm 0,17$ mm. No final do experimento (hora 168), as larvas pesavam $0,70 \pm 0,12$ mg e mediam $6,95 \pm 0,14$ mm. A Figura 3 apresenta o desenvolvimento da boca das larvas, podendo-se notar

a abertura bucal e o aparecimento progressivo dos barbilhões (Figuras 3a, 3b, 3c, 3d, 3e). Na hora 72, havia 3 pares de barbilhões, 2 mentonianos e 1 maxilar (Figura 3 f). O desenvolvimento completo ocorreu na hora 120, com presença de dentes que parecem estar voltados para trás indicando capacidade para morder e prender a presa. Observou-se também desenvolvimento dos olhos e narinas (Figura 3g).

Por outro lado, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, constata-se que a partir da hora 120, já se observa crescimento maior em peso, e a partir da hora 144 em comprimento, em larvas provenientes de ovos expostos ao hormônio, especialmente nas doses 0,1; 0,5 e 1 ppm. Porém, na última amostragem (hora 168), não há diferenças no comprimento.

Quanto ao volume do saco vitelino, observa-se, na eclosão (hora 0), volumes menores em larvas dos tratamentos em que os ovos foram expostos à concentrações mais altas (0,1; 0,5 e 1 ppm), mas essa diferença só se torna mais evidente na hora 48, última observação da presença desta estrutura.

Tabela 1. Médias \pm desvio padrão do peso (mg), comprimento (mm) e volume do vitelo (mm^3) de larvas de pintado em diferentes tempos de cultivo.

T3 (ppm)	Tempo de cultivo (horas)											
	0	12	24	36	48	60	72	96	120	144	168	
Peso (mg)	0	0,18 \pm 0,02 ^d	0,21 \pm 0,03 ^b	0,33 \pm 0,01 ^{ab}	0,34 \pm 0,01 ^{ab}	0,46 \pm 0,01 ^a	0,45 \pm 0,03 ^a	0,37 \pm 0,06 ^a	0,44 \pm 0,03 ^a	0,49 \pm 0,04 ^b	0,49 \pm 0,05 ^b	0,61 \pm 0,04 ^{bc}
	0,01	0,25 \pm 0,02 ^{cd}	0,30 \pm 0,01 ^a	0,28 \pm 0,02 ^b	0,38 \pm 0,02 ^{ab}	0,47 \pm 0,03 ^a	0,49 \pm 0,01 ^a	0,43 \pm 0,04 ^a	0,37 \pm 0,05 ^a	0,47 \pm 0,03 ^b	0,43 \pm 0,06 ^b	0,62 \pm 0,04 ^{bc}
	0,05	0,32 \pm 0,01 ^{abc}	0,27 \pm 0,02 ^{ab}	0,36 \pm 0,02 ^a	0,33 \pm 0,02 ^b	0,44 \pm 0,01 ^a	0,53 \pm 0,04 ^a	0,42 \pm 0,03 ^a	0,38 \pm 0,03 ^a	0,47 \pm 0,04 ^b	0,45 \pm 0,08 ^b	0,55 \pm 0,06 ^c
	0,10	0,36 \pm 0,01 ^a	0,27 \pm 0,01 ^{ab}	0,35 \pm 0,01 ^{ab}	0,35 \pm 0,01 ^{ab}	0,43 \pm 0,03 ^a	0,50 \pm 0,02 ^a	0,40 \pm 0,02 ^a	0,44 \pm 0,02 ^a	0,63 \pm 0,02 ^a	0,65 \pm 0,06 ^{ab}	0,78 \pm 0,04 ^{ab}
	0,50	0,33 \pm 0,02 ^{ab}	0,31 \pm 0,02 ^a	0,29 \pm 0,02 ^{ab}	0,39 \pm 0,03 ^{ab}	0,36 \pm 0,05 ^a	0,47 \pm 0,04 ^a	0,39 \pm 0,04 ^a	0,43 \pm 0,03 ^a	0,58 \pm 0,04 ^b	0,62 \pm 0,07 ^{ab}	0,76 \pm 0,04 ^{ab}
	1,00	0,27 \pm 0,02 ^{bc}	0,32 \pm 0,01 ^a	0,30 \pm 0,01 ^{ab}	0,41 \pm 0,01 ^a	0,41 \pm 0,02 ^a	0,55 \pm 0,04 ^a	0,46 \pm 0,04 ^a	0,45 \pm 0,02 ^a	0,63 \pm 0,03 ^a	0,73 \pm 0,04 ^a	0,85 \pm 0,05 ^a
CV (%)	6,39	6,95	5,62	4,93	6,65	6,18	9,52	7,36	6,20	10,52	6,49	
Comp. (mm)	0	2,69 \pm 0,01 ^a	3,33 \pm 0,04 ^a	3,98 \pm 0,03 ^a	4,50 \pm 0,03 ^a	5,14 \pm 0,01 ^a	5,63 \pm 0,04 ^a	6,07 \pm 0,03 ^a	6,04 \pm 0,09 ^a	6,32 \pm 0,10 ^a	6,30 \pm 0,05 ^c	6,95 \pm 0,08 ^a
	0,01	2,62 \pm 0,01 ^{ab}	3,48 \pm 0,06 ^a	3,15 \pm 0,11 ^a	4,59 \pm 0,09 ^a	5,16 \pm 0,05 ^a	5,70 \pm 0,11 ^a	6,02 \pm 0,06 ^a	6,06 \pm 0,11 ^a	6,22 \pm 0,08 ^a	6,35 \pm 0,06 ^{bc}	6,79 \pm 0,16 ^a
	0,05	2,58 \pm 0,01 ^{ab}	3,33 \pm 0,06 ^a	3,88 \pm 0,14 ^a	4,64 \pm 0,09 ^a	5,18 \pm 0,05 ^a	5,59 \pm 0,06 ^a	5,96 \pm 0,08 ^a	6,30 \pm 0,11 ^a	6,24 \pm 0,10 ^a	6,31 \pm 0,07 ^c	6,79 \pm 0,19 ^a
	0,10	2,37 \pm 0,08 ^b	3,40 \pm 0,13 ^a	3,98 \pm 0,13 ^a	4,54 \pm 0,13 ^a	5,05 \pm 0,14 ^a	5,56 \pm 0,14 ^a	5,88 \pm 0,21 ^a	6,26 \pm 0,16 ^a	6,56 \pm 0,08 ^a	6,72 \pm 0,04 ^{ab}	7,11 \pm 0,04 ^a
	0,50	2,41 \pm 0,12 ^b	3,20 \pm 0,16 ^a	4,05 \pm 0,12 ^a	4,70 \pm 0,12 ^a	5,07 \pm 0,09 ^a	5,72 \pm 0,21 ^a	5,92 \pm 0,13 ^a	6,16 \pm 0,17 ^a	6,46 \pm 0,26 ^a	6,58 \pm 0,16 ^{abc}	6,98 \pm 0,16 ^a
	1,00	2,71 \pm 0,05 ^a	3,54 \pm 0,20 ^a	3,87 \pm 0,24 ^a	4,58 \pm 0,15 ^a	5,12 \pm 0,04 ^a	5,71 \pm 0,28 ^a	6,01 \pm 0,12 ^a	6,12 \pm 0,16 ^a	6,64 \pm 0,31 ^a	6,81 \pm 0,13 ^a	7,08 \pm 0,09 ^a
CV (%)	2,48	3,62	3,55	2,39	1,49	2,88	2,00	2,20	2,83	1,46	1,89	
V. V. (mm^3)	0	0,154 \pm 0,02 ^a	0,109 \pm 0,01 ^b	0,092 \pm 0,01 ^{ab}	0,056 \pm 0,01 ^a	0,020 \pm 0,01 ^a						
	0,01	0,184 \pm 0,02 ^a	0,143 \pm 0,01 ^a	0,111 \pm 0,01 ^a	0,051 \pm 0,01 ^a	0,020 \pm 0,01 ^a						
	0,05	0,154 \pm 0,01 ^a	0,118 \pm 0,01 ^{ab}	0,075 \pm 0,01 ^{bc}	0,052 \pm 0,01 ^a	0,019 \pm 0,02 ^a						
	0,10	0,094 \pm 0,01 ^b	0,114 \pm 0,02 ^{ab}	0,095 \pm 0,02 ^{ab}	0,058 \pm 0,01 ^a	0,009 \pm 0,01 ^b						
	0,50	0,098 \pm 0,01 ^b	0,051 \pm 0,01 ^c	0,083 \pm 0,01 ^{bc}	0,059 \pm 0,02 ^a	0,009 \pm 0,01 ^b						
	1,00	0,133 \pm 0,01 ^{ab}	0,125 \pm 0,02 ^{ab}	0,058 \pm 0,01 ^c	0,057 \pm 0,01 ^a	0,010 \pm 0,01 ^b						
CV (%)	9,75	7,76	7,65	11,96	12,95							

n = 20

CV = coeficiente de variação

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas apresentam diferenças significativas entre os tratamentos (teste de Tukey, 5%)

4. DISCUSSÃO

O desenvolvimento embrionário não foi afetado pela triiodotironina. Independentemente da dose utilizada, os resultados de desenvolvimento embrionário mostraram que o pintado apresenta características semelhantes às da maioria dos teleósteos de água doce, sendo evidentes as fases de segmentação, formação de blástula, gástrula, fechamento do blastóporo, organogênese, liberação da cauda e eclosão (Cussac *et al.*, 1985; Matkovic *et al.*, 1985; Castellani *et al.*, 1994; Ribeiro *et al.*, 1995; Nakatani *et al.*, 2001). O tipo de ovo (telolécito) e de segmentação (meroblástica e discoidal) também são próprios dos peixes teleósteos, com presença de grande quantidade de vitelo e blastômeros no polo animal (Balinsky, 1975; Leme dos Santos & Azoubel, 1996; Garcia & Garcia, 2001).

O diâmetro dos ovos ($0,96 \pm 0,11$ mm) foi menor que o reportado por Nakatani *et al.* (2001), mas foi similar ao reportado por Vazzoler (1996) para ovocitos maduros da mesma espécie. Por outro lado, embora Nakatani *et al.* (2001) reportem diferenciação do embrião a partir das 3 horas e 15 minutos, no presente estudo o fechamento do blastóporo só aconteceu 5 horas após fertilização (temperatura média $26,5 \pm 0,38^{\circ}\text{C}$), sendo menor que o reportado por Cardoso *et al.* (1988), de 6,5 horas, numa temperatura entre 25 e 26°C e por Cardoso *et al.* (1995), de 6 horas, numa temperatura entre 23,5 e 25°C . Entretanto, enquanto Nakatani *et al.* (2001) reportam desprendimento da cauda na hora 7, os estudos de Cardoso *et al.* (1988) e Cardoso *et al.* (1995) só evidenciaram esse fato na hora 14 e 30 minutos, resultado similar ao obtido no presente estudo. Quanto à eclosão, os dados variam entre 16 (Nakatani *et al.*, 2001) e 19 horas (Cardoso *et al.* 1995), entre os quais encontram-se os aqui relatados (17 horas).

É muito importante lembrar que o desenvolvimento e tempo de incubação dependem de vários fatores, com destaque para a temperatura (Blaxter, 1988; Privitera, 2001).

O comprimento das larvas na hora da eclosão foi de $2,56 \pm 0,14$ mm, semelhante ao obtidos por Nakatani *et al.* (2001) de 2,51 mm e um pouco menor ao apresentado por Santos & Godinho (1994) de $3,30 \pm 0,07$ mm.

Por outro lado, os resultados de crescimento das larvas (Tabela 1) permitem observar, que desde as primeiras horas de vida (0 e 12), existe uma tendência de superioridade em peso nas larvas provenientes de ovos expostos ao hormônio; no entanto, essa superioridade desaparece nas horas seguintes, voltando a ser evidente só na hora 120, principalmente nas larvas provenientes dos tratamentos com doses maiores de T3 (0,1; 0,5 e 1 ppm). Na hora 144, há diferença tanto em peso quanto em comprimento, sendo que, no final do experimento (hora 168), as diferenças somente apareceram na variável peso, mostrando superioridade nos indivíduos do tratamento 6 (1 ppm de T3). Quanto ao comprimento, embora sem diferenças significativas, os maiores valores também foram encontrados nas larvas provenientes dos tratamentos de 0,1; 0,5 e 1 ppm de T3. Estes resultados sugerem que, se por um lado o hormônio parece ter influenciado o desenvolvimento inicial da larva, as doses utilizadas talvez podem ter sido muito baixas, pois quanto maior era a dose utilizada, melhor o desempenho da larva. Além disso, não foram observados efeitos negativos em nenhuma das doses utilizadas, sugerindo que podem ser aumentadas. Esses resultados discordam dos encontrados por Lam (1994) e por Nugegoda *et al.* (1994), segundo os quais doses baixas de hormônio, seja por imersão ou por injeção na mãe, promovem o desenvolvimento e crescimento das larvas, enquanto que doses altas podem ter efeito contraproducente, fato comprovado por Huang *et al.* (1996), em larvas de *Morone saxatilis*, nas quais uma dose alta de T3 (100 ng ml^{-1}) retardou o crescimento inicial das

larvas, além de causar grande mortalidade. Já Nacario (1983) observou que a tiroxina em dose baixa (0,1 ppm) melhorava o crescimento, mas em dose maior (0,5 ppm) ocasionava anormalidades nas larvas.

Por outro lado, seria muito importante conhecer a quantidade de hormônio que os ovos continham antes do tratamento, pois, segundo Lam (1994), a mãe passa à larva uma quantidade de hormônio que garante o desenvolvimento e crescimento, mas, pelos resultados obtidos, parece que essa quantidade é muito alta na espécie trabalhada, pois foi evidente uma melhora no desempenho da larva à medida que o nível de hormônio ia aumentando, sugerindo que os ovos já tinham níveis elevados no momento do tratamento. Estes resultados confirmam a afirmação de Power *et al.* (2001), de que, dependendo da espécie e a forma de administração as respostas ao hormônio podem diferir.

Contudo, os resultados mostraram que no final do período experimental o tratamento hormonal favoreceu o ganho de peso das larvas. Resultados similares foram encontrados por Reddy & Lam (1992a, b), em larvas de *Carassius auratus* e *Oreochromis mossambicus*, nas quais o crescimento foi acelerado pelos hormônios tireoidianos aplicados por imersão.

Quanto ao volume do saco vitelino, o hormônio teve participação na reabsorção dessa estrutura, pois em 3 tratamentos (0,1; 0,5 e 1 ppm de T3), o processo foi acelerado. Esses resultados concordam com os apresentados por Lam (1980) e Nacario (1983), que utilizaram tiroxina em espécies do gênero *Sarotherodon*.

Em conclusão, pode-se afirmar que a triiodotironina, nas doses e da forma como foi aplicada neste experimento, não teve efeito no desenvolvimento embrionário do pintado, porém afetou o crescimento inicial das larvas e a reabsorção do saco vitelino. Além disso, sugere-se que as doses utilizadas poderiam ter sido maiores, pois nenhuma

apresentou efeito negativo, e os melhores resultados só começaram a aparecer nas mais altas. No entanto, seria fundamental realizar novas pesquisas onde sejam conhecidos os valores basais dos hormônios tireoidianos na espécie, tanto na corrente sanguínea quanto nos ovos e larvas, e assim estabelecer doses adequadas que permitam entender o papel desses hormônios no seu desenvolvimento inicial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M. & MOURA, A. 1992. Estádios de desenvolvimento embrionário de curimatã-piao *Prochilodus affinis* (Reinhart, 1874) (Pisces, Prochilodontidae). In Encontro Anual de Aqüicultura de Minas Gerais, CODEVASF, p. 61-71.
- BALINSKY, B. 1975. Introducción a la embriología. Omega edt. Barcelona. 631p.
- BLAXTER, J. 1988. Pattern and variety in development. In: Hoar, W and Randall, D Ed. Fish physiology. Academic Press. V.II: The physiology of developing fish. pp.1-58.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., NUÑEZ, J., HADLEY, C., VANEENENNAAM, J., NISHIOKA, R. & BERN, H. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. J. Exp. Zool. 248: 168-176.
- BROWN, C. & KIM, B. 1995. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. Aquaculture 135: 70-86.
- CARDOSO, E., FERREIRA, R. & ALVES, M. 1988. Desenvolvimento embrionário e estádios larvários iniciais em surubim (*Pseudoplatystoma coruscans* Agassiz, 1829). In: VI Encontro Anual de Aqüicultura – Associação Mineira de Aqüicultura, 1998. Resumos. Belo Horizonte – MG. 22p.
- CARDOSO, E., ALVES, M., FERREIRA, R. & GODINHO, H. 1995. Embryogenesis of the neotropical freshwater siluriformes *Pseudoplatystoma coruscans*. Aquat. Living. Res. 8 (4): 343-346.
- CASTELLANI, L., GODINHO, H., LEME DOS SANTOS, H., SANT, R., FARIA, A. & SANTOS, M. 1994. Desenvolvimento embrionário do curimatã *Prochilodus lineanus* (Valenciennes, 1836) (Cypriniformes, prochilodontidae). Rev. Bras. Morfol.11(2): 99-105.
- CUSSAC, V., MATKOVIC, M. & MAGGESE, M. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae) II. organogénesis media, organogénesis tardía y eclosión. Rev. Bras. Biol. 45 (1/2): 149-160.
- de JESUS, E., HIRANO, T. & INUI, Y. 1994. The antimetamorphic effect of prolactin in the Japanese flounder. Gen. Comp. Endocrinol. 93: 44-50.
- de JESUS, E., TOLEDO, J. & SIMPAS, M. 1998. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. Gen. Comp. Endocrinol. 112: 10-16.
- DEANE, E. & WOO, N. 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. Life. Sci. 72: 805-818.

- FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br>>. Acesso em: 21 jan. 03.
- GARCIA, S. & GARCIA, C. 2001. Embriologia. 2^a ed. Porto Alegre. 416p.
- GAVLIK, S., ALBINO, M. & SPECKER, J. 2002. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. *Aquaculture* 203: 359-373.
- GIAQUINTO, P. 2001. Comunicação química no pintado, *Pseudoplatystoma coruscans*. Tese, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências. Botucatu-SP. 57 p.
- HEY, J., FARRAR, E., BRIAN, T., BRISTOW, C., STETTNER & SUMMERFELT, R. 1996. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *J. World Aquac. Soc.* 27(1): 40-51.
- HSEU-JINN, K., CHANG, H. & TING, Y. 2002. Inducing effects of hormones in metamorphosis arrested grouper larvae. *J. Fish. Soc. Taiwan.* 29(1): 79-83.
- HUANG, L., SPECKER, J. & BENGTSON, D. 1996. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish. Physiol. Biochem.* 15(1): 57-64.
- KIM, B. & BROWN, C. 1997. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of pacific threadfin. *Amer. Zool.* 37: 470-481.
- LAM, J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambicus*. *Aquaculture* 21: 287-291.
- LAM, J. 1994. Hormones and eggs/larval quality in fish. *J. World. Aquac. Soc.* 25(1): 2-12.
- LAM, J. 1995. Eggs in fish: are hormones involved? *Aquaculture* 135 (1-3): 74.
- LAM, J., JUARIO, J. & BANNO, J. 1985. Effect of thyroxine on growth and development in post-sac larvae of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 46: 179-184.
- LEATHERLAND, J. & BARRETT, S. 1993. 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. Physiol. Biochem.* 12(2): 149-159.
- LEIN, I., HOLMEFJORD, I. & RYE, M. 1997. Effects of temperature on yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 157: 123-135.
- LEME DOS SANTOS, H. & AZOUBEL, R. 1996. Embriologia comparada. FUNEP, Jaboticabal. 189 p.

- LIU, Y. & CHAN, W. 2002. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation* 70: 36-45.
- LIU, Y., LO, L., & CHAN, W. 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. Cell. Endocrinol.* 159: 187-195.
- LUZ, R. 2000. Larvicultura do mandi amarelo *Pimelodus maculatus* (Lacèpède 1803): Desenvolvimento embrionário, larval e primeira alimentação. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aqüicultura. Florianópolis – Sc. 47p.
- MANZON, R., EALES, G. & YOUSON, J. 1998. Blocking of KClO₄- induced metamorphosis in premetamorphic sea lampreys by exogenous thyroid hormones (TH); effects of KClO₄ and TH on serum TH concentrations and intestinal thyroxine outer-ring deiodination. *Gen. Comp. Endocrinol.* 112: 54-62.
- MATHIYALAGAN, A., REDDY, A. & LAM, T. 1996. Effects of cortisol on growth and development in tilapia larvae, *Oreochromis mossambicus*. *Fish. Physiol. Biochem.* 15(6): 453-458.
- MATKOVIC, M., CUSSAC, V., CUKIER, M., GUERRERO, G. & MAGGESE, M. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae) I. Segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. *Rev. Bras. Biol.* 45(1/2): 39-50.
- NACARIO, J. 1983. The effect of thyroxine on larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (*Tilapia nilotica*). *Aquaculture* 34: 73-83.
- NAKATANI, K., AGOSTINHO, A., BAUMGARTNER, G., BIALETZKI, A., SANCHES, P., MAKRAKIS, M. & PAVANELLI, C. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação. Editora Universidade Estadual de Maringá. 378p.
- NAYAK, P., MISHRA, T., MISHRA, J., AYYAPPAN, S. & SINGH, B. 2000a. Changes in thyroid hormones and 5 monodeiodinase activity during embryonic and larval developments in freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Ind. J. An. Sci.* 70(11): 1191-1195.
- NAYAK, P., MAHAPATRA, C., MISHRA, T., MISHRA, J., SINGH, B. & AYYAPPAN, S. 2000b. Thyroid hormones levels during reproduction development of embryo and juvenile indian major carp, *Catla catla* (Ham). *Ind. J. An. Sci.* 70(11): 1187-1190.
- NUGEGODA, D., WALFORD, J. & LAM, J. 1994. Thyroid hormones in the early development of seabass (*Lates calcarifer*) larvae. *J. Aquac. Trop.* 9(9): 279-290.
- PINTO, M. & CASTAGNOLLI, N. 1984. Desenvolvimento inicial do pacu *Colossoma mitrei* (Berg, 1895). In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura. Anais. São Carlos UFSCar, pp. 523 – 535.

- POWER, D., LLEWELLYN, L., FAUSTINO, M., NOWELL, M., BJÖRNSSON, B., EINARSDOTTIR, I., CANARIO, A. & SWEENEY, G. 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp. Biochem. Physiol. part C*. 130: 447-459.
- PRIVITTERA, L. 2001. Characteristics of eggs and larval production in captive bluespotted gobies. *J. Fish. Biol.* 58: 1211-1220.
- REDDY, P. & LAM, J. 1992a. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 107: 383-394.
- REDDY, P. & LAM, J. 1992b. Role of thyroid hormones in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*) 1: Effects of the hormones and an antithyroid drug on yolk absorption, growth and development. *Fish. Physiol. Biochem.* 9: 473-485.
- RIBEIRO, C., LEME DOS SANTOS, H. & BOLZAN, A. 1995. Estudo comparativo da embriogênese de peixes ósseos (pacu, *Piaractus mesopotamicus*; tambaqui, *Colossoma macropomum* e híbrido tambacu). *Rev. Bras. Biol.* 55(supl 1): 65-68.
- ROLLINS-SMITH, L. 1998. Metamorphosis and the amphibian immune system. *Immunol Rev.* 166: 221-230.
- ROSE, C. 1995a. Skeletal morphogenesis in the urodele skull: II. Postembryonic development in the hemidactyliini (Amphibia: Plethodontidae). *J. Morphol.* 223: 149-166.
- ROSE, C. 1995b. Skeletal morphogenesis in the urodele skull: I. Effect of development stage in thyroid hormone-induced remodeling. *J. Morphol.* 223: 125-148.
- SANTOS, J. & GODINHO, H. 1994. Morfogênese e comportamento larvais do surubim (*Pseudo platystoma coruscans* Agassiz, 1829). *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* 46(2): 139 – 147.
- SCHMIDT-NILSEN, K. 1997. Animal physiology adaptation and environment. Fifth edition. Cambridge University Press. 607 p
- SCHREIBER, A & SPECKER, J. 1998. Metamorphosis in summer flounder (*Paralichthys dentatus*): stage-specific developmental response to altered thyroid status. *Gen. Comp. Endocrinol.* 111: 156-166.
- SCHREIBER, A & SPECKER, J. 1999. Early larval development and metamorphosis in the summer flounder: changes in per cent whole-body water content and effects of altered thyroid status. *J. Fish. Biol.* 55: 148-157.
- TAGAWA, M. & BROWN, C. 2001. Entry of thyroid hormones into tilapia oocytes. *Comp. Biochem. Physiol. Part B.* 129: 605-611.
- TAGAWA, M. & HIRANO, T. 1991. Effects of thyroid hormone deficiency in eggs early development of the medaka, *Oryzias latipes*. *J. Exp. Zool.* 257: 360-366.

- TAGAWA, M., de JESUS, E. & HIRANO, T. 1995. The thyroid hormone monodeiodinase system during flounder metamorphosis. *Aquaculture* 135: 127-129.
- TAGAWA, M., MIWA, S., INUI, Y., de JESUS, E. & HIRANO, T. 1990. Changes in thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis of the flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.* 7: 7-96.
- URBINATI, E. C. 2002. Estudos hormonais e metabólicos em peixes. Livre docência, Universidade Estadual Paulista, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal. Jaboticabal – SP. 166p.
- VAZZOLER, A. 1996. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, Maringá. 169 p.
- WEBER, G., FARRAR, E., TOM, C & GRAU, E. 1994. Changes in whole-body thyroxine and triiodothyronine concentrations and total content during early development and metamorphosis of the toad *Bufo marinus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 94: 62-71.
- YAMANO, K., TAKANO-OHMURO. H. & OBINATA, T. 1994. Effect of thyroid hormone on developmental transition of myosin light chains during flounder metamorphosis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 93(3): 321-326.
- YOUSSON, J. 1997. Is lamprey metamorphosis regulated by thyroid hormones? *Amer. Zool.* 37: 441-460.

CAPÍTULO III

INFLUÊNCIA DA TRIIODOTIRONINA (T3)
NO CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA
DE LARVAS DE PINTADO
(*Pseudoplatystoma coruscans*)

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da triiodotironina (T_3) aplicada na água de hidratação dos ovos no crescimento e na sobrevivência das larvas de pintado *Pseudoplatystoma coruscans*. O estudo foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, e na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

Foram utilizadas larvas, provenientes de ovos fertilizados, em cuja água de hidratação foi adicionada T_3 , compondo-se os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm. Os ovos permaneceram expostos às soluções por 15 minutos, foram lavados e colocados em caixas plásticas com aeração e fluxo contínuo de água, onde permaneceram até 168 horas após a eclosão das larvas. Nesse momento, foram distribuídas ao acaso em 4 caixas por tratamento (10 larvas L^{-1}) e alimentadas com náuplios de *Artemia salina*. Foram coletadas 10 larvas de cada caixa (40 por tratamento), nos dias 1, 3, 5, 7 e 10. Os parâmetros analisados foram peso, comprimento, taxa de crescimento específico e sobrevivência. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%), no aplicativo SAS v.8.

Os resultados indicaram que não houve efeito das diferentes concentrações de triiodotironina no crescimento das larvas. Por outro lado, as taxas de sobrevivência foram maiores nos tratamentos 2 (0,01 ppm de T_3) e 6 (1 ppm de T_3), enquanto que o tratamento que não recebeu hormônio apresentou a taxa menor.

Pode-se afirmar que nas condições do estudo a triiodotironina não teve influência no crescimento das larvas de pintado, embora tenha aumentado a sua sobrevivência, resultado muito importante, pois nesta fase é mais importante o número de indivíduos do que o tamanho, já que a venda de um número maior de alevinos pode gerar grande benefício econômico para o produtor.

ABSTRACT

This experiment investigated the effect of triiodothyronine (T_3) applied to the eggs of pintado *Pseudoplatystoma coruscans* through immersion on the growth and survival of larvae. The work was carried out at Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, and at Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

The experiment used larvae produced from fertilized eggs immersed in T_3 solutions constituting the treatments: T1-no hormone; T2-0.01 ppm; T3-0.05 ppm; T4-0.1 ppm; T5-0.5 ppm and T6-1 ppm. Eggs were exposed to T_3 for 15 min, washed and transferred to plastic boxes where they were held until 168 h after hatching. Following, larvae were randomly distributed in plastic boxes (4 for treatment) (10 larvae L^{-1}), fed nauplii of *Artemia salina* and sampled at days 1, 3, 5, 7 and 10 for determination of body weight and length, specific growth rate and survival. The results were submitted to ANOVA and means compared by Tukey test (5%), with a SAS software.

The results showed that there were no differences of triiodothyronine on the growth of pintado larvae. Otherwise, survival was higher in the treatments 2 (0.01 ppm T_3) and 6 (1 ppm T_3), while the treatment without hormone presented the lowest survival rate.

In the study conditions, triiodothyronine did not influence the growth of pintado larvae although it have increased the survival rate, result very important and profitable for the seed production sector.

1. INTRODUÇÃO

A larvicultura dos peixes é a fase em que ocorrem as maiores perdas do processo produtivo, limitando a produção de alevinos em larga escala, principal desafio da piscicultura comercial (Holmefjord *et al.*, 1993; Tanaka *et al.*, 1995). Nesse sentido, é indispensável desenvolver pesquisas que visem otimizar o processo, principalmente nas espécies que apresentam canibalismo na fase inicial, nas quais a mortalidade é maior (Cecarelli, 1997; Cestarolli *et al.*, 1997; Senhorini, 1999).

Por outro lado, existem evidências de que os hormônios tireoidianos são essenciais para o desenvolvimento inicial dos peixes (Lam, 1994; de Jesus *et al.*, 1994; Liu & Chan; 2002) e que poderiam ser utilizados para melhorar a sobrevivência, encurtando o período de predação, pois as larvas tratadas com os hormônios teriam uma aceleração no desenvolvimento do trato digestório, o que sugeriria uma capacitação alimentar precoce (Kim & Brown, 1997; Urbinati, 2002).

Vários estudos comprovam que esses hormônios melhoram o crescimento e sobrevivência das larvas (Brown *et al.*, 1989; Ayson & Lam, 1993; Lam, 1995), seja adicionado diretamente na água ou por transferência materna (Lam, 1994; Urbinati *et al.*, 2002).

Segundo Lam (1980), em *Sarotherodon mossambicus*, houve um aumento no desenvolvimento e na sobrevivência das larvas tratadas com tiroxina por imersão e resultados similares foram obtidos em larvas de *Cyprinus carpio* e de *Chanos chanos* por Lam & Sharma (1985) e Lam *et al.* (1985).

Em *Carassius auratus* e *Oreochromis mossambicus*, os hormônios tireoidianos também tiveram efeito benéfico na larvicultura (Reddy & Lam, 1992a, b). Resultados

similares foram reportados para *Hippoglossus stenolepis*, por Stickney & Liu (1999) e para *Epinephelus coioides* por de Jesus *et al.* (1998), embora, em *Salmo trutta* e *Morone saxatilis* resultados negativos tenham sido encontrados ao se utilizar T3 (Mylonas *et al.*, 1994; Huang *et al.*, 1996) e em *Sarotherodon niloticus* ao se utilizar T4 (Nacario, 1983).

Adicionalmente, enquanto Hey *et al.* (1996) mostraram que a triiodotironina aumenta o canibalismo das larvas de *Stizostedion vitreum*, Urbinati *et al.* (2002) encontraram maior sobrevivência e redução de canibalismo nas larvas de matrinxã, sob efeito de hormônio materno. Por outro lado, Brown & Kim (1995) e Kim & Brown (1997) observaram que a aplicação conjunta de T3 e cortisol pode conduzir a melhores resultados que quando utilizadas individualmente, e sugeriram que o aumento na sobrevivência das larvas de *Polidactylus sexfilis*, foi provavelmente ocasionado por uma diminuição no canibalismo, devido à uniformidade no lote de larvas, atribuída ao uso dos hormônios.

O pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) é uma espécie que apresenta alta mortalidade de larvas devido a alto grau de canibalismo durante as primeiras fases de vida. Além disso, é uma espécie de grande valor comercial que está considerada como vulnerável à extinção (Fundação Biodiversitas, 2003), razões pelas quais foi escolhida para o presente estudo, cujo objetivo foi avaliar o efeito da triiodotironina no crescimento inicial e sobrevivência das larvas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

O presente estudo foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal.

2.2 Material biológico, tratamentos e manejo experimental

Foram utilizadas larvas de *Pseudoplatystoma coruscans*, provenientes de ovos fertilizados, em cuja água de hidratação foi adicionada triiodotironina (T₃), compondo-se os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 e T6-1 ppm de triiodotironina. Os ovos permaneceram expostos às soluções durante 15 minutos, momento em que foram lavados com água limpa e colocados em incubadoras com fluxo contínuo de água e aeração constante, numa temperatura de $26,5 \pm 0,38^{\circ}\text{C}$. As larvas foram mantidas nas incubadoras durante uma semana, sendo alimentadas, logo após a reabsorção do saco vitelino com náuplios de *Artemia salina*, oferecidos 7 vezes por dia (7:00; 9:00; 11:00; 13:00; 15:00; 17:00 e 19:00 h).

No início do experimento, as larvas foram distribuídas ao acaso em quatro caixas por tratamento, numa densidade de 10 larvas L⁻¹. Durante todo o período experimental, as larvas permaneceram no escuro e foram alimentadas como na fase anterior. Duas

vezes por dia, foram monitorados a temperatura e o oxigênio dissolvido da água, um oxímetro YSI[®] 95/25FT. O pH, dureza, alcalinidade e amônia foram medidos a cada 3 dias. Para medição do pH, foi usado um pHmetro F1002; para dureza foi feita titulação com EDTA, utilizando eriocromo negro como indicador; para alcalinidade a titulação foi com ácido sulfúrico e o indicador foi fenolftaleína. A amônia foi calculada pelo método de Nessler.

2.3 Coleta e preservação do material

Foram coletadas 10 larvas de cada caixa (40 por tratamento), nos dias 1, 3, 5, 7 e 10 do experimento, sendo fixadas em glutaraldeído 2,5% e posteriormente lavadas e mantidas a 4°C em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH=7,4).

2.4 Análise do material

As larvas coletadas foram pesadas numa balança analítica Sartorius[®], com precisão de 0,01 mg, e medidas com paquímetro Mitutoyo[®], com precisão de 0,01 mm. Com os dados obtidos, foi calculada a taxa de crescimento específico (SGR), utilizando-se a equação apresentada por Ricker (1979). No final do experimento, foi calculada a taxa de sobrevivência.

2.5 Análise estatística

Para verificar possíveis diferenças entre os tratamentos, foi feita uma análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%) utilizando o SAS v.8.

3. RESULTADOS

Os valores médios de temperatura e oxigênio dissolvido da água podem ser observados na Figura 1, sendo que não houve variação entre os tratamentos. A temperatura variou entre 27,13 e 28,54 °C, enquanto que o oxigênio oscilou entre 5,63 e 7,01 mg L⁻¹, observando-se que quanto maior a temperatura menor foi o nível de oxigênio. A dureza total flutuou entre 4,25 e 5,25 mg L⁻¹ CaCO₃; o pH entre 5,79 e 5,91; a alcalinidade entre 8,00 e 9,50 mg L⁻¹ e a amônia entre 0,05 e 0,09 mg L⁻¹.

Os resultados de peso e comprimento das larvas são apresentados na Tabela 1, podendo-se observar que não houve efeito significativo das diferentes concentrações de T3 utilizadas, nos tempos analisados.

Quanto à SGR, também não foram encontradas diferenças entre os tratamentos, sendo evidente que nos primeiros 5 dias de larvicultura o crescimento foi maior, variando de $52,22 \pm 7,15$ % dia⁻¹, no período de 3 a 5 dias, a $64,49 \pm 6,72$ % dia⁻¹, no período de 1 a 3 dias. O crescimento começou a diminuir no período seguinte (5 a 7 dias), atingindo os valores mínimos no último período amostrado (7 a 10 dias), com valores médios entre $30,20 \pm 2,70$ % dia⁻¹ e $41,80 \pm 13,20$ % dia⁻¹ (Figura 2).

Na Figura 3, são apresentadas as taxas de sobrevivência, encontrando-se diferenças significativas entre os tratamentos. Assim, nos tratamentos 2 e 6, em que as

larvas eram provenientes de ovos hidratados com soluções de 0,01 e 1 ppm de T3, foram observadas as maiores taxas de sobrevivência, enquanto que o tratamento 1, que não recebeu hormônio, foi o que apresentou a taxa menor.

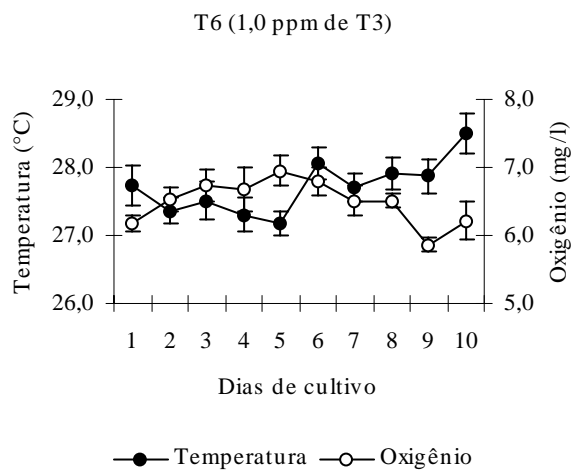
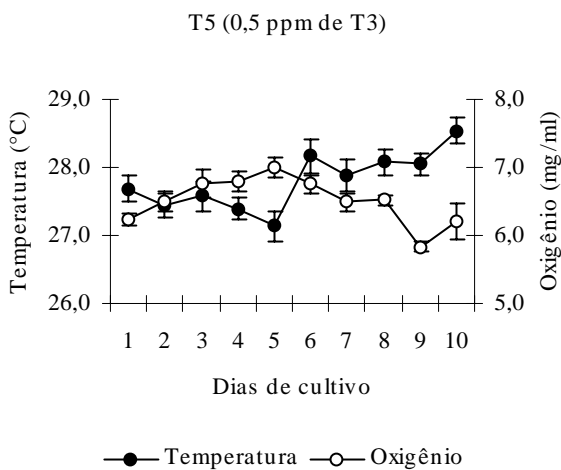
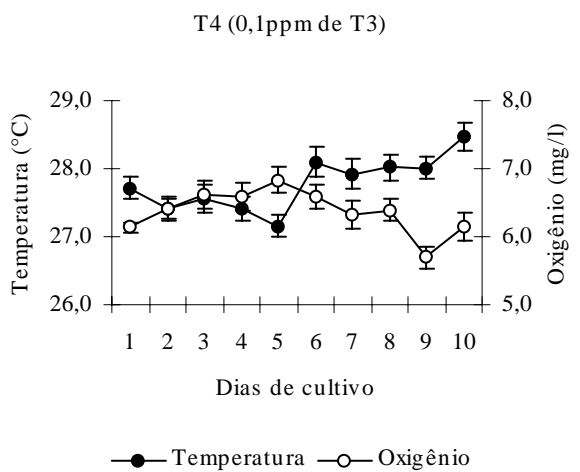
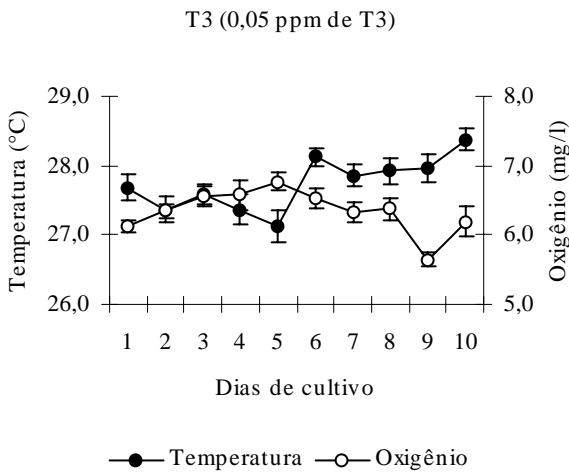
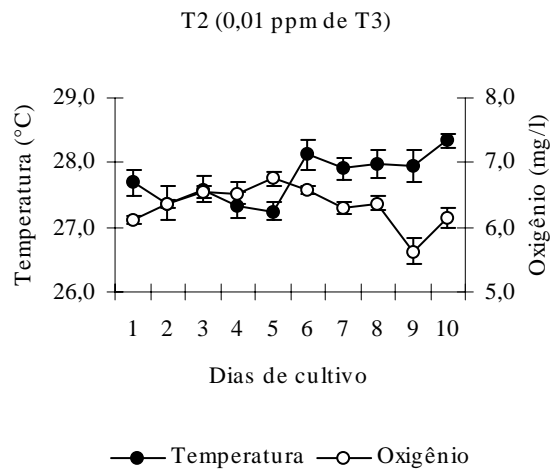
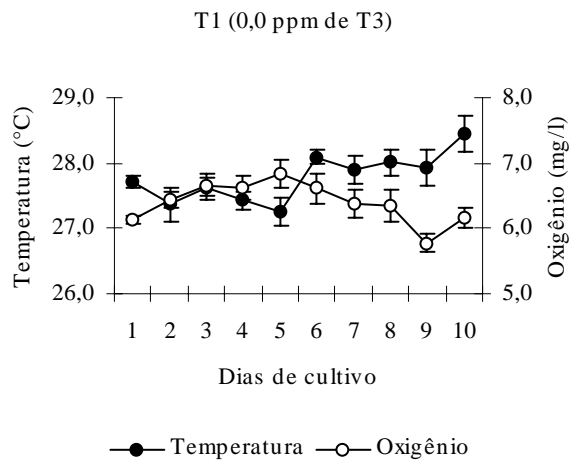


Figura 1. Valores médios \pm desvio padrão de temperatura e oxigênio dissolvido da água durante todo o período experimental.

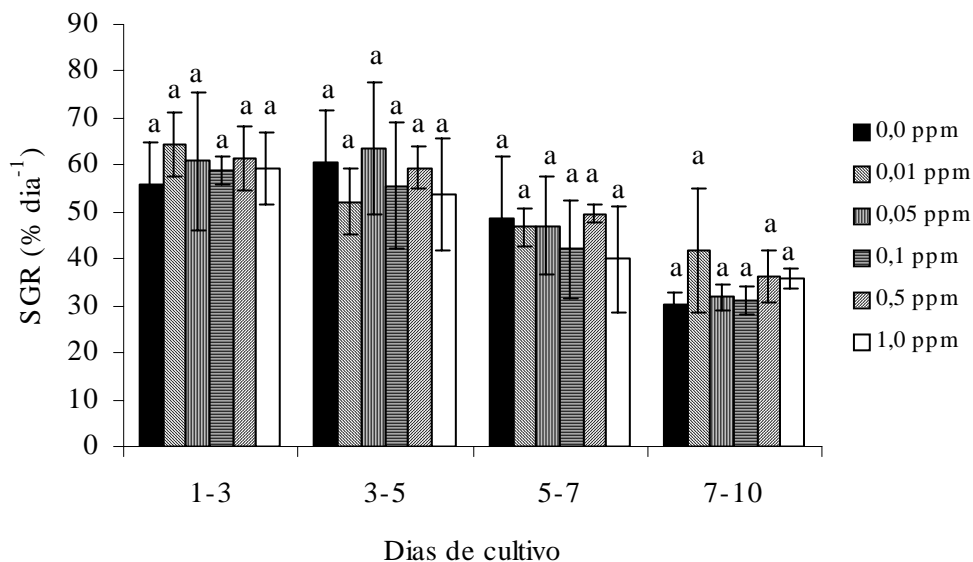
Tabela 1. Médias \pm desvio padrão do peso (mg) e comprimento (mm) das larvas de pintado nos diferentes tempos de coleta.

	T3 (ppm)	Tempo de cultivo (dias)				
		1	3	5	7	10
Peso (mg)	0	1,27 \pm 0,36 ^a	3,88 \pm 0,98 ^a	13,01 \pm 2,87 ^a	34,50 \pm 7,88 ^a	85,36 \pm 17,68 ^a
	0,01	1,06 \pm 0,27 ^a	3,85 \pm 0,95 ^a	10,94 \pm 2,22 ^a	27,89 \pm 7,87 ^a	97,75 \pm 16,89 ^a
	0,05	1,12 \pm 0,33 ^a	3,78 \pm 0,99 ^a	13,45 \pm 3,54 ^a	34,51 \pm 8,43 ^a	89,97 \pm 13,51 ^a
	0,10	1,46 \pm 0,38 ^a	4,75 \pm 1,10 ^a	14,42 \pm 3,52 ^a	33,47 \pm 7,06 ^a	84,91 \pm 11,16 ^a
	0,50	1,01 \pm 0,24 ^a	3,45 \pm 0,90 ^a	11,34 \pm 1,96 ^a	30,53 \pm 7,14 ^a	91,10 \pm 13,70 ^a
	1,00	1,58 \pm 0,40 ^a	5,50 \pm 1,07 ^a	16,10 \pm 2,94 ^a	35,85 \pm 8,76 ^a	104,80 \pm 17,56 ^a
	CV (%)		19,95	13,44	15,37	14,97
Comprimento (mm)	0	7,23 \pm 0,53 ^a	9,43 \pm 0,99 ^a	12,77 \pm 1,23 ^a	17,14 \pm 1,58 ^a	22,40 \pm 2,78 ^a
	0,01	7,11 \pm 0,32 ^a	9,49 \pm 0,74 ^a	12,29 \pm 1,14 ^a	16,37 \pm 1,53 ^a	22,74 \pm 3,52 ^a
	0,05	7,21 \pm 0,37 ^a	9,59 \pm 0,88 ^a	12,78 \pm 1,03 ^a	17,15 \pm 1,68 ^a	24,88 \pm 1,96 ^a
	0,10	7,63 \pm 0,51 ^a	9,91 \pm 1,05 ^a	12,88 \pm 1,47 ^a	17,04 \pm 1,46 ^a	22,70 \pm 2,37 ^a
	0,50	7,18 \pm 0,34 ^a	9,48 \pm 0,68 ^a	12,05 \pm 1,09 ^a	16,51 \pm 1,71 ^a	22,49 \pm 2,92 ^a
	1,00	6,67 \pm 0,59 ^a	10,55 \pm 1,05 ^a	13,13 \pm 1,27 ^a	17,45 \pm 1,49 ^a	23,93 \pm 2,64 ^a
	CV (%)		4,00	6,33	5,78	4,33

n = 40

CV = Coeficiente de variação

Médias com letras iguais nas colunas não apresentam diferenças significativas entre os tratamentos (teste de Tukey, 5%)

Figura 2. Taxa de crescimento específico (SGR) \pm desvio padrão das larvas do pintado nos diferentes períodos amostrados. Em cada período, médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey (5%)

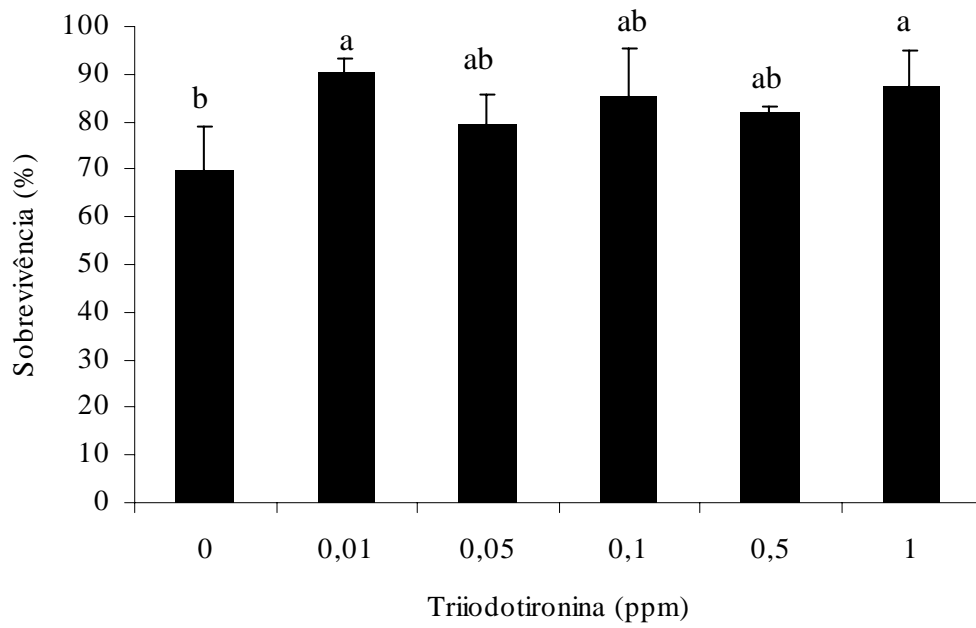


Figura 3. Taxas de sobrevivência \pm desvio padrão das larvas de pintado submetidas aos diferentes tratamentos. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas.

4. DISCUSSÃO

Ao longo da pesquisa foi possível observar que as condições limnológicas se mantiveram relativamente estáveis e dentro das faixas consideradas normais para peixes tropicais (Boyd, 1990; Kubitza, 1999). No entanto, os valores de pH, aparentemente foram baixos ($5,81 \pm 0,06$), pois a recomendação encontrada na literatura menciona valores acima de 6,5. Não obstante, no local do experimento a água sempre apresenta níveis ligeiramente ácidos, sem prejuízo aparente para os peixes.

Por outro lado, não foram observadas diferenças no crescimento das larvas em nenhum dos tempos analisados, discordando dos resultados apresentados por Lam *et al.* (1985) e Lam & Sharma (1985) que conseguiram aumentar o crescimento das larvas de *Chanos chanos* e *Cyprinus carpio* ao utilizar T4. Do mesmo modo, Reddy & Lam, (1992a, b), conseguiram melhorar o crescimento das larvas de *Carassius auratus* e *Oreochromis mossambicus* ao utilizar hormônios tireoidianos em tratamentos por imersão.

Os resultados também sugerem que poderiam ter sido utilizadas doses maiores do hormônio, pois não se observou nenhum efeito negativo nas doses testadas, resultados que discordam de Lam (1994), que afirma que doses baixas de hormônios tireoidianos, seja por imersão ou por injeção na mãe, promovem o crescimento das larvas, e que uma dose alta pode ser contraproducente. Isto foi demonstrado por Nacario (1983), em *Sarotherodon niloticus*, que ao utilizar dose de 0,1 ppm de T4 obteve melhor crescimento da larvas, mas quando utilizou 0,5 ppm observou presença de anormalidades. Do mesmo modo, Mylonas *et al.* (1994) e Huang *et al.* (1996), em *Salmo trutta* e em *Morone saxatilis*, encontraram resultados negativos, com aumento de

anormalidades na primeira espécie e diminuição do crescimento na segunda. Nenhum desses resultados indesejáveis foi verificado no presente estudo.

Quanto à taxa de sobrevivência, ficou claro que foi favorecida pela aplicação do hormônio, pois em todos os grupos tratados foi superior ao controle. Esse fato poderia ser atribuído a uma capacitação digestiva antecipada, que faria com que as larvas pudessem aproveitar melhor o alimento nesta fase, observação comprovada por Urbinati *et al.* (2002) em larvas de *Brycon cephalus*, nas quais a sobrevivência também foi maior ao utilizar o hormônio. Nesta mesma espécie, larvas provenientes de ovos imersos por 15 minutos em triiodotironina apresentaram maturação precoce do trato digestório (Vasques, 2003). Adicionalmente, Brown & Kim (1995) e Kim & Brown (1997) demonstraram que a aplicação de T3 e cortisol por imersão, durante 1 hora, acelerava o desenvolvimento do intestino e melhorava a sobrevivência das larvas de *Polidactylus sexfilis* e que ambos os hormônios poderiam estar interagindo, proporcionando uniformidade do lote de larvas e diminuindo o canibalismo.

Em *Sarotherodon mossambicus* e *Cyprinus carpio*, houve um aumento na sobrevivência das larvas atribuída à T4 (Lam, 1980; Lam & Sharma, 1985), enquanto em *Morone saxatilis* e *Seriola lalandi* a sobrevivência também aumentou em larvas provenientes de mães injetadas com T3 (Brown *et al.*, 1988; Tachihara *et al.*, 1997). Adicionalmente, Ayson & Lam (1993), observaram que ao utilizar hormônios tireoidianos em *Siganus guttatus*, obtinham larvas maiores e melhor sobrevivência nos primeiros 7 dias, resultados também reportados por Stickney & Liu (1999) em larvas de *Hippoglossus stenolepis*. Por outro lado, Yamanome & Tagawa (2000) não observaram nenhum efeito na taxa de mortalidade em *Verasper moseri* tratados com diferentes doses de T3, tanto por imersão quanto por injeção nas mães. Já, Gavlik *et al.* (2002) não reportaram influência da T4 na mortalidade de larvas de *Paralichthys dentatus*.

Em conclusão, pode-se afirmar que nas condições do estudo, a triiodotironina não teve influência no crescimento inicial de larvas de *Pseudoplatystoma coruscans*, embora tenha aumentado a sua sobrevivência. Este resultado é muito importante pois nas fases iniciais é mais importante o número de indivíduos do que o tamanho, pois a unidade é muito valorizada. É necessário realizar novos trabalhos que permitam esclarecer as dúvidas existentes ao respeito do papel da triiodotironina no crescimento inicial da espécie. Aparentemente, o nível basal da espécie é muito alto e poderiam ser utilizadas doses maiores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYSON, F. & LAM, J. 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its affect on larval growth and survival. *Aquaculture* 109: 83-93.
- BOYD, C. 1990. Water quality in warmwater fish pond. Alabama: Auburn University. 482p.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., COCHRAN, M. & BERN, H. 1989. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. *Fish. Physiol. Biochem.* 7(1-6): 295-299.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., NUÑEZ, J., HADLEY, C., VANEENENNAAM, J., NISHIOKA, R. & BERN, H. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J. Exp. Zool.* 248: 168-176.
- BROWN, C. & KIM, B. 1995. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. *Aquaculture* 135: 70-86.
- CECCARELLI, P. 1997. Canibalismo en larvas de matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências. Botucatu – SP. 92p.
- CESTAROLLI, M., PORTELLA, M. & ROJAS, N. 1997. Efeito do nível de alimentação e do tipo de alimento na sobrevivência e no desempenho inicial de larvas de curimatá *Prochilodus scrofa* (Sterndachner, 1881). *Bol. Inst. Pesca.* 24(único): 119-129.
- de JESUS, E., HIRANO, T. & INUI, Y. 1994. The antimetamorphic effect of prolactin in the Japanese flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.* 93: 44-50.
- de JESUS, E., TOLEDO, J. & SIMPAS, M. 1998. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.* 112: 10-16.
- FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br>>. Acesso em: 21 jan. 03.
- GAVLIK, S., ALBINO, M. & SPECKER, J. 2002. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. *Aquaculture* 203: 359-373.
- HEY, J., FARRAR, E., BRIAN, T., BRISTOW, C., STETTNER & SUMMERFELT, R. 1996. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *J. World. Aquac. Soc.* 27(1): 40-51.

- HOLMEFJORD, I., GULBRANDSEN, J., LEIN, I., REFSTIE, T., LÉGER, P., HARBOE, T., HUSE, I., SORGELOOS, P., BOLLA, S., OLSEN, Y., REITAN, K., VADSTEIN, O., ØIE, G. & DANIELSBERG, A. 1993. An intensive approach to Atlantic halibut fry production. *J. World. Aquac. Soc.* 24(2): 275-284.
- HUANG, L., SPECKER, J. & BENGTON, D. 1996. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish. Physiol. Biochem.* 15(1): 57-64.
- KIM, B. & BROWN, C. 1997. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of Pacific threadfin. *Amer. Zool.* 37: 470-481.
- KUBITZA, F. 1999. Qualidade da água na produção de peixes. 3 edição. Jundiaí – SP. 97 p.
- LAM, J. 1995. Eggs in fish: are hormones involved? *Aquaculture* 135(1-3): 74.
- LAM, J. 1994. Hormones and eggs/larval quality in fish. *J. World. Aquac. Soc.* 25(1): 2-12.
- LAM, J., JUARIO, J. & BANNO, J. 1985. Effect of thyroxine on growth and development in post-sac larvae of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 46: 179-184.
- LAM, J. & SHARMA, R. 1985. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 44: 201-212.
- LAM, J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon (Tilapia) mossambicus*. *Aquaculture* 21: 287-291.
- LIU, Y. & CHAN, W. 2002. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation.* 70: 36-45.
- MYLONAS, C., SULLIVAN, C., & HINSHAW, J. 1994. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish. Physiol. Biochem.* 13(6): 485-493.
- NACARIO, J. 1983. The effect of thyroxine on larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (*Tilapia nilotica*). *Aquaculture* 34: 73-83.
- REDDY, P. & LAM, J. 1992a. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 107: 383-394.
- REDDY, P. & LAM, J. 1992b. Role of thyroid hormones in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*) 1: Effects of the hormones and an antithyroid drug on yolk absorption, growth and development. *Fish. Physiol. Biochem.* 9: 473-485.
- RICKER, W. 1979. Growth rates and models. In: *Fish Physiology*, Academic Press. New York. v. VIII. p.677-743.

- SENHORINI, J. 1999. Biologia larval do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) e da piracanjuba *Brycon orbignianus* (Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae) em viveiros. Tese, Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP 101p.
- STICKNEY, R. & LIU, H. 1999. Maintenance of broodstock, spawning, and early larval rearing of pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. *Aquaculture* 176(1-2): 75-86.
- TACHIHIRA, K., EL-ZIBDEH, M., 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.
- TANAKA, M., TANANGONAN, J., TAGAWA, M., de JESUS, E., NISHIDA, H., ISAKA, M. KIMURA, R. & HIRANO, T. 1995. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture* 135: 111-126.
- URBINATI, E. C., SOARES, M. F. & SENHORINI, J. A. 2002. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae). *J. Aquac. Trop.* (in press).
- URBINATI, E. C. 2002. Estudos hormonais e metabólicos em peixes. Livre docência, Universidade Estadual Paulista, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal. Jaboticabal – SP. 166p.
- VASQUES, L. H. 2003. Participação do hormônio triiodotironina (T₃) no desenvolvimento inicial do matrinxã (*Brycon cephalus*). Tese, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 142p.
- YAMANOME, T. & TAGAWA, M. 2000. Enrichment of 3,5,3'- triiodothyronine (T₃) in eggs by maternal implantation of T₃ and T₃ immersion of fertilized eggs in barfin flounder *Verasper moseri*. *Bull Iwate Prefect fish technol cent.* 2: 21-27.

CAPÍTULO IV

PARTICIPAÇÃO DA TRIIODOTIRONINA
(T3) NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DA
PIRACANJUBA, *Brycon orbignyanus*

RESUMO

Neste trabalho foi estudado o efeito da triiodotironina (T_3) aplicada na água de hidratação dos ovos no desenvolvimento embrionário e no crescimento inicial das larvas de piracanjuba *Brycon orbignyanus*. O estudo foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, e na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.

Foram utilizados ovos recém fertilizados de piracanjuba os quais foram divididos em 6 alíquotas e hidratados em diferentes soluções de T_3 , constituindo-se os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm. Depois de 15 minutos, os ovos foram lavados e transferidos para incubadoras, onde permaneceram até 72 horas depois da eclosão das larvas.

Para análise morfológica, os ovos foram coletados logo após a fertilização e a cada 30 minutos até a hora 6; posteriormente a cada 2 horas até a eclosão das larvas. As larvas foram coletadas a cada 12 horas para medição de peso, comprimento e cálculo do volume do saco vitelino, resultados que foram analisados numa análise de variância com comparação de medias pelo teste de Tukey (5%). A análise foi realizada no aplicativo SAS v.8.

Os resultados mostraram que a triiodotironina não afetou o desenvolvimento embrionário da piracanjuba, em nenhuma das concentrações utilizadas. Já no crescimento, foi registrada uma alteração no peso das larvas no final do experimento. Na hora 60 após a eclosão, as larvas do tratamento 5 (0,5 ppm de T_3) foram maiores, bem como na hora 72, enquanto os pesos mais baixos foram verificados no tratamento 6 (1 ppm de T_3). Embora sem significância estatística, as larvas dos outros tratamentos com hormônio tiveram pesos maiores que as do controle. Não foram observadas diferenças no comprimento das larvas. As larvas do tratamento 5, também apresentaram menor volume do saco vitelino, embora sem diferença estatística.

Em conclusão, pode-se afirmar que a triiodotironina da maneira como foi utilizada neste estudo não teve efeito no desenvolvimento embrionário de *Brycon orbignyanus*. Não obstante, parece ter participação importante no ganho de peso das larvas, exceto pela dose maior (1 ppm) que promoveu efeito negativo para esse parâmetro.

ABSTRACT

This study investigated the effect of triiodothyronine (T_3) applied to eggs of piracanjuba *Brycon orbignyanus* on the embryo development and initial growth of larvae. The work was conducted at Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, and at Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

Fertilized eggs were divided in 6 portions and immersed for 15 min in different solutions of T_3 , forming the treatments: T1-no hormone; T2-0.01 ppm; T3-0.05 ppm; T4-0.1 ppm; T5-0.5 ppm and T6-1 ppm. After immersion, eggs were washed and transferred to incubators where they were kept until 72 h after hatching.

For the morphological analysis, eggs were collected after fertilization and at each 30 min until hour 6, and following at each 2 h until the hatching. Larvae were sampled at each 12 h for the weight and length determination and yolk sac volume calculation. The results were subjected to ANOVA and means compared to Tukey test (5%).

The results showed that triiodothyronine did not affect the embryo development of piracanjuba in any concentration tested. However, larvae produced from egg immersed in 0.5 ppm solution were larger at 60 and 72 h, while the lowest weights were verified in larvae of treatment 1 ppm. Although without statistical significance, larvae from the other treatments had higher weight than control larvae (no hormone). There were no differences in length. Larvae from the treatment 0.5 ppm presented lower volume of the yolk sac but without statistical significance.

Concluding, triiodothyronine did not affect the embryo development of *Brycon orbignyanus* in the study conditions. It seems that the hormone plays important role in the growth of larvae and that the highest dose (1 ppm) showed negative effect on this parameter suggesting to be an overdose.

1. INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoidianos desempenham um papel significativo na embriogênese, morfogênese, crescimento e sobrevivência de larvas de peixes. Eles estão presentes desde as primeiras fases de vida de muitas espécies, participando na regulação desses processos (Tagawa *et al.*, 1990; Lam, 1995; Kim & Brown, 1997; Liu *et al.*, 2000; Power *et al.*, 2001; Tagawa & Brown, 2001; Deane & Woo, 2003).

Esses hormônios (triiodotironina e tiroxina) estão presentes no vitelo e no corpo dos embriões de *Oncorhynchus kisutch* e suas concentrações variam segundo o grau de desenvolvimento (Leatherland & Barret, 1993). Em *Siganus guttatus*, os hormônios tireoidianos têm papel importante durante o desenvolvimento inicial da espécie (Ayson & Lam, 1993), situação evidente também em outras espécies de teleósteos (Lam, 1995).

No entanto, enquanto vários pesquisadores obtiveram resultados positivos ao utilizar os hormônios (Brown *et al.*, 1989; Yamano *et al.*, 1994; Tagawa *et al.*, 1995; de Jesus *et al.*, 1998; Schreiber & Specker, 1998, 1999; Nayak *et al.*, 2000a, b; Hseu-Jinn *et al.*, 2002), outros têm reportado resultados negativos ao utilizá-los (Nacario, 1983; Mylonas *et al.*, 1994; Huang *et al.*, 1996). Por outro lado, segundo Tagawa & Hirano (1991), em *Oryzias latipes*, uma diminuição de até 90% no nível de hormônios tireoidianos nos ovos não afetou o desenvolvimento inicial nem a sobrevivência das larvas.

Por outro lado, receptores para hormônios tireoidianos foram detectados nos ovos, embriões e larvas de diferentes espécies de peixes, e, juntamente com a síntese dos hormônios, são importantes no seu desenvolvimento inicial (Inui *et al.*, 1995; Llewellyn *et al.*, 1998; Raine & Leatherland, 1999; Liu *et al.*, 2000; Power *et al.*, 2001;

Jones *et al.*, 2002; Liu & Chan, 2002).

Apesar das informações disponíveis, o conhecimento da participação dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento inicial das espécies brasileiras ainda é limitado (Urbinati *et al.*, 2002; Vasques, 2003), e a sua participação precisa ser esclarecida. Do mesmo modo, são poucos os estudos que apresentam o desenvolvimento inicial completo dessas espécies e embora existam vários trabalhos a esse respeito, a maioria deles são incompletos ou são de difícil acesso (Nakatani *et al.*, 2001).

A piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) é uma espécie pertencente ao gênero *Brycon*, muito apreciada pela qualidade da sua carne e por seu comportamento agressivo, desejável na pesca esportiva, razões pelas quais tem alto valor comercial (Belmont, 1994; Zaiden, 1997; Senhorini, 1999). Está distribuída na Bacia do rio Paraná (Agostinho *et al.*, 1997), e é uma das espécies que, segundo Paiva (1982), está mais ameaçada de extinção devido a pesca predatória e à degradação do seu ambiente. Na última lista das espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção está classificada como criticamente em perigo (Fundação Biodiversitas, 2003).

No presente trabalho, objetivou-se estudar a influência da triiodotironina (T3) no desenvolvimento inicial da piracanjuba, visando melhorar o seu cultivo em cativeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

O trabalho foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal e no Centro de Microscopia Eletrônica, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal.

2.2 Material biológico e tratamentos

Para a obtenção dos ovos, embriões e larvas foram utilizadas 15 fêmeas e 9 machos de *Brycon orbignyanus*, os quais foram induzidos segundo a metodologia de Woynarovich & Horváth (1983). O experimento teve três repetições, sendo que em cada uma delas foram utilizados 3 machos e 5 fêmeas para a obtenção do material biológico. Os ovos das 5 fêmeas foram misturados num recipiente plástico e posteriormente fertilizados com uma mistura de sêmen dos três machos utilizados no estudo. Uma vez fertilizados, os ovos foram divididos em 6 porções iguais e hidratados com soluções, contendo triiodotironina (T_3), compondo-se os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm de triiodotironina. Antes de ser adicionada à água de hidratação, a triiodotironina foi diluída em DMSO (Brown *et al.*, 1988).

Depois de 15 minutos, os ovos hidratados foram lavados e transferidos para incubadoras com fluxo ascendente e contínuo de água, numa temperatura média de $28,01 \pm 0,16^\circ\text{C}$, onde permaneceram até 72 horas depois da eclosão das larvas, que

foram alimentadas desde a hora 24 com zooplâncton (principalmente cladoceros) e larvas de pirapitinga (*Piaractus brachypomus*).

2.3 Coleta e preservação do material

As coletas de ovos e embriões foram realizadas logo após a fertilização e posteriormente a cada 30 minutos até a hora 6 e de 2 em 2 horas até a eclosão. As larvas foram coletadas a cada 12 horas até a hora 72. Todo o material foi fixado em glutaraldeído 2,5%, lavado e mantido a 4°C em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH=7,4) para posterior análise.

2.4 Análise e processamento do material

A análise morfológica externa dos ovos e embriões foi realizada sob microscópio estereoscópico Karl Zeiss® com câmara fotográfica, sendo o cório retirado previamente com pinças histológicas e agulhas. As larvas foram pesadas em balança analítica Sartorius®, com precisão de 0,01 mg, e medidas sob microscópio estereoscópico Karl Zeiss®, com ocular micrométrica. A altura e comprimento do saco vitelino também foram medidos para cálculo do volume do vitelo, segundo a equação de Blaxter & Hempel (1963), citados por Lein *et al.* (1997).

Para a análise do desenvolvimento, foram observados em cada estágio, 30 ovos, embriões ou larvas de cada tratamento, sendo que algumas das larvas foram posfixadas com tetróxido de ósmio (1%), desidratadas em séries crescentes de álcool etílico, secas com CO₂ em secador de ponto crítico Tousimis® 780A, metalizadas com ouro em

metalizador Jeol[®] JFC1100 e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura Jeol[®] JSM5410.

2.5 Análise estatística

Quanto aos resultados de desenvolvimento embrionário, a análise foi unicamente descritiva, sem receber nenhum tratamento estatístico. O resultados de peso, comprimento e volume do saco vitelino das larvas foram submetidos à análise de variância e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). A análise foi feita no aplicativo SAS v.8.

3. RESULTADOS

Baseados nas observações da morfologia externa dos ovos e embriões, pode-se afirmar, que em geral não ocorreram diferenças no desenvolvimento embrionário da piracanjuba, sob tratamento com triiodotironina na água de hidratação dos ovos. Não obstante, numa das repetições do tratamento 5 (0,5 ppm de T3), observou-se um desenvolvimento mais acelerado, pois a maioria dos estágios de desenvolvimento aconteceu mais rápido. Nessas amostras (n=10), a gastrulação acabou 30 minutos antes que nos outros tratamentos e a diferenciação do embrião foi antecipada. A eclosão, neste caso, ocorreu às 12 horas e 15 minutos, enquanto que nos outros tratamentos a média foi de 13 horas. A seguir, se apresenta o desenvolvimento observado no tratamento 1 (sem hormônio).

Os ovos recém fertilizados apresentaram uma coloração azul escura e eram telolécitos. O diâmetro médio foi de $1,59 \pm 0,15$ mm (n=300). A diferenciação dos polos animal e vegetativo foi evidente 30 minutos após fertilização (Figura 1a), dando origem à segmentação, meroblástica e discoidal. A segmentação prosseguiu (Figura 1b) e após 2 horas e 30 minutos observou-se o estágio de blástula. Na hora 3 caracterizou-se a gastrulação, sendo observado o início do movimento de epibolia, envolvendo quase a metade da massa vitelínica (Figura 1c). O movimento foi avançando (Figuras 1d, 1e) até completar a gastrulação (Figura 1f) e foi possível observar claramente o fechamento do blastóporo na hora 6 (Figura 1g). Posteriormente, na hora 8, foi observado um embrião inicial onde se observou o anel embrionário em desenvolvimento, originando a região caudal e cefálica do mesmo, que progrediram e se tornaram mais evidentes pelo consumo do vitelo, que provocou diminuição do saco vitelino e formação e

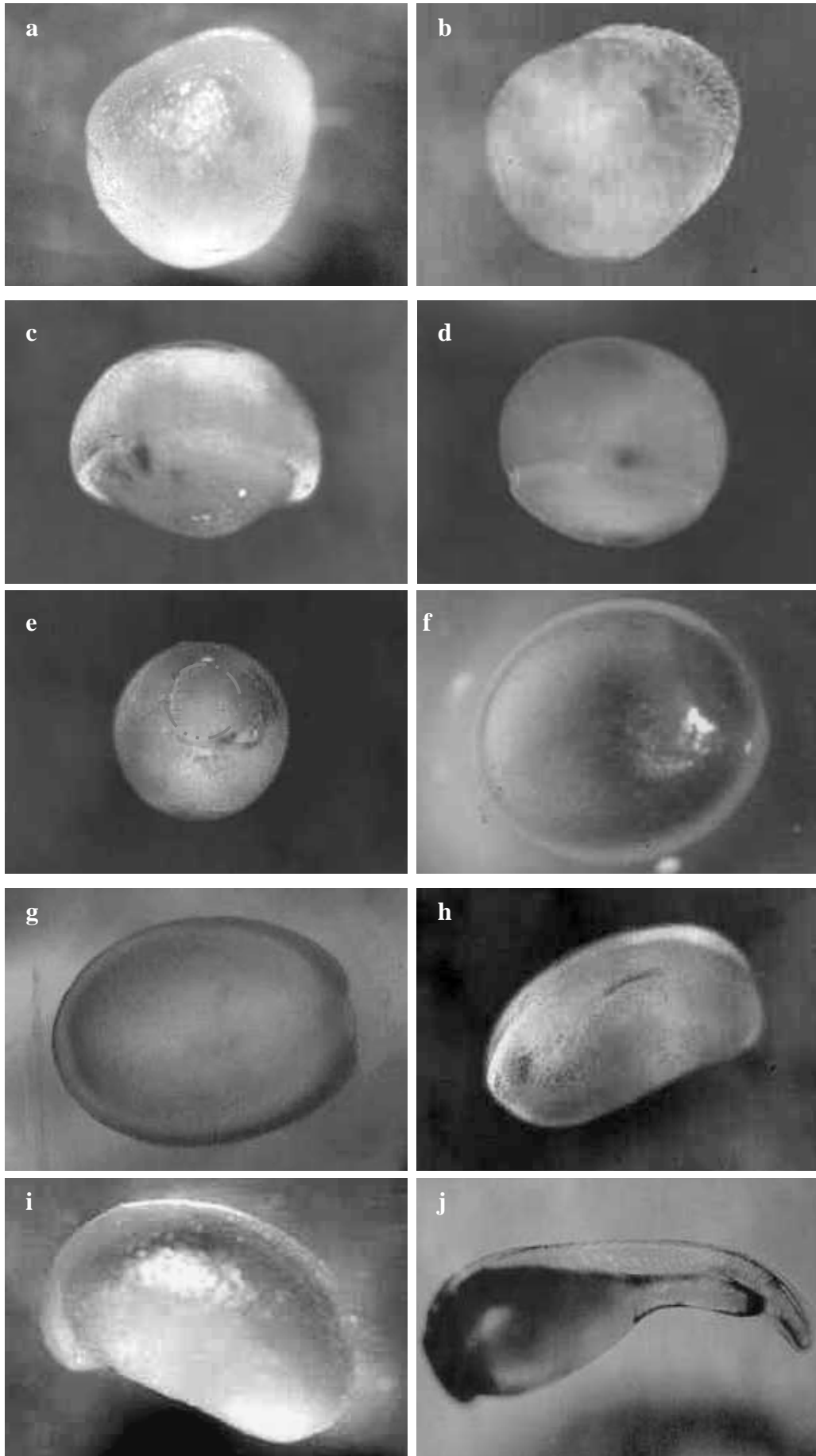


Figura 1. Desenvolvimento embrionário de *Brycon orbignyanus*

- a. Diferenciação dos pólos animal e vegetal. 30 min. após fertilização (50X)
- b. Fase de segmentação. 2 h. após fertilização (50X)
- c. Fase de gastrulação inicial. 3 h. após fertilização (40X)
- d. Fase de gastrulação intermediária. 4 h. e 30 min. após fertilização (32X)
- e. Fase de gastrulação final. 5 h. após fertilização (32X)
- f. Fase de gastrulação final. 5 h. e 30 min. após fertilização (40X)
- g. Fechamento do blastóporo. 6 h. após fertilização (40X)
- h. Embrião inicial. 8 h. após fertilização (40X)
- i. Embrião com 10 h. após fertilização (40X)
- j. Larva recém eclodida. 13 h. após fertilização (32X)

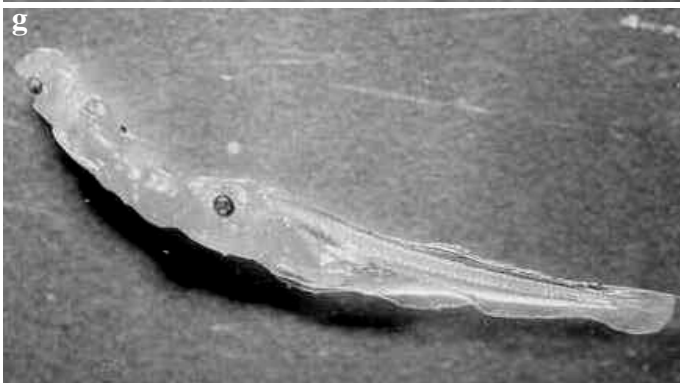
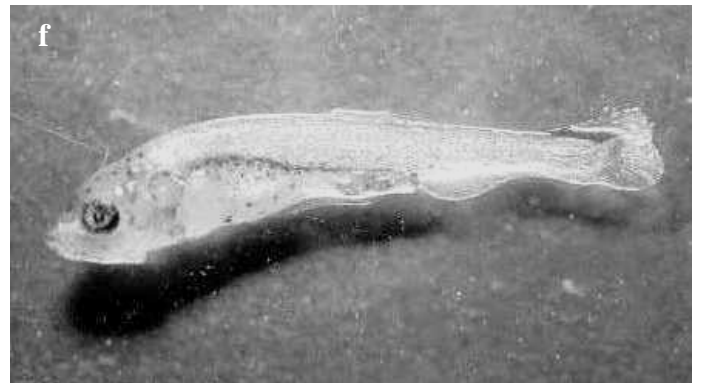
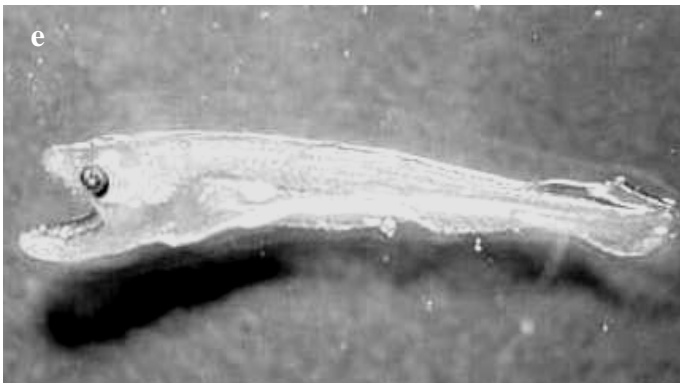
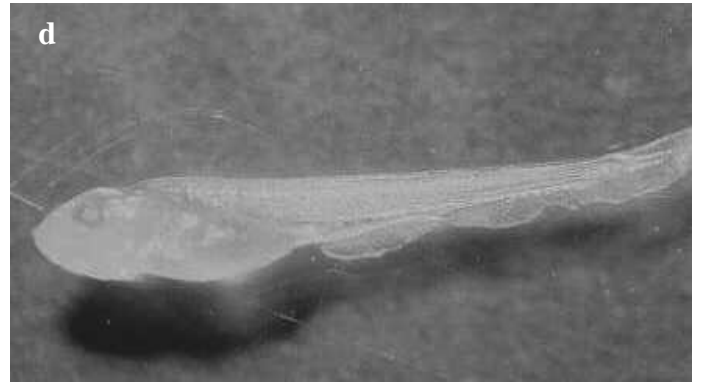
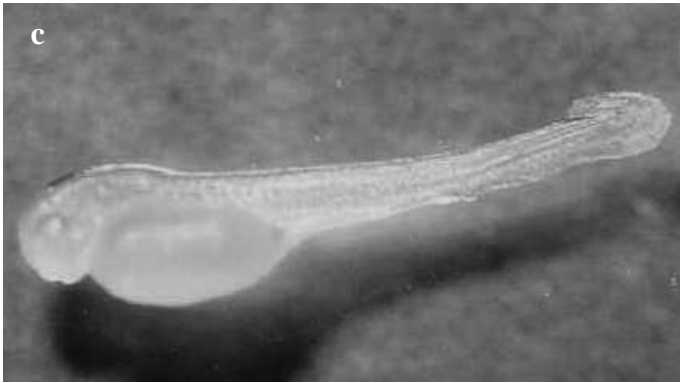


Figura 2. Desenvolvimento larval de *Brycon orbignyanus*

- a. Larva com 12 h. após a eclosão (32X)
- b. Larva com 24 h. após a eclosão (32X)
- c. Larva com 36 h. após a eclosão (25X)
- d. Larva com 48 h. após a eclosão (20X)
- e. Abertura máxima da boca. 60 h. após a eclosão (20X)
- f. Larva com 72 h. após a eclosão (16X)
- g. Canibalismo em larvas de 48 h. após a eclosão (12X)
- h. Canibalismo em larvas de 48 h. após a eclosão (25X)
- i. Canibalismo em larvas de 60 h. após a eclosão (25X)
- j. Canibalismo em larvas de 60 h. após a eclosão (25X)

desenvolvimento das dobras subcefálica e caudal (Figura 1h). O embrião continuou seu desenvolvimento e crescimento (Figura 1i) e na hora 12, ocorreu um estreitamento do vitelo na região posterior, iniciando o desprendimento da cauda. Na hora 13, aconteceu a eclosão (Figura 1j). Nesse momento, as larvas pesavam $0,79 \pm 0,04$ mg e mediam $3,17 \pm 0,11$ mm (n=30).

Quanto ao desenvolvimento larval, as diferentes fases são apresentadas nas Figuras 2 e 3, observando-se o alto grau de canibalismo apresentado pela espécie, inclusive antes de estar completamente desenvolvida. Embora a abertura máxima da boca somente tenha sido evidenciada nas 60 horas após a eclosão (Figuras 2e, 3e), as larvas começaram o canibalismo muito antes disso, desde as 36 horas, com um marcado incremento na hora 48, quando apareceram grupos de larvas se atacando ao mesmo tempo (Figura 2g, 2h) sem que nenhuma delas pudesse ingerir as outras por completo, causando a mortalidade de todos os indivíduos envolvidos na situação. Também foi evidente nesta fase, que se a presa fosse de menor tamanho, poderia ser facilmente ingerida (Figura 3g), como ocorreu na hora 60 (Figuras 2i, 2j), quando as presas foram ingeridas totalmente, sem ocasionar a morte do predador (Figura 3h).

Os resultados de peso, comprimento e volume do saco vitelino, apresentados na Tabela 1, indicam que só foi possível registrar alteração no peso das larvas no final da observação. Nas 60 horas, as larvas do tratamento 5 (0,5 ppm de T3) são maiores, bem como nas 72 horas, enquanto os pesos mais baixos são verificados no tratamento 6, de dose mais alta (1 ppm de T3). Embora sem significância estatística, as larvas dos outros tratamentos com hormônio têm pesos mais altos que do controle. Não foram registradas diferenças no comprimento das larvas. As larvas do tratamento 5, também apresentaram menor volume de vitelo, embora sem diferença estatística.

Tabela 1. Médias \pm desvio padrão do peso (mg), comprimento (mm) e volume do vitelo (mm^3) de larvas de piracanjuba nas diferentes amostragens.

		Tempo de cultivo (horas)						
T3 (ppm)		0	12	24	36	48	60	72
Peso (mg)	0	0,72 \pm 0,08 ^b	0,75 \pm 0,19 ^a	0,96 \pm 0,15 ^a	1,13 \pm 0,42 ^a	2,53 \pm 0,41 ^a	4,21 \pm 0,47 ^{ab}	7,20 \pm 0,93 ^{ab}
	0,01	0,79 \pm 0,08 ^{ab}	0,71 \pm 1,14 ^a	0,95 \pm 0,16 ^a	1,11 \pm 0,31 ^a	2,65 \pm 0,52 ^a	5,01 \pm 0,60 ^{ab}	8,03 \pm 0,55 ^{ab}
	0,05	0,81 \pm 0,07 ^a	0,81 \pm 0,13 ^a	0,97 \pm 0,11 ^a	1,16 \pm 0,41 ^a	2,48 \pm 0,63 ^a	4,22 \pm 0,93 ^{ab}	7,30 \pm 0,86 ^{ab}
	0,10	0,83 \pm 0,06 ^a	0,81 \pm 0,12 ^a	0,98 \pm 0,11 ^a	1,08 \pm 0,21 ^a	2,79 \pm 0,56 ^a	4,81 \pm 0,50 ^{ab}	7,82 \pm 0,48 ^{ab}
	0,50	0,78 \pm 0,08 ^{ab}	0,82 \pm 0,09 ^a	0,97 \pm 0,11 ^a	1,18 \pm 0,39 ^a	2,34 \pm 0,38 ^a	5,25 \pm 0,54 ^a	8,21 \pm 0,92 ^a
	1,00	0,82 \pm 0,07 ^a	0,81 \pm 0,10 ^a	0,93 \pm 0,13 ^a	1,14 \pm 0,32 ^a	2,93 \pm 0,60 ^a	3,99 \pm 0,83 ^b	6,99 \pm 0,84 ^b
CV (%)		3,78	14,39	9,61	17,80	12,22	9,58	5,42
Comprimento (mm)	0	3,09 \pm 0,54 ^a	5,00 \pm 0,47 ^a	6,22 \pm 0,31 ^a	6,74 \pm 0,48 ^a	7,34 \pm 0,34 ^a	8,29 \pm 0,53 ^a	11,30 \pm 0,69 ^a
	0,01	3,19 \pm 0,44 ^a	4,99 \pm 0,30 ^a	5,97 \pm 0,40 ^a	6,80 \pm 0,38 ^a	7,66 \pm 0,35 ^a	8,59 \pm 0,63 ^a	11,59 \pm 0,56 ^a
	0,05	3,14 \pm 0,36 ^a	5,24 \pm 0,26 ^a	6,06 \pm 0,49 ^a	6,69 \pm 0,47 ^a	7,72 \pm 0,37 ^a	8,56 \pm 0,61 ^a	11,49 \pm 0,67 ^a
	0,10	3,24 \pm 0,57 ^a	5,22 \pm 0,40 ^a	6,28 \pm 0,41 ^a	6,77 \pm 0,43 ^a	7,46 \pm 0,46 ^a	8,59 \pm 0,50 ^a	11,59 \pm 0,67 ^a
	0,50	3,03 \pm 0,53 ^a	5,06 \pm 0,49 ^a	6,18 \pm 0,49 ^a	6,61 \pm 0,64 ^a	7,33 \pm 0,40 ^a	8,55 \pm 0,56 ^a	11,56 \pm 0,56 ^a
	1,00	3,35 \pm 0,53 ^a	5,16 \pm 0,34 ^a	6,21 \pm 0,44 ^a	6,89 \pm 0,37 ^a	7,58 \pm 0,35 ^a	8,22 \pm 0,49 ^a	11,23 \pm 0,48 ^a
CV (%)		15,76	7,77	7,18	6,87	2,43	5,78	4,14
Volume vitelo (mm^3)	0	0,42 \pm 0,10 ^a	0,37 \pm 0,09 ^a	0,31 \pm 0,07 ^a	0,20 \pm 0,06 ^a			
	0,01	0,48 \pm 0,12 ^a	0,41 \pm 0,08 ^a	0,26 \pm 0,07 ^a	0,21 \pm 0,06 ^a			
	0,05	0,49 \pm 0,11 ^a	0,43 \pm 0,08 ^a	0,27 \pm 0,07 ^a	0,20 \pm 0,07 ^a			
	0,10	0,46 \pm 0,09 ^a	0,39 \pm 0,09 ^a	0,28 \pm 0,07 ^a	0,20 \pm 0,06 ^a			
	0,50	0,41 \pm 0,09 ^a	0,37 \pm 0,10 ^a	0,28 \pm 0,07 ^a	0,17 \pm 0,08 ^a			
	1,00	0,50 \pm 0,11 ^a	0,42 \pm 0,09 ^a	0,30 \pm 0,06 ^a	0,21 \pm 0,07 ^a			
CV (%)		13,06	17,29	15,12	18,70			

n = 30

CV = coeficiente de variação

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas apresentam diferenças significativas entre os tratamentos (teste de Tukey, 5%)

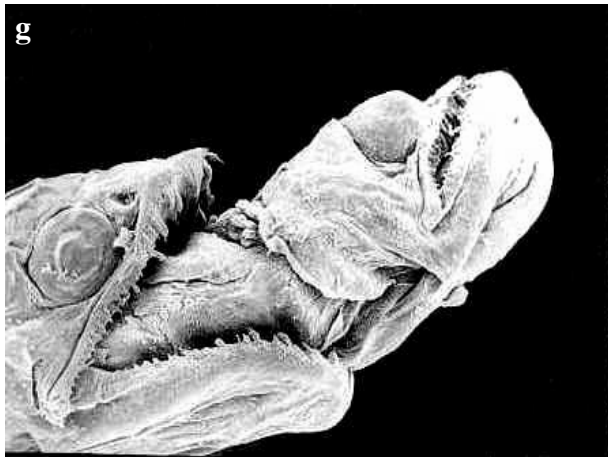
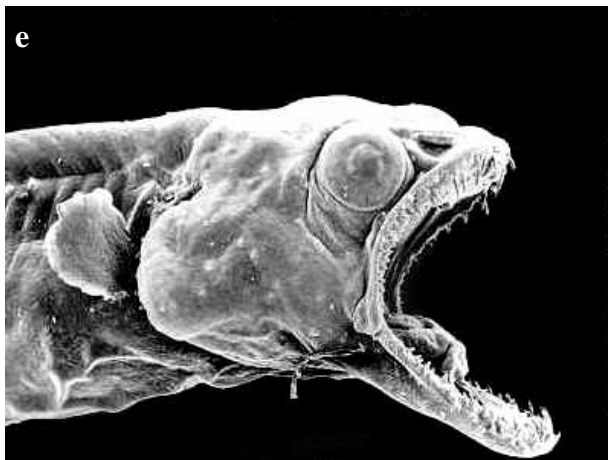


Figura 3. Desenvolvimento bucal de *Brycon orbignyana*

- a. Vestígio da boca. 12 h. após a eclosão (525X)
- b. Início da abertura bucal. 24 h. após a eclosão (350X)
- c. Aparecimento dos dentes. 36 h. após a eclosão (350X)
- d. Desenvolvimento bucal avançado. 48 h. após a eclosão (350X)
- e. Abertura máxima da boca. 60 h. após a eclosão (175X)
- f. Boca completamente desenvolvida. 72 h. após a eclosão (350X)
- g. Canibalismo das larvas. 48 h. após a eclosão (175X)
- h. Canibalismo das larvas. 60 h. após a eclosão (350X)

4. DISCUSSÃO

Segundo os resultados obtidos, pode-se afirmar que o desenvolvimento embrionário da piracanjuba não foi influenciado pela aplicação de triiodotironina na água de hidratação dos ovos. No entanto, foi observada uma aceleração do processo, em algumas amostras do tratamento de 0,5 ppm de T3. Porém, nas outras amostras do mesmo tratamento não foi evidente essa diferença.

Foi possível comprovar que, nesta espécie, o desenvolvimento é similar ao da maioria dos peixes de água doce (Cussac *et al.*, 1985; Matkovic *et al.*, 1985; Castellani *et al.*, 1994; Ribeiro *et al.*, 1995; Nakatani *et al.*, 2001). Do mesmo modo, se observou que os ovos são telolécitos e que a segmentação é meroblástica e discoidal. Essas características também são próprias dos peixes teleósteos (Balinsky, 1975; Leme dos Santos & Azoubel, 1996; Garcia & Garcia, 2001).

Quanto ao tamanho dos ovos, estes apresentaram um diâmetro médio de $1,59 \pm 0,15$ mm, como reportado por Vazzoler (1996) para ovócitos maduros da mesma espécie (1,55 mm), o que discorda do apresentado por Nakatani *et al.* (2001) de 3,10 mm. No entanto, esses autores descrevem a presença de um espaço perivitelino amplo, razão pela qual pode-se supor que se estejam referindo a ovos hidratados, sendo nesse caso mais adequado fazer a comparação com o diâmetro do vitelo apresentado por eles (1,52 mm), havendo, deste modo, concordância com os resultados deste estudo. Segundo esses mesmos pesquisadores, a diferenciação do embrião inicia-se cerca de 6 horas e 15 minutos após a fertilização, resultado similar ao obtido neste estudo, onde o fechamento do blastóporo e a formação do embrião aconteceram na hora 6. Em outras espécies do mesmo gênero, a diferenciação do embrião também aconteceu durante esse período. Assim, no *Brycon cephalus*, o embrião estava diferenciado às 5 horas e 30

minutos (Lopes *et al.*, 1995; Romagosa, 1998), enquanto que, no *Brycon siebenthalae*, a diferenciação ocorreu às 6 horas (Landínez, 1995). Já o desprendimento da cauda aconteceu na hora 12, como reportado por Nakatani *et al.* (2001).

A eclosão ocorreu às 13 horas numa temperatura média de $28,01 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$, tempo um pouco inferior ao apresentado por Nakatani *et al.* (2001), de 14 horas a $27,9^{\circ}\text{C}$. Segundo Lopes *et al.* (1995) e Romagosa (1998), a eclosão em *B. cephalus* ocorreu às 10 horas e 30 minutos, a 29 e 30°C , respectivamente. Já para *B. moorei* e *B. siebenthalae*, a eclosão aconteceu às 14 horas numa temperatura média de 27°C (Otero, 1989; Landínez, 1995). Esses resultados aparentemente mostram um padrão para as espécies do gênero *Brycon*, podendo-se atribuir as variações encontradas às diferentes temperaturas nos estudos citados. O comprimento das larvas na hora da eclosão foi de $3,17 \pm 0,11$ mm, resultados semelhantes aos obtidos por Nakatani *et al.* (2001), de 3,50 mm.

Quanto ao crescimento das larvas, não foram observadas diferenças de comprimento entre os tratamentos. Porém, o peso das larvas provenientes de ovos expostos a 0,5 ppm de T3 foi maior nas horas 60 e 72, sugerindo que esta seria a melhor dose para ser utilizada nesta espécie, devido a que, embora sem significância estatística, ao utilizar as doses menores (0,01; 0,05 e 0,1 ppm), já se observou uma melhora no peso das larvas. Entretanto, na dose maior (1 ppm), o peso foi significativamente menor.

Essas observações já tinham sido feitas em *Sarotherodon niloticus* por Nacario (1983), que observou que a tiroxina em dose baixa (0,1 ppm), melhorava o crescimento, mas em dose maior (0,5 ppm) era prejudicial para as larvas. No entanto, Lam *et al.* (1985) reportaram melhora no crescimento de *Chanos chanos* ao utilizar a mesma dose. Huang *et al.* (1996) observaram que doses baixas de T3 ($1-10 \text{ ng ml}^{-1}$) não tinham efeito nas larvas de *Morone saxatilis*; mas que doses maiores ($25-100 \text{ ng ml}^{-1}$) tinham efeito

negativo. Em *Epinephelus coioides*, de Jesus *et al.*, 1998, demonstraram que doses baixas (0,1 ppm) de T3 poderiam ser utilizadas em etapas de desenvolvimento inicial da espécie.

Quanto ao saco vitelino, embora sem diferença estatística, o hormônio parece ter influenciado no tempo de reabsorção, fato evidente pelo menor volume encontrado na última amostragem, nas larvas do tratamento 5 (0,5 ppm de T3), resultado que concordaria com os apresentados por Lam (1980) e Nacario (1983), em espécies do gênero *Sarotherodon*. Essa reabsorção antecipada faria com que as larvas provenientes desse tratamento pudessem alimentar-se mais cedo, contribuindo de algum modo para explicar o maior peso obtido nelas. Embora sem significância estatística, este fato reforça o efeito mais evidente desta concentração de hormônio. Esses resultados concordam com os apresentados por Lam (1994), que concluiu que as larvas contêm hormônios tireoidianos, cujos níveis vão diminuindo à medida que o indivíduo se desenvolve, durante a reabsorção do saco vitelino, processo acelerado por estes hormônios.

Os resultados sugerem que a triiodotironina da maneira como foi utilizada neste estudo não tem efeito no desenvolvimento embrionário de *Brycon orbignyanus*. Não obstante, parece ter participação importante no ganho de peso das larvas, exceto pela dose maior (1 ppm) que promoveu efeito negativo para esse parâmetro. Embora a metodologia utilizada pareça adequada, sugere-se realizar novos trabalhos para a confirmação dos dados obtidos e para estabelecer uma dose mais apropriada (por exemplo 0,75 ppm) para a espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINHO, A. JÚLIO, JR. & PETRERE, M. 1997. Itaipu Reservoir (Brazil): Impacts of the Impoundment on the Fish Fauna and Fisheries. In: COWX, I.G. (ED). Rehabilitation of Freshwaters Fisheries. Oxford. Fishing New Books, p. 171-184.
- AYSON, F. & LAM, J. 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its affect on larval growth and survival. *Aquaculture* 109: 83-93.
- BALINSKY, B. 1975. Introducción a la embriología. Omega edt. Barcelona. 631p.
- BELMONT, R. 1994. Considerações sobre a propagação artificial da piracanjuba, *Brycon orbignianus* – CESP. In: Anais do I seminário sobre criação de espécies do gênero *Brycon*, Pirassununga – SP : CEPTA. 82p.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., COCHRAN, M. & BERN, H. 1989. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. *Fish. Physiol. Biochem.* 7(1-6): 295-299.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., NUÑEZ, J., HADLEY, C., VANEENENNAAM, J., NISHIOKA, R. & BERN, H. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J. Exp. Zool.* 248: 168-176.
- CASTELLANI, L., GODINHO, H., LEME DOS SANTOS, H., SANT, R., FARIA, A. & SANTOS, M. 1994. Desenvolvimento embrionário do curimatá *Prochilodus lineanus* (Valenciennes, 1836) (Cypriniformes, prochilodontidae). *Rev. Bras. Morfol.* 11(2): 99-105.
- CUSSAC, V., MATKOVIC, M. & MAGGESE, M. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae) II. organogénesis media, organogénesis tardía y eclosión. *Rev. Bras. Biol.* 45(1/2): 149-160.
- de JESUS, E., TOLEDO, J. & SIMPAS, M. 1998. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.* 112: 10-16.
- DEANE, E. & WOO, N. 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. *Life. Sci.* 72: 805-818.
- FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br>>. Acesso em: 21 jan. 03.
- GARCIA, S. & GARCIA, C. 2001. Embriologia. 2ª ed. Porto Alegre. 416p.
- HSEU-JINN, K., CHANG, H. & TING, Y. 2002. Inducing effects of hormones in metamorphosis arrested grouper larvae. *J. Fish. Soc. Taiwan.* 29(1): 79-83.

- HUANG, L., SPECKER, J. & BENGTON, D. 1996. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish. Physiol. Biochem.* 15(1): 57-64.
- INUI, Y., YAMANO, K. & MIWA, S. 1995. The role thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. *Aquaculture* 135: 87-98.
- JONES, I., ROGERS, S., KILLE, P. & SWEENEY, G. 2002. Molecular cloning expression of thyroid hormone receptor alpha during salmonid development. *Gen. Comp. Endocrinol.* 125: 226-235.
- KIM, B. & BROWN, C. 1997. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of Pacific threadfin. *Amer. Zool.* 37: 470-481.
- LAM, J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambicus*. *Aquaculture* 21: 287-291.
- LAM, J. 1994. Hormones and eggs/larval quality in fish. *J. World. Aquac. Soc.* 25(1): 2-12.
- LAM, J. 1995. Eggs in fish: are hormones involved?. *Aquaculture* 135(1-3): 74.
- LAM, J., JUARIO, J. & BANNO, J. 1985. Effect of thyroxine on growth and development in post-sac larvae of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 46: 179-184.
- LANDINEZ, M. 1995. Inducción a la reproducción del yamú *Brycon siebenthalae*, a partir de extracto de hipofisis de carpa (EPC). *Bol. Cient. INPA.* 3: 5-17.
- LEATHERLAND, J. & BARRETT, S. 1993. 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. Physiol. Biochem.* 12(2): 149-159.
- LEIN, I., HOLMEFJORD, I. & RYE, M. 1997. Effects of temperature on yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 157: 123-135.
- LEME DOS SANTOS, H. & AZOUBEL, R. 1996. Embriologia comparada. FUNEP, Jaboticabal. 189p.
- LIU, Y. & CHAN, W. 2002. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation* 70: 36-45.
- LIU, Y., LO, L., & CHAN, W. 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. Cell Endocrinol.* 159: 187-195.

- LLEWELLYN, L., RAMSURN, V., SWEENEY, G., WIGHAM, T. & POWER, D. 1998. Expression thyroid hormone receptor during early development of the sea bream (*Sparus aurata*). Ann. N.Y. Acad. Sci. 839: 610-611.
- LOPES, R., SENHORINI, J. & SOARES, M. 1995. Crescimento e sobrevivência de larvas de matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869 (Pisces, Characidae) sob diferentes dietas alimentares. Bol. Téc. CEPTA. 7: 41-48.
- MATKOVIC, M., CUSSAC, V., CUKIER, M., GUERRERO, G. & MAGGESE, M. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae) I. Segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. Rev. Bras.Biol. 45(1/2): 39-50.
- MYLONAS, C., SULLIVAN, C., & HINSHAW, J. 1994. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. Fish. Physiol. Biochem.13(6): 485-493.
- NACARIO, J. 1983. The effect of thyroxine on larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (Tilapia nilotica). Aquaculture 34: 73-83.
- NAKATANI, K., AGOSTINHO, A., BAUMGARTNER, G., BIALETZKI, A., SANCHES, P., MAKRAKIS, M. & PAVANELLI, C. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação. Editora Universidade Estadual de Maringá. 378p.
- NAYAK, P., MISHRA,T., MISHRA, J., AYYAPPAN, S. & SINGH, B. 2000a. Changes in thyroid hormones and 5 monodeiodinase activity during embryonic and larval developments in freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. Ind. J. An. Sci.70(11): 1191-1195.
- NAYAK, P., MAHAPATRA,C., MISHRA,T., MISHRA, J., SINGH, B. & AYYAPPAN, S. 2000b. Thyroid hormones levels during reproduction development of embryo and juvenile indian major carp, *Catla catla* (Ham). Ind. J. An. Sci. 70(11): 1187-1190.
- OTERO, R. 1989. Reprodución y técnicas de propagación de la dorada, *Brycon moorei sinuensis*. Memorias Segunda Reunion Red Nacional de Acuicultura. COLCIENCIAS, Bogotá. 157 – 168p.
- PAIVA, M. 1982. Grandes Represas do Brasil. Brasília: Editerra. 292p.
- POWER, D., LLEWELLYN, L., FAUSTINO, M., NOWELL, M., BJÖRNSSON, B., EINARSDOTTIR, I., CANARIO, A. & SWEENEY, G. 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. Comp. Biochem. Physiol. part C. 130: 447-459.
- RAINE, J. & LEATHERLAND, J. 1999. Ontogeny of thyroid tissue and tissue thyroid hormone clearance in rainbow trout embryos reared at two temperatures. Fish. Physiol. Biochem. 20: 209-217.

- RIBEIRO, C., LEME DOS SANTOS, H. & BOLZAN, A. 1995. Estudo comparativo da embriogênese de peixes ósseos (pacu, *Piaractus mesopotamicus*; tambaqui, *Colossoma macropomum* e híbrido tambacu). Rev. Bras. Biol. 55(supl 1): 65-68.
- ROMAGOSA, E. 1998. Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultra-estrutura) e indução da reprodução do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro. Tese, Universidade de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas. São Carlos – SP. 218p.
- SCHREIBER, A & SPECKER, J. 1998. Metamorphosis in summer flounder (*Paralichthys dentatus*): stage-specific developmental response to altered thyroid status. Gen. Comp. Endocrinol. 111: 156-166.
- SCHREIBER, A & SPECKER, J. 1999. Early larval development and metamorphosis in the summer flounder: changes in per cent whole-body water content and effects of altered thyroid status. J. Fish. Biol. 55: 148-157.
- SENHORINI, J. 1999. Biologia larval do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) e da piracanjuba *Brycon orbignianus* (Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae) em viveiros. Tese, Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP 101p.
- TAGAWA, M. & BROWN, C. 2001. Entry of thyroid hormones into tilapia oocytes. Comp. Biochem. Physiol. Part B. 129: 605-611.
- TAGAWA, M. & HIRANO, T. 1991. Effects of thyroid hormone deficiency in eggs early development of the medaka, *Oryzias latipes*. J. Exp. Zool. 257: 360-366.
- TAGAWA, M., de JESUS, E. & HIRANO, T. 1995. The thyroid hormone monodeiodinase system during flounder metamorphosis. Aquaculture 135: 127-129.
- TAGAWA, M., MIWA, S., INUI, Y., de JESUS, E. & HIRANO, T. 1990. Changes in thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis of the flounder, *Paralichthys olivaceus*. Zool. Sci. 7: 7-96.
- URBINATI, E., SOARES, M & SENHORINI, J. 2002. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae). J. Aquac. Trop. (in press).
- VAZZOLER, A. 1996. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, Maringá. 169p.
- WOYNAROVICH, E. & HORVATH, L. 1983. A propagação artificial de peixes de águas tropicais. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq. 220p.
- YAMANO, K., TAKANO-OHMURO. H. & OBINATA, T. 1994. Effect of Thyroid hormone on developmental transition of myosin light chains during flounder metamorphosis. Gen. Comp. Endocrinol. 93(3): 321-326.

ZAIDEN, S. 1997. Estrutura testicular da piracanjuba *Brycon orbignianus* (Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae), nos vários estádios do ciclo sexual. Dissertação Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 78p.

CAPÍTULO V

INFLUÊNCIA DA TRIIODOTIRONINA (T3)
NO CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA
DAS LARVAS DE PIRACANJUBA
(*Brycon orbignyanus*)

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da triiodotironina (T_3) aplicada na água de hidratação dos ovos no crescimento e na sobrevivência das larvas de piracanjuba *Brycon orbignyianus*. O estudo foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, e na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo.

Foram utilizadas larvas, provenientes de ovos fertilizados, em cuja água de hidratação foi adicionada T_3 , compondo-se os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm. Os ovos permaneceram expostos às soluções durante 15 minutos, momento em que foram lavados e transferidos para incubadoras com fluxo contínuo de água, onde permaneceram até 72 horas após a eclosão das larvas. Posteriormente, as larvas foram distribuídas aleatoriamente em 3 caixas por tratamento numa densidade de 5 larvas L^{-1} , alimentadas com plâncton (cladóceras), larvas de *Piaractus brachyomus* e ração comercial de 48% de PB durante os primeiros 3 dias; do dia 4 até o 10, plâncton e ração e nos últimos 5 dias somente ração. Foram realizadas coletas nos dias 1, 5, 10 e 15 para avaliação de peso, comprimento, taxa de crescimento específico e sobrevivência. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%), no aplicativo SAS v.8.

Os resultados mostraram que no final da larvicultura, o comprimento das larvas não foi diferente entre os tratamentos; mas o peso das larvas provenientes de ovos imersos em solução sem hormônio foi significativamente maior. Entretanto, nesse tratamento a sobrevivência foi menor, sugerindo que nos grupos tratados com T_3 , houve menor predação.

Concluindo, pode-se afirmar que nas condições do experimento, a triiodotironina não afetou o crescimento das larvas de piracanjuba, embora tenha aumentado a sua sobrevivência. O fato de não ter acelerado o crescimento é um aspecto menos importante durante esta fase de vida dos peixes, pois o principal objetivo neste período, é produzir uma quantidade maior de indivíduos, embora com peso menor.

ABSTRACT

This experiment investigated the effect of triiodothyronine (T_3) applied to the eggs of piracanjuba *Brycon orbignyanus* through immersion on the growth and survival of larvae. The work was carried out at Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, and at Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

The experiment used larvae produced from fertilized eggs immersed in T_3 solutions constituting the treatments: T1-no hormone; T2-0.01 ppm; T3-0.05 ppm; T4-0.1 ppm; T5-0.5 ppm and T6-1 ppm. Eggs were exposed to T_3 for 15 min, washed and transferred to incubators where they were held until 72 h after hatching. Following, larvae were randomly distributed in plastic boxes (3 for treatment) (5 larvae L^{-1}), fed plankton, larvae of *Piaractus brachypomus* and commercial ration (48% CP) in the first 3 days, plankton and ration from day 4 to 10 and ration in that last 5 days. Larvae were sampled at days 1, 5, 10 and 15 for determination of body weight and length, specific growth rate and survival. The results were submitted to ANOVA and means compared by Tukey test (5%), with a SAS software.

The results showed that at the end of the cultivation the larvae length was not affected by the hormone but the weight of larvae produced by eggs immersed in control solution (no hormone) was higher. In this treatment the survival was lower, suggesting that among hormone-treated larvae the predation was reduced.

Concluding, in the conditions of this study, triiodothyronine did not affect the growth of larvae of piracanjuba but increased the survival rate of the species. The information brought by the study is quite important because shows that the production of seed can be enhanced by hormone treatment especially regarding the survival.

1. INTRODUÇÃO

A participação dos hormônios tireoidianos (T_3 e T_4) no desenvolvimento e crescimento dos peixes é um fato comprovado (Lam, 1994; Power *et al.*, 2001; Liu & Chan, 2002). Porém, embora a maioria dos trabalhos reporte resultados positivos, existem outros que apresentam efeitos negativos ou nulos. Assim, alguns estudos comprovam que esses hormônios melhoram o crescimento e sobrevivência das larvas (Brown *et al.*, 1989; Ayson & Lam, 1993; Lam, 1995), seja adicionado diretamente na água ou por transferência materna (Lam, 1994; Urbinati *et al.*, 2002), embora em *Morone saxatilis* e em *Leporinus elongatus*, foram observados resultados opostos ao utilizar-se T_3 (Huang *et al.*, 1996; Dumont-Neto, 2000). Tachihara *et al.* (1997) encontraram que a sobrevivência das larvas de *Seriola lalandi* melhorava consideravelmente ao se administrar T_3 nas mães, enquanto que Mylonas *et al.* (1994) observaram um efeito negativo na descendência de fêmeas de *Salmo trutta* tratadas com T_3 , pois as larvas obtidas apresentaram uma alta porcentagem de anormalidades.

Contudo, Lam (1994) conclui que doses baixas de hormônios tireoidianos, seja por imersão ou por injeção na mãe, promovem o crescimento, desenvolvimento e sobrevivência de larvas de vários peixes, embora uma dose alta possa ser contraproducente, fato comprovado por Nugegoda *et al.* (1994), em larvas de *Lates calcarifer*, e por de Jesus *et al.* (1998), em *Epinephelus coioides*.

Por outro lado, também existe controvérsia acerca da possibilidade de que a T_3 possa diminuir o canibalismo das espécies, devido a uma capacitação alimentar precoce ou a uma uniformidade dos lotes de larvas (Brown & Kim, 1995; Urbinati, 2002). Urbinati *et al.* (2002) encontraram maior sobrevivência e redução de canibalismo nas

larvas de *Brycon cephalus*, sob efeito de hormônio materno, resultados similares aos obtidos por Kim & Brown (1997) ao utilizarem T3 em combinação com cortisol na água das larvas de *Polidactylus sexfilis*. Não obstante, Hey *et al.* (1996) mostraram que a triiodotironina aumentava o canibalismo das larvas de *Stizostedion vitreum*.

Um dos maiores problemas na produção aquícola se apresenta na larvicultura, pois é nessa fase que ocorre a maior mortalidade do processo produtivo, limitando a produção de alevinos de boa qualidade (Tanaka *et al.*, 1995; Gomes *et al.*, 2000). Essa mortalidade geralmente está relacionada a problemas no hábito alimentar das larvas, que em muitas espécies apresentam alto grau de canibalismo logo após a reabsorção do saco vitelino. Dentre essas espécies, estão as do gênero *Brycon* (Woynarovich & Sato, 1989; Piovezan, 1994; Landínez, 1995; Senhorini, 1999; Atencio-Garcia, 2000; Baras *et al.*, 2000), muito apreciadas na piscicultura comercial.

Uma das espécies destacadas é a piracanjuba que apresenta carne de excelente qualidade, além de ser muito apreciada na pesca esportiva. Além disso, o estudo e implementação de novas tecnologias de cultivo poderão contribuir para a recuperação dos estoques naturais da espécie, uma das mais ameaçadas de extinção no Brasil (Fundação Biodiversitas, 2003). Por esses motivos foi selecionada para o presente trabalho. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar a influência da triiodotironina (T3) no crescimento e sobrevivência de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

O estudo foi desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal.

2.2 Material biológico, tratamentos e manejo experimental

Foram utilizadas larvas de piracanjuba, obtidas a partir de ovos fertilizados e hidratados com soluções de triiodotironina (T3) que compuseram os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm de T3; T3-0,05 ppm de T3; T4-0,1 ppm de T3; T5-0,5 ppm de T3 e T6-1 ppm de T3. Para o preparo das soluções de hidratação, a T3 foi antes dissolvida em di-metil-sulfóxido (DMSO), sendo que na água do tratamento 1 foi adicionada apenas essa substância (Brown *et al.*, 1988). Após a hidratação (15 minutos), os ovos foram transferidos para incubadoras cônicas com fluxo ascendente e contínuo de água, onde permaneceram até 72 horas após a eclosão das larvas, que foram alimentadas desde a hora 24 com plâncton (cladóceros) e larvas de pirapitinga (*Piaractus brachypomus*).

Quando todas as larvas apresentaram natação horizontal, foram divididas aleatoriamente em três caixas por tratamento, numa densidade de 5 larvas L⁻¹. A alimentação foi oferecida 7 vezes por dia, intercalando larvas de pirapitinga (5 unidades

por larva), plâncton (200 unidades por larva) e ração comercial de 48% de PB, durante os primeiros 3 dias, plâncton (500 unidades) e ração do dia 4 até 10 e nos últimos 5 dias somente ração. Diariamente, foram monitorados a temperatura e o oxigênio dissolvido da água, com um oxímetro YSI[®] 95/25FT, procedimento realizado às 8:00 e às 17:00 horas. Outros parâmetros como alcalinidade, dureza, pH, amônia e foram medidos a cada 3 dias, utilizando para os dois primeiros método titulométrico com H₂SO₄ e EDTA, respectivamente. A amônia foi realizada pelo método de Nessler.

2.3 Coleta do material

Trinta larvas de cada tratamento (10 por repetição) foram coletadas e fixadas nos dias 1, 5, 10 e 15 do experimento. A fixação foi feita em glutaraldeído 2,5% e posteriormente todo o material foi lavado e mantido a 4°C em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH=7,4), até o momento das análises.

2.4 Análise do material

O comprimento das larvas foi medido com um paquímetro Mitutoyo[®], com precisão de 0,01 mm, e o peso numa balança analítica Sartorius[®], com precisão de 0,01 mg. Para o cálculo da taxa de crescimento específico (SGR), foi utilizada a equação apresentada por Ricker (1979). No final do experimento, foi calculada a taxa de sobrevivência.

2.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando uma análise de variância (ANOVA). A comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey (5%). Todas as análises foram realizadas pelo software SAS v.8.

3. RESULTADOS

Foi observada uniformidade entre os parâmetros de qualidade da água em todos os tratamentos. Na figura 1, pode-se observar que houve uma queda na temperatura no dia 8 do experimento, acompanhada de um incremento no nível de oxigênio dissolvido. Os resultados obtidos nos outros parâmetros foram os seguintes: pH mínimo 5,74 (tratamento 5), máximo 5,87 (tratamento1); dureza total mínima 7,58 mg L⁻¹ CaCO₃ (T4), máxima 8,42 mg L⁻¹ CaCO₃ (T1); alcalinidade mínima 7,60 mg L⁻¹ (T1), máxima 10,50 mg L⁻¹ (T6). Os valores para amônia foram similares em todos os tratamentos apresentando valores entre 0,11 e 0,13 mg L⁻¹.

Na Tabela 1, são apresentados os resultados de peso e comprimento, podendo-se observar que o comprimento das larvas no final do período experimental não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos. No entanto, o peso das larvas do tratamento 1 (sem hormônio) foi significativamente maior.

A taxa de crescimento específico foi maior no tratamento 1 no primeiro período analisado. Posteriormente não houve diferenças entre os tratamentos. O crescimento em todos os tratamentos foi maior nos primeiros 5 dias e menor nos 5 últimos (Figura 2). Quanto a taxa de sobrevivência, foi menor no tratamento 1 (Figura 3).

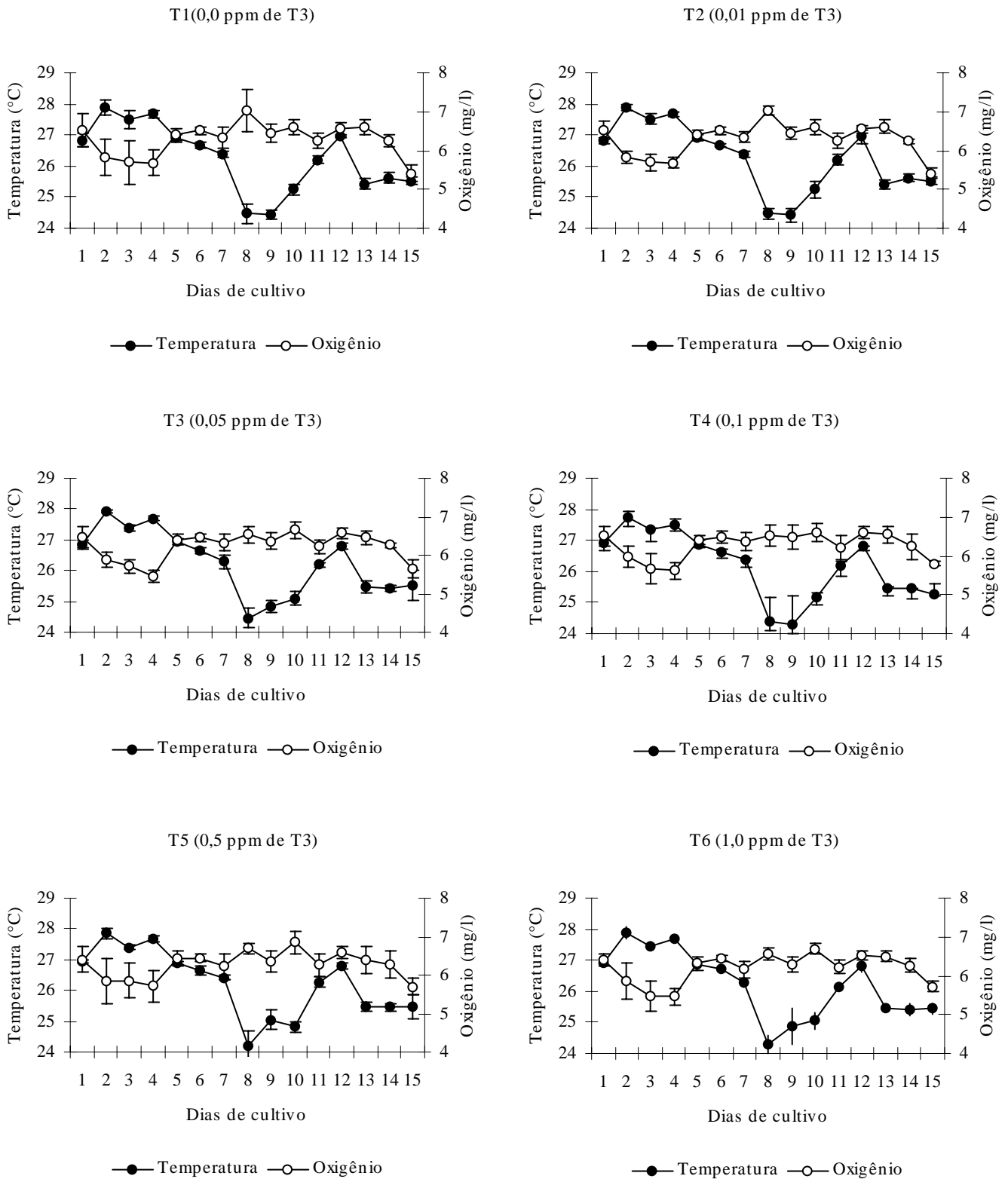


Figura 1. Valores médios \pm desvio padrão de temperatura e oxigênio dissolvido da água durante todo o período experimental.

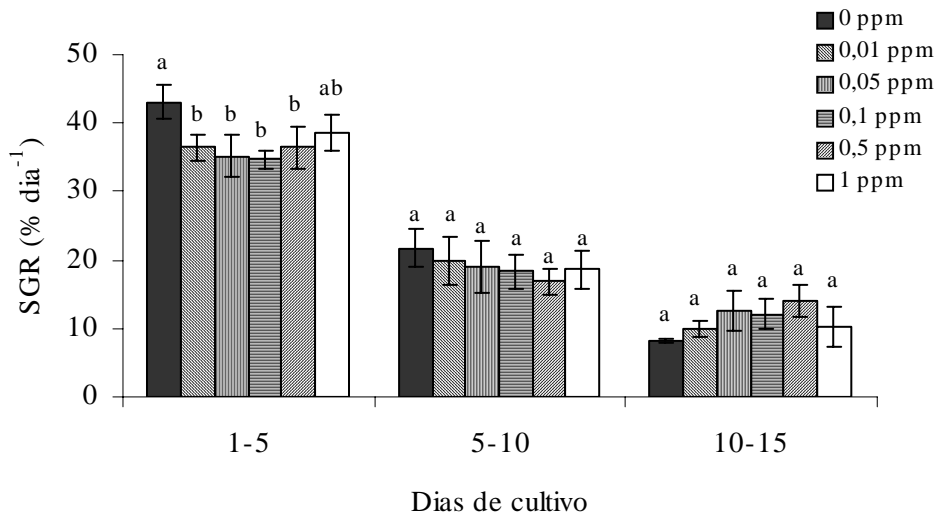
Tabela 1. Médias \pm desvio padrão do peso (mg) e comprimento (mm) das larvas de *Brycon orbignyianus* nos diferentes tempos de coleta.

	T3 (ppm)	Tempo de cultivo (dias)			
		1	5	10	15
Peso (mg)	0	15,30 \pm 3,14 ^a	86,10 \pm 7,50 ^a	253,75 \pm 14,50 ^a	380,37 \pm 29,12 ^a
	0,01	15,92 \pm 3,07 ^a	68,88 \pm 11,63 ^{ab}	185,88 \pm 14,12 ^b	303,90 \pm 30,31 ^b
	0,05	15,95 \pm 3,53 ^a	64,78 \pm 7,41 ^b	167,92 \pm 8,02 ^b	312,46 \pm 28,36 ^b
	0,10	16,68 \pm 2,09 ^a	66,74 \pm 8,71 ^b	167,52 \pm 9,76 ^b	306,09 \pm 18,07 ^b
	0,50	16,35 \pm 2,74 ^a	70,37 \pm 6,97 ^{ab}	163,76 \pm 11,53 ^b	329,59 \pm 17,79 ^b
	1,00	15,54 \pm 2,66 ^a	73,04 \pm 8,03 ^{ab}	186,90 \pm 9,90 ^b	308,44 \pm 14,97 ^b
CV (%)		6,97	9,68	10,54	4,22
Comprimento (mm)	0	12,34 \pm 0,61 ^{ab}	20,06 \pm 1,01 ^a	27,68 \pm 2,45 ^a	31,85 \pm 0,79 ^a
	0,01	12,45 \pm 0,83 ^{ab}	18,70 \pm 1,67 ^b	25,01 \pm 1,34 ^{ab}	30,14 \pm 2,05 ^a
	0,05	12,10 \pm 1,32 ^{ab}	18,77 \pm 0,89 ^b	24,40 \pm 1,64 ^b	30,18 \pm 2,18 ^a
	0,10	13,02 \pm 0,40 ^a	19,01 \pm 0,70 ^{ab}	24,98 \pm 1,28 ^{ab}	30,15 \pm 2,00 ^a
	0,50	12,42 \pm 0,65 ^{ab}	19,16 \pm 1,33 ^{ab}	24,48 \pm 1,93 ^{ab}	30,64 \pm 1,99 ^a
	1,00	11,89 \pm 1,11 ^b	19,03 \pm 0,85 ^{ab}	25,04 \pm 2,17 ^{ab}	29,87 \pm 3,04 ^a
CV (%)		2,93	2,24	4,68	5,76

n = 30

CV = Coeficiente de variação

Médias com letras iguais nas colunas não apresentam diferenças significativas entre os tratamentos (teste de Tukey, 5%)

Figura 2. Taxa de crescimento específico (SGR) \pm desvio padrão das larvas de piracanjuba nos diferentes períodos amostrados. Em cada período, médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey (5%)

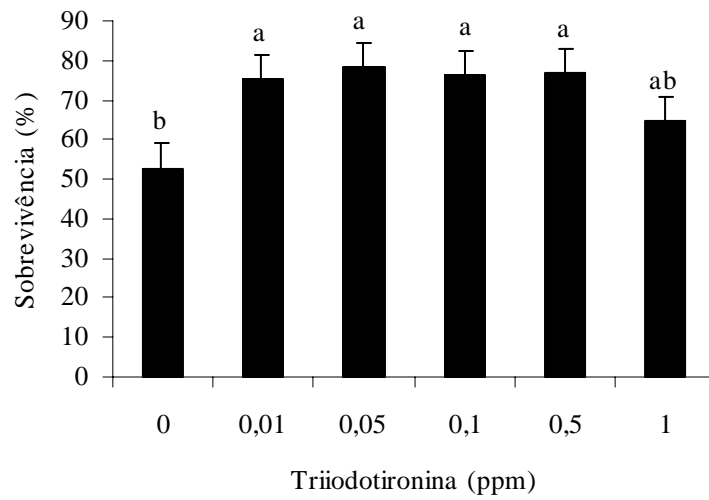


Figura 3. Taxas de sobrevivência \pm desvio padrão das larvas de piracanjuba submetidas aos diferentes tratamentos. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas.

4. DISCUSSÃO

Os parâmetros limnológicos estiveram de acordo com os valores desejáveis para espécies tropicais (Boyd, 1990; Kubitza, 1999). A única exceção foi o pH, cujos valores estiveram um pouco abaixo dos considerados ótimos. No entanto, os indivíduos não apresentaram problemas que pudessem ser atribuídos a este parâmetro. Aparentemente, o caráter ligeiramente ácido é uma característica constante na água do CEPTA, onde se realizou a pesquisa.

Quanto ao crescimento das larvas, verificou-se que o comprimento não foi afetado pelo hormônio administrado aos ovos fertilizados. Quanto ao peso, desde o dia 5 de cultivo, houve uma tendência de superioridade nas larvas que não receberam T3. Nos dias 10 e 15, essas larvas apresentaram pesos significativamente maiores, fato confirmado através da taxa de crescimento específico durante o primeiro período de larvicultura, do dia 1 ao dia 5 (Figura 2). Observa-se que o hormônio parece atuar mais neste período de cultivo. Os resultados concordam com os de Huang *et al.* (1996) que encontraram diminuição no crescimento de larvas *Morone saxatilis* ao serem tratadas com triiodotironina. No entanto, esses autores reportaram também aumento na mortalidade como consequência do uso do hormônio, situação contrária à encontrada neste estudo, onde as maiores taxas de sobrevivência foram encontradas nos grupos de larvas provenientes de ovos hidratados com o hormônio.

Esses resultados sugerem que embora o crescimento nos grupos tratados tenha sido menor, isto pode significar menos predação. O peso maior das larvas do tratamento controle pode estar refletindo maior ingestão de proteína, pelo canibalismo. Essa observação concorda com os resultados apresentados por Urbinati *et al.* (2002), em *Brycon cephalus*, que observaram diminuição no canibalismo e aumento na

sobrevivência e por Brown & Kim (1995) e Kim & Brown (1997) que demonstraram que a aplicação de T3 e cortisol por imersão, melhorava a sobrevivência das larvas de *Polidactylus sexfilis* e que ambos os hormônios poderiam estar interagindo, proporcionando uniformidade do lote de larvas e diminuindo a predação. Não obstante, Hey *et al.* (1996) reportaram um aumento no canibalismo ao se utilizar hormônios tireoidianos, por imersão, em larvas de *Stizostedion vitreum*.

Por outro lado, foi evidente que as taxas de sobrevivência foram melhores nos tratamentos 2, 3, 4 e 5 (0,01; 0,05; 0,1 e 0,5 ppm de T3), começando a diminuir no tratamento 6 (1 ppm de T3), o que pode indicar que uma dose muito alta poderia ter efeito nocivo na espécie, como relatado por Lam (1994), que afirma que doses baixas de hormônios tireoidianos, seja por imersão ou por injeção na mãe, são benéficas, e que uma dose alta pode ser contraproducente. Estas observações também foram feitas por Nacario (1983) em *Sarotherodon niloticus*, por Mylonas *et al.* (1994) em *Salmo trutta*, e por Huang *et al.* (1996) em *Morone saxatilis*.

A constatação de que o uso da triiodotironina na hidratação dos ovos da piracanjuba melhorou significativamente a sobrevivência concorda com os resultados de Lam (1980) em *Sarotherodon mossambicus*, de Lam & Sharma (1985) em *Cyprinus carpio*, de Brown *et al.* (1988) em *Morone saxatilis*, de Tachihara *et al.* (1997) em *Seriola lalandi*, de Ayson & Lam (1993) em *Siganus guttatus* e de Stickney & Liu (1999) em *Hippoglossus stenolepis*. Estes autores encontraram aumento na sobrevivência das diferentes espécies ao utilizar hormônios tireoidianos. No entanto, os resultados discordam dos encontrados por Yamanome & Tagawa (2000) e Gavlik *et al.* (2002) que não observaram diferença na sobrevivência das espécies que utilizaram.

Nas condições utilizadas no presente trabalho, pode-se concluir que a triiodotironina (T3) não acelerou o crescimento das larvas de *Brycon orbignyanus*,

embora tenha favorecido a sobrevivência. No entanto, a dose mais alta utilizada (1 ppm) pode estar indicando o limite de concentração para a espécie, a partir da qual o hormônio poderia desencadear efeitos negativos. O fato de não ter influenciado na aceleração do crescimento é um aspecto menos importante durante esta fase de vida dos peixes, pois o principal objetivo, neste período, é produzir uma quantidade maior de indivíduos, mesmo que com peso menor.

As diferenças de sobrevivência obtidas entre o grupo de larvas controle e as provenientes de ovos hidratados com T3 variaram de $52,83 \pm 6,1$ a $78,52 \pm 5,5$ %. Se considerar que no processo produtivo são vendidas quantidades importantes de alevinos, cujo valor é cobrado por unidade, essas diferenças têm um grande impacto econômico para o produtor.

Aparentemente doses entre 0,01 e 0,5 ppm de T3 na água de hidratação são eficazes para melhorar a sobrevivência das larvas desta espécie. A linha de pesquisa apresenta-se interessante e merece ser continuada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATENCIO-GARCIA, V. 2000. Influência da primeira alimentação na alevinagem do yamú *Brycon siebenthalae* (Eigenmann, 1912). Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura. Florianópolis – SC, 130p.
- AYSON, F. & LAM, J. 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its affect on larval growth and survival. *Aquaculture* 109: 83-93.
- BARAS, E., NDAO, M., MAXI, M., JEANDRAIN, D., THOME, P., VANDEWALLE, P. & MELARD, C. 2000. Sibling cannibalism in dorada under experimental condition. I. Ontogeny, dynamics, bioenergetics of cannibalism and prey size selectivity. *J. Fish. Biol.* 1001-1020.
- BOYD, C. 1990. Water quality in warmwater fish pond. Alabama: Auburn University. 482p.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., COCHRAN, M. & BERN, H. 1989. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. *Fish. Physiol. Biochem.* 7(1-6): 295-299.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., NUÑEZ, J., HADLEY, C., VANEENENNAAM, J., NISHIOKA, R. & BERN, H. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J. Exp. Zool.* 248: 168-176.
- BROWN, C. & KIM, B. 1995. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. *Aquaculture* 135: 70-86.
- de JESUS, E., TOLEDO, J. & SIMPAS, M. 1998. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.* 112: 10-16.
- DUMONT-NETO, R. 2000. Efeito da triiodotironina no desenvolvimento inicial de piau verdadeiro (*Leporinus elongatus*), adicionada nos ovos por hidratação, durante a fertilização. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 31p.
- FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br>>. Acesso em: 21 jan. 03.
- GAVLIK, S., ALBINO, M. & SPECKER, J. 2002. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. *Aquaculture* 203: 359-373.
- GOMES, L., BALDISSEROTTO, B. & SENHORINI, J. 2000. Effects of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae) in ponds. *Aquaculture* 183: 73-81.

- HEY, J., FARRAR, E., BRIAN, T., BRISTOW, C., STETTNER & SUMMERFELT, R. 1996. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. J. World Aquac. Soc. 27(1): 40-51.
- HUANG, L., SPECKER, J. & BENGTON, D. 1996. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). Fish. Physiol. Biochem. 15(1): 57-64.
- KIM, B. & BROWN, C. 1997. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of Pacific threadfin. Amer. Zool. 37: 470-481.
- KUBITZA, F. 1999. Qualidade da água na produção de peixes. 3 edição. Jundiaí – SP. 97p.
- LAM, J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambicus*. Aquaculture 21: 287-291.
- LAM, J. 1994. Hormones and eggs/larval quality in fish. J. World. Aquac. Soc. 25(1): 2-12.
- LAM, J. 1995. Eggs in fish: are hormones involved? Aquaculture 135(1-3): 74.
- LAM, J. & SHARMA, R. 1985. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 44: 201-212.
- LANDINEZ, M. 1995. Inducción a la reproducción del yamú *Brycon siebenthalae*, a partir de extracto de hipófisis de carpa (EPC). Bol. Cient. INPA. 3: 5-17.
- LIU, Y. & CHAN, W. 2002. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. Differentiation 70: 36-45.
- MYLONAS, C., SULLIVAN, C., & HINSHAW, J. 1994. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. Fish. Physiol. Biochem. 13(6): 485-493.
- NACARIO, J. 1983. The effect of thyroxine on larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (*Tilapia nilotica*). Aquaculture 34: 73-83.
- NUGEGODA, D., WALFORD, J. & LAM, J. 1994. Thyroid hormones in the early development of seabass (*Lates calcarifer*) larvae. J. Aquac. Trop. 9(9): 279-290.
- PIOVEZAN, U. 1994. Efeito da dieta na sobrevivência de larvas de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). In: Seminário sobre criação de espécies do gênero *Brycon*. Pirassununga – CEPTA. p.18-21.
- POWER, D., LLEWELLYN, L., FAUSTINO, M., NOWELL, M., BJÖRNSSON, B., EINARSDOTTIR, I., CANARIO, A. & SWEENEY, G. 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. Comp. Biochem. Physiol. part C. 130: 447-459.

- RICKER, W. 1979. Growth rates and models. In: Fish Physiology, Academic Press. New York. v. VIII. p.677-743.
- SENHORINI, J. 1999. Biologia larval do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) e da piracanjuba *Brycon orbignyianus* (Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae) em viveiros. Tese, Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP 101p.
- STICKNEY, R. & LIU, H. 1999. Maintenance of broodstock, spawning, and early larval rearing of pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. Aquaculture 176(1-2): 75-86.
- TACHIHARA, K., EL-ZIBDEH, M., 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.
- TANAKA, M., TANANGONAN, J., TAGAWA, M., de JESUS, E., NISHIDA, H., ISAKA, M. KIMURA, R. & HIRANO, T. 1995. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. Aquaculture 135: 111-126.
- URBINATI, E. C., SOARES, M. F. & SENHORINI, J. A. 2002. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae). J. Aquac. Trop. (in press).
- URBINATI, E. C. 2002. Estudos hormonais e metabólicos em peixes. Livre docência, Universidade Estadual Paulista, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal. Jaboticabal – SP. 166p.
- WOYNAROVICH, E. & SATO, J. 1989. Special rearing of larvae and post-larvae of matrinxã (*Brycon lundii*) and dourado (*Salminus brasiliensis*). In: Harvey, B. & Carosfeld, J. Eds. Workshop on larval rearing of finfish. Pirassununga, CIDA/CASAFA/ICSU. 134-136p.
- YAMANOME, T. & TAGAWA, M. 2000. Enrichment of 3,5,3'- triiodothyronine (T₃) in eggs by maternal implantation of T₃ and T₃ immersion of fertilized eggs in barfin flounder *Verasper moseri*. Bull Iwate Prefect fish technol cent. 2: 21-27.

CAPÍTULO VI

PARTICIPAÇÃO DA TRIIODOTIRONINA
(T3) NO DESENVOLVIMENTO E
CRESCIMENTO INICIAL DO DOURADO
(*Salminus maxillosus*)

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da triiodotironina (T_3) aplicada na água de hidratação de ovos fertilizados de dourado *Salminus maxillosus* no desenvolvimento embrionário e no crescimento inicial das larvas. O trabalho foi desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais, Pirassununga, e na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

Ovos recém fertilizados foram divididos em 6 porções iguais e hidratados, por 15 minutos, em diferentes soluções de T_3 , constituindo-se os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm. Após a hidratação, os ovos foram lavados e transferidos para incubadoras, onde permaneceram até 72 horas depois da eclosão das larvas.

Para a análise morfológica, os ovos foram coletados logo após a fertilização e a cada 30 minutos até a hora 6 e posteriormente a cada 2 horas até a eclosão das larvas. As larvas foram coletadas a cada 12 horas para medição de peso, comprimento e cálculo do volume do saco vitelino. Os resultados foram analisados por análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%). A análise foi realizada no aplicativo SAS v.8.

Os resultados mostraram que a triiodotironina, nas doses e pela técnica utilizadas, não influenciou o desenvolvimento embrionário nem o crescimento inicial das larvas de dourado.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of triiodothyronine (T_3) during the immersion of fertilized eggs of dourado *Salminus maxillosus* on the embryo development and larvae growth. The work was carried out at Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais, Pirassununga, and at Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

Newly fertilized eggs were divided in 6 portions and immersed for 15 min, in different solutions of T_3 , constituting the treatments: T1-no hormone; T2-0.01 ppm; T3-0.05 ppm; T4-0.1 ppm; T5-0.5 ppm and T6-1 ppm. After immersion, eggs were washed and transferred to incubators where they were held until 72 h after hatching.

For morphological analysis, eggs were collected after fertilization and at each 30 min until hour 6, and following at each 2 h until hatching. Larvae were collected at each 12 h for the weight and length determination and yolk sac volume calculation. The results were analyzed by ANOVA and means compared by Tukey test (5%) in a SAS software.

The results showed that triiodothyronine, in the doses and application method utilized, did not affect the embryo development or the initial growth of the larvae.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a piscicultura brasileira vêm se desenvolvendo, mostrando-se como uma atividade zootécnica importante. Porém, ainda faltam estudos que possam garantir um adequado manejo das espécies nativas com potencial para produção (Castagnolli, 1992).

Um dos aspectos mais importantes a ser pesquisado é o desenvolvimento inicial das espécies e sua descrição embriológica, pois os dados obtidos permitiriam conhecer a biologia da espécie, ferramenta fundamental na aqüicultura e na biologia pesqueira (Matkovic *et al.*, 1985; Alves & Moura, 1992). Por outro lado, embora existam muitos trabalhos de desenvolvimento e larvicultura, a maioria deles aborda o aspecto alimentar (Luz, 2000; Portella *et al.*, 2000; Tesser, 2002) e são poucos os voltados para a parte hormonal (Dumont-Neto, 2000; Andrade, 2002; Urbinati *et al.*, 2002), de vital importância nas primeiras etapas de vida dos indivíduos.

Está comprovado que a glândula tireóide, através de seus hormônios tiroxina e triiodotironina, tem participação direta no desenvolvimento inicial dos peixes e que estes hormônios estão presentes nos ovos e nas primeiras fases de vida de muitas espécies (Tagawa *et al.*, 1990; Tagawa & Hirano, 1991; de Jesús *et al.*, 1994; Kim & Brown, 1997; Liu *et al.*, 2000; Power *et al.*, 2001; Liu & Chan, 2002; Urbinati, 2002; Deane & Woo, 2003), regulando o desenvolvimento, crescimento e sobrevivência posterior das larvas (Lam, 1995; Hey *et al.*, 1996; Tagawa & Brown, 2001). Existem evidências de que os hormônios encontrados no início do desenvolvimento dos peixes é de origem materna, já que não ocorre produção própria nesta fase (Tagawa & Hirano, 1991). Adicionalmente, a presença de receptores para esses hormônios nos ovos,

embriões e larvas de peixes também está comprovada (Raine & Leatherland, 1999; Liu *et al.*, 2000; Power *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2002; Liu & Chan, 2002).

Segundo Yamano *et al.* (1994) e Tagawa *et al.* (1995), é evidente a participação direta dos hormônios tireoidianos na metamorfose de *Paralichthys olivaceus*. Em *Epinephelus coioides* e *Epinephelus lanceolatus*, a triiodotironina se mostrou eficiente na aceleração do mesmo processo (de Jesus *et al.*, 1998; Hseu-Jinn *et al.*, 2002).

Em peixes nativos, as informações são menos disponíveis, destacando-se unicamente os trabalhos de Dumont-Neto (2000), Urbinati *et al.* (2002) e Vasques (2003), em *Leporinus elongatus* e *Brycon cephalus*, respectivamente.

O dourado (*Salminus maxillosus*) é um peixe pertencente à ordem dos Characiformes, de ampla distribuição geográfica, sendo encontrado na grande bacia do rio da Prata, que inclui as bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Godoy, 1987; Souza, 1999). É considerada uma espécie de grande valor comercial, muito apreciada também na pesca esportiva. Devido às alterações provocadas pelo homem no seu ecossistema é considerada como vulnerável à extinção (Souza, 1999; Fundação Biodiversitas, 2003).

Nesse contexto, o estudo teve como objetivo avaliar o efeito da triiodotironina (T3) no desenvolvimento inicial do dourado, uma das espécies mais importantes no Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

O trabalho foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal e no Centro de Microscopia Eletrônica, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal.

2.2 Material biológico e tratamentos

Foram utilizados ovos, embriões e larvas de *Salminus maxillosus*, provenientes de reprodução induzida realizada de acordo com a metodologia de Woynarovich & Horváth (1983).

Uma vez fertilizados, os ovos foram divididos em 6 alíquotas e transferidos a recipientes individuais onde foram hidratados com soluções de triiodotironina (T_3), segundo os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm de T_3 . Para o preparo das soluções, a T_3 foi diluída em di-metil-sulfóxido (DMSO), substância que foi adicionada a água do tratamento 1, controle (Brown *et al.*, 1988). O tempo de hidratação foi de 15 minutos, após o que os ovos foram lavados com água corrente e transferidos para incubadoras com fluxo ascendente e contínuo de água, numa temperatura média de $26,44 \pm 0,87^\circ\text{C}$. As larvas foram mantidas nas incubadoras até 72 horas depois da eclosão, sendo alimentadas desde a hora 24 com zooplâncton (principalmente cladóceros) e larvas de curimbatá

(Prochilodus lineatus).

2.3 Coleta e preservação do material

Na hora da fertilização, foi feita a primeira coleta de ovos, seguida de coletas sucessivas a cada 30 minutos até a hora 6. Posteriormente, a periodicidade foi aumentada para 2 horas até o momento da eclosão e finalmente, as larvas foram coletadas a cada 12 horas até a hora 72. Todo o material foi fixado em glutaraldeído 2,5%, lavado e mantido a 4°C em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH=7,4) para posterior análise.

2.4 Análise e processamento do material

Para análise da morfologia externa, os ovos e embriões foram observados depois do rompimento do cório, utilizando um microscópio estereoscópico Karl Zeiss[®], com câmara fotográfica. As medidas do saco vitelino e das larvas foram realizadas em microscópio estereoscópico Karl Zeiss[®], com ocular micrométrica. O cálculo do volume do vitelo foi realizado utilizando a equação de Blaxter & Hempel (1963), citada por Lein *et al.* (1997). A pesagem das larvas se realizou numa balança analítica Sartorius[®], com precisão de 0,01 mg.

Algumas larvas foram processadas para microscopia eletrônica de varredura, sendo posfixadas com tetróxido de ósmio (1%), desidratadas em séries crescentes de álcool etílico, secas com CO₂ em secador de ponto crítico Tousimis[®] 780A, metalizadas com ouro em metalizador Jeol[®] JFC1100 e fotografadas em microscópio eletrônico de

varredura Jeol® JSM5410.

2.5 Análise estatística

Os resultados de peso, comprimento e volume do vitelo das larvas foram submetidos a análise de variância e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). A análise foi feita no aplicativo SAS v.8.

3. RESULTADOS

Após observação de, no mínimo, 20 ovos e embriões de cada tratamento, em cada um dos diferentes estágios de desenvolvimento embrionário, constatou-se que não houve diferenças devido a aplicação do hormônio na água de hidratação, pois em todos os tratamentos as mudanças aconteceram nos mesmos tempos. No entanto, como uma contribuição ao conhecimento da espécie, a descrição do desenvolvimento é apresentada a seguir.

Os ovos recém fertilizados eram telolécitos, apresentavam uma coloração verde clara e possuíam um diâmetro médio de $1,66 \pm 0,23$ mm (n=200).

A segmentação (meroblástica e discoidal) começou rapidamente, sendo possível observar 2 blastômeros 30 minutos após fertilização (Figura 1a) e fase de mórula 90 minutos depois (Figura 1b). Três horas depois era evidente o estadio de blástula (Figura 1c) e às 3 horas e 30 minutos a blastoderme já envolvia mais da metade da massa vitelínica, ultrapassando o equador embrionário (Figura 1d). A epibolia continuou até a hora 6, finalizando com o fechamento do blastóporo (Figuras 1e, 1f, 1g). Na hora 8, já

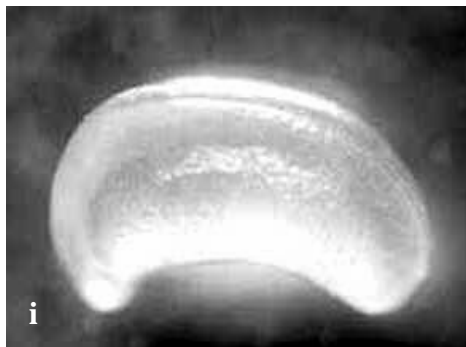
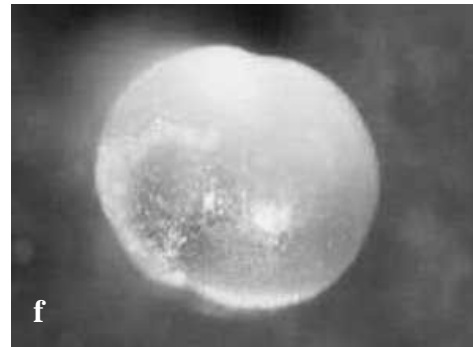
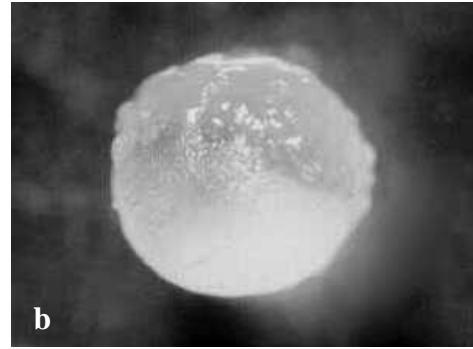
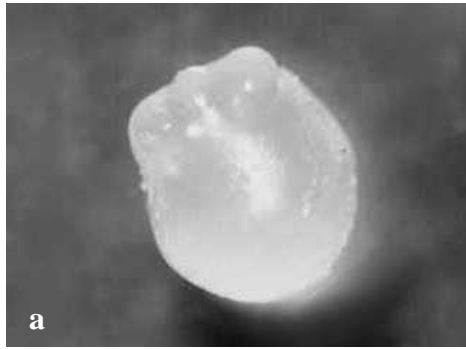


Figura 1. Desenvolvimento embrionário de *Salminus maxillosus*

- a. Fase de segmentação: dois blastômeros. 30 min. após fertilização (32X)
- b. Fase de mórula. 1 h. e 30 min. após fertilização (40X)
- c. Fase de blástula. 3 h. após fertilização (40X)
- d. Fase de gastrulação inicial. 3 h. e 30 min. após fertilização (40X)
- e. Fase de gastrulação intermediária. 3 h. e 30 min. após fertilização (40X)
- f. Fase de gastrulação final. 4 h. após fertilização (40X)
- g. Fechamento do blastóporo. 6 h. após fertilização (32X)
- h. Embrião inicial. 8 h. após fertilização (40X)
- i. Embrião com 10 h. após fertilização (40X)
- j. Embrião com 12 h. após fertilização (32X)

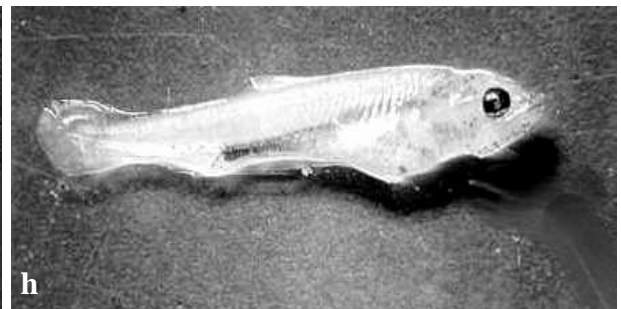
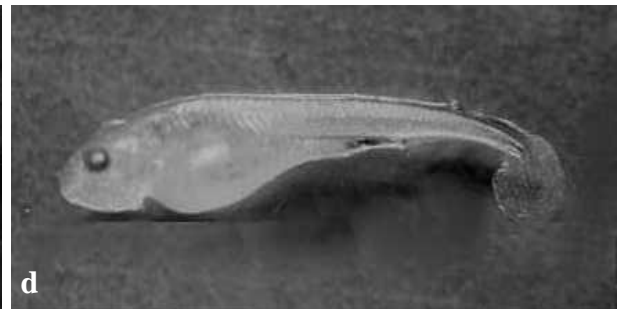


Figura 2. Desenvolvimento larval de *Salminus maxillosus*

- a. Larva recém eclodida (25X)
- b. Larva com 12 h. após a eclosão (25X)
- c. Larva com 24 h. após a eclosão (20X)
- d. Pigmentação completa do olho. 36 h. após a eclosão (16X)
- e. Larva com outra dentro do tubo digestivo. 48 h. após a eclosão, (12X)
- f. Larva com 60 h. após a eclosão (10X)
- g. Larva com 72 h. após a eclosão (12X)
- h. Larva completamente desenvolvida. 72 h. após a eclosão (8X)

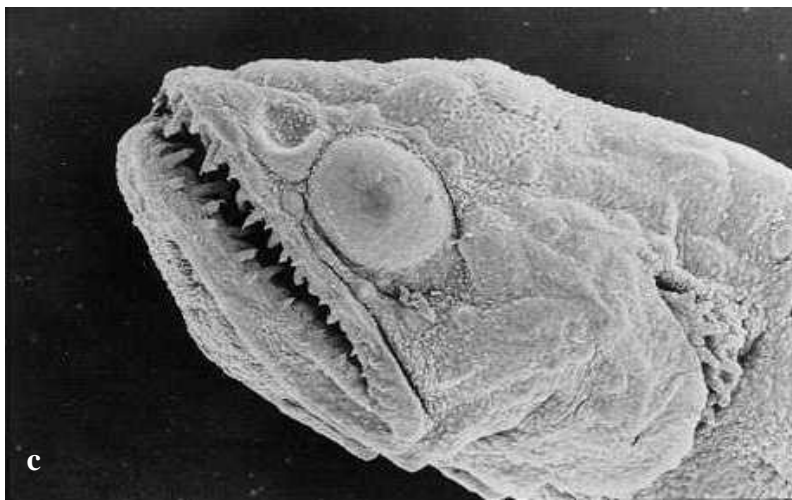
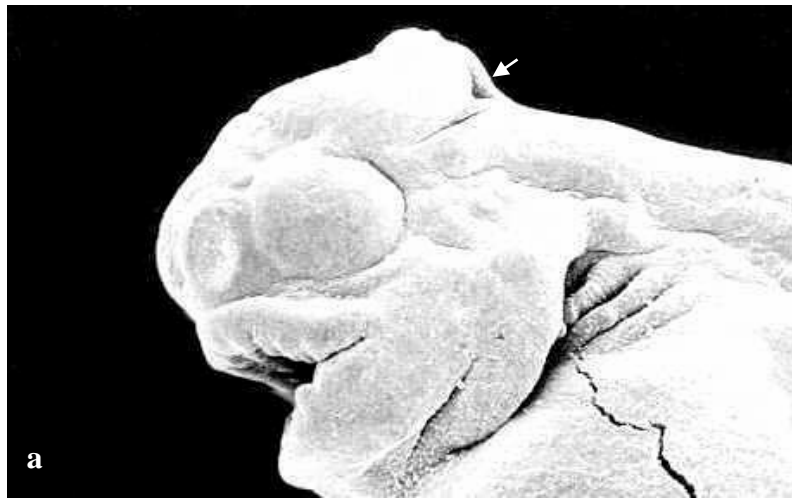


Figura 3. Desenvolvimento das larvas de *Salminus maxillosus*

- a. Começo da abertura bucal e presença do órgão adesivo na cabeça (seta). 12 h. após a eclosão (525X)
- b. Início do aparecimento dos dentes. 24 h. após a eclosão (262X)
- c. Larva bem desenvolvida. 36 h. após a eclosão (350X)
- d. Canibalismo das larvas. 36 h. após a eclosão (350X)

pode ser observado um embrião (Figura 1h), estando mais desenvolvido nas horas 10 e 12 (Figuras 1i, 1j), com a cauda ainda aderida ao vitelo. Na hora 14, a cauda se desprende do vitelo, e 15 horas e 30 minutos após fertilização aconteceu a eclosão das larvas (Figura 2a). Entretanto, elas não conseguiram nadar, permanecendo aderidas à incubadora, sendo possível observar um órgão adesivo na cabeça (Figura 3a). Na hora da eclosão, as larvas pesavam $0,64 \pm 0,03$ mg e mediam $3,52 \pm 0,10$ mm. As diferentes fases de desenvolvimento larval são apresentadas nas Figuras 2 e 3, podendo-se observar a involução do saco vitelino, e a evolução do desenvolvimento do olho, da boca e das narinas. Os resultados de peso, comprimento e volume do vitelo se ilustram na Tabela 1, não sendo possível observar diferença entre os tratamentos, com as diferentes concentrações de triiodotironina.

Tabela 1. Médias \pm desvio padrão do peso (mg), comprimento (mm) e volume do vitelo (mm^3) de larvas de dourado nas diferentes amostragens.

		Tempo de cultivo (horas)						
T3 (ppm)		0	12	24	36	48	60	72
Peso (mg)	0	0,63 \pm 0,11 ^a	0,89 \pm 0,07 ^a	1,06 \pm 0,06 ^a	1,96 \pm 0,46 ^a	2,43 \pm 0,55 ^a	4,44 \pm 0,79 ^a	5,98 \pm 0,85 ^a
	0,01	0,61 \pm 0,12 ^a	0,95 \pm 0,05 ^a	1,11 \pm 0,10 ^a	1,99 \pm 0,55 ^a	2,93 \pm 0,56 ^a	4,50 \pm 0,82 ^a	6,13 \pm 0,70 ^a
	0,05	0,61 \pm 0,09 ^a	0,87 \pm 0,06 ^a	1,07 \pm 0,09 ^a	2,18 \pm 0,35 ^a	2,59 \pm 0,52 ^a	4,40 \pm 0,48 ^a	6,30 \pm 0,82 ^a
	0,10	0,67 \pm 0,07 ^a	0,87 \pm 0,08 ^a	1,09 \pm 0,09 ^a	2,40 \pm 0,23 ^a	2,60 \pm 0,52 ^a	4,39 \pm 0,51 ^a	6,05 \pm 0,65 ^a
	0,50	0,66 \pm 0,03 ^a	0,89 \pm 0,06 ^a	1,11 \pm 0,09 ^a	2,36 \pm 0,22 ^a	2,53 \pm 0,32 ^a	4,64 \pm 0,47 ^a	6,49 \pm 0,53 ^a
	1,00	0,66 \pm 0,09 ^a	0,92 \pm 0,07 ^a	1,03 \pm 0,08 ^a	2,26 \pm 0,23 ^a	2,75 \pm 0,54 ^a	4,59 \pm 0,58 ^a	6,28 \pm 0,47 ^a
CV (%)		13,49	6,81	4,37	15,40	8,28	8,42	5,92
Comprimento (mm)	0	3,65 \pm 0,27 ^a	4,81 \pm 0,27 ^a	6,02 \pm 0,29 ^a	6,97 \pm 0,38 ^a	7,66 \pm 0,39 ^a	8,65 \pm 0,44 ^a	10,25 \pm 0,99 ^a
	0,01	3,55 \pm 0,42 ^a	4,91 \pm 0,24 ^a	6,11 \pm 0,31 ^a	7,10 \pm 0,30 ^a	7,83 \pm 0,46 ^a	8,78 \pm 0,51 ^a	10,40 \pm 0,90 ^a
	0,05	3,49 \pm 0,26 ^a	4,70 \pm 0,20 ^a	5,85 \pm 0,27 ^a	7,06 \pm 0,30 ^a	7,62 \pm 0,42 ^a	8,66 \pm 0,50 ^a	10,37 \pm 0,84 ^a
	0,10	3,41 \pm 0,29 ^a	4,76 \pm 0,23 ^a	5,88 \pm 0,20 ^a	7,02 \pm 0,23 ^a	7,55 \pm 0,51 ^a	8,79 \pm 0,43 ^a	10,48 \pm 0,76 ^a
	0,50	3,60 \pm 0,28 ^a	4,89 \pm 0,24 ^a	6,05 \pm 0,22 ^a	7,10 \pm 0,16 ^a	7,48 \pm 0,50 ^a	8,85 \pm 0,37 ^a	10,41 \pm 0,75 ^a
	1,00	3,43 \pm 0,30 ^a	4,89 \pm 0,20 ^a	6,04 \pm 0,20 ^a	7,17 \pm 0,15 ^a	7,78 \pm 0,44 ^a	8,47 \pm 0,27 ^a	10,91 \pm 0,79 ^a
CV (%)		6,17	3,48	2,14	2,39	2,91	2,43	8,61
Volume vitelo (mm^3)	0	0,38 \pm 0,10 ^a	0,33 \pm 0,08 ^a	0,23 \pm 0,08 ^a				
	0,01	0,35 \pm 0,07 ^a	0,28 \pm 0,07 ^a	0,20 \pm 0,04 ^a				
	0,05	0,36 \pm 0,08 ^a	0,27 \pm 0,09 ^a	0,24 \pm 0,08 ^a				
	0,10	0,37 \pm 0,11 ^a	0,29 \pm 0,09 ^a	0,20 \pm 0,06 ^a				
	0,50	0,34 \pm 0,10 ^a	0,30 \pm 0,05 ^a	0,21 \pm 0,06 ^a				
	1,00	0,36 \pm 0,12 ^a	0,27 \pm 0,10 ^a	0,18 \pm 0,04 ^a				
CV (%)		10,80	18,35	17,11				

n = 20

CV = coeficiente de variação

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não apresentam diferenças significativas entre os tratamentos (teste de Tukey, 5%)

4. DISCUSSÃO

Apesar das evidências de que os hormônios tireoidianos participam do processo de desenvolvimento inicial dos peixes (Power *et al.*, 2001; Liu & Chan, 2002), no presente estudo não foram encontradas diferenças entre os tratamentos, sugerindo que não tiveram participação direta nesse processo. Resultados similares foram encontrados por Vasques (2003), no *Brycon cephalus*.

Foi possível observar que, a exemplo dos outros teleósteos, os ovos nesta espécie são telolécitos e a segmentação é meroblástica e discoidal (Balinsky, 1975; Leme dos Santos & Azoubel, 1996; Garcia & Garcia, 2001). O desenvolvimento também é similar ao de outros peixes, começando com a fertilização e terminando com a eclosão da larva (Cussac *et al.*, 1985; Matkovic *et al.*, 1985; Castellani *et al.*, 1994; Ribeiro *et al.*, 1995; Nakatani *et al.*, 2001).

O diâmetro dos ovos ($1,66 \pm 0,23$ mm) não coincide com o encontrado por Nakatani *et al.* (2001) de 3,20 mm. Entretanto, aparentemente, estes autores estariam citando o diâmetro do ovo hidratado, pois mencionam a presença de um espaço perivitelino amplo. Assim, a comparação poderia ser feita com o diâmetro do vitelo mencionado por eles (1,53 mm), valor parecido ao encontrado no estudo e que estaria próximo também ao apresentado por Vazzoler (1996) para ovócitos maduros da mesma espécie (1,35 mm). Em outras espécies do mesmo gênero, *S. brasiliensis* e *S. hilarii*, os resultados apresentados por Nakatani *et al.* (2001) de 1,41 e 1,53 mm, respectivamente, também coincidem com os aqui encontrados.

O fechamento do blastóporo aconteceu 6 horas após fertilização (temperatura média $26,44 \pm 0,87^{\circ}\text{C}$), sendo similar ao reportado por Nakatani *et al.* (2001) de 6 horas e 25 minutos (27°C). Porém, Morais & Schubart (1955) reportaram este estágio

somente às 7 horas e 38 minutos. No entanto, essa diferença de tempo pode ser explicada pela menor temperatura na que eles trabalharam (24°C). O desprendimento da cauda aconteceu na hora 14, sendo um pouco maior que o reportado por Nakatani *et al.*, (2001) de 12 horas e 25 minutos. A eclosão ocorreu às 15 horas e 30 minutos, sendo mais lenta que a reportada por Zaniboni *et al.* (1988) e por Nakatani *et al.* (2001) de 14 horas e 10 minutos e 14 hora e 45 minutos, respectivamente. No entanto, foi muito mais rápida que a apresentada por Morais & Schubart (1955) de 22 horas e 52 minutos e por Pinto & Guglielmoni (1986) de 24 horas.

O comprimento das larvas na hora da eclosão foi de $3,52 \pm 0,10$ mm, resultados inferiores aos encontrados por Pinto & Guglielmoni (1986) de 5,5 mm, mas similares aos apresentados por Nakatani *et al.* (2001) de 3,55 mm e por Santos & Godinho (1992) que encontraram um comprimento médio de $3,7 \pm 1,1$ mm em larvas com 6 horas de vida.

Quanto ao crescimento e volume do saco vitelino das larvas, embora se perceba que nas larvas provenientes de ovos hidratados com triiodotironina, tanto o peso quanto o comprimento foram um pouco maiores, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos. Estes resultados estariam suportados nas pesquisas de Tagawa & Hirano (1991), que diminuindo até 90% o nível de hormônios tireoidianos, em ovos de *Oryzias latipes*, não encontraram nenhuma influência negativa no desenvolvimento inicial dessa espécie, sugerindo que durante os 4 primeiros dias de vida, não existia metabolismo significativo dos hormônios tireoidianos. Além disso, segundo Leatherland & Barret (1993), em *Oncorhynchus kisutch*, o eixo pituitária-tireoidiano é estrutural e funcionalmente intacto antes da reabsorção do saco vitelino, e não existe atividade importante desses hormônios durante esse período.

No entanto, com os resultados obtidos, fica a dúvida se as doses utilizadas no ensaio foram muito baixas para a espécie trabalhada, o que mostra a necessidade de realizar novas pesquisas para conseguir entender mais profundamente o papel dos hormônios tireoidianos no desenvolvimento inicial dos peixes, principalmente das espécies que, como o dourado, são pouco conhecidas cientificamente. Sugere-se então realizar novos trabalhos, cujo ponto de partida seja o conhecimento do nível basal desses hormônios na espécie, para poder determinar as doses adequadas a serem testadas, além de aspectos de seu mecanismo de ação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M. & MOURA, A. 1992. Estádios de desenvolvimento embrionário de curimatã-piao *Prochilodus affinis* (Reinhart, 1874) (Pisces, Prochilodontidae). In Encontro anual de Aquicultura de Minas Gerais, CODEVASF, p. 61-71.
- ANDRADE, L. Desenvolvimento inicial de larvas de matrinxã *Brycon cephalus* sob efeito de cortisol. Dissertação,. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2000. 56p.
- BALINSKY, B. 1975. Introducció n a la embriología. Omega edt. Barcelona. 631p.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., NUÑEZ, J., HADLEY, C., VANEENENNAAM, J., NISHIOKA, R. & BERN, H. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. J. Exp. Zool. 248: 168-176.
- CASTAGNOLLI, N. 1992. Criação de peixes de água doce. Jaboticabal: FUNEP. 189p.
- CASTELLANI, L., GODINHO, H., LEME DOS SANTOS, H., SANT, R., FARIA, A. & SANTOS, M. 1994. Desenvolvimento embrionário do curimatã *Prochilodus lineanus* (Valenciennes, 1836) (Cypriniformes, prochilodontidae). Rev. Bras. Morfol.11(2): 99-105.
- CUSSAC, V., MATKOVIC, M. & MAGGESE, M. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae) II. organogénesis media, organogénesis tardía y eclosión. Rev. Bras. Biol. 45(1/2): 149-160.
- de JESUS, E., HIRANO, T. & INUI, Y. 1994. The antimetamorphic effect of prolactin in the Japanese flounder. Gen. Comp. Endocrinol. 93: 44-50.
- de JESUS, E., TOLEDO, J. & SIMPAS, M. 1998. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. Gen. Comp. Endocrinol. 112: 10-16.
- DEANE, E. & WOO, N. 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. Life Sci. 72: 805-818.
- DUMONT-NETO, R. 2000. Efeito da triiodotironina no desenvolvimento inicial de piau verdadeiro (*Leporinus elongatus*), adicionada nos ovos por hidratação, durante a fertilização. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 31p.
- FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.org.br>>. Acesso em: 21 jan. 03.
- GARCIA, S. & GARCIA, C. 2001. Embriologia. 2ª ed. Porto Alegre. 416p.

- GODOY, M. 1987. Peixes do Estado de Santa Catarina. Editora da UFSC, co-edição Eletrosul / FURB. 572p.
- HEY, J., FARRAR, E., BRIAN, T., BRISTOW, C., STETTNER & SUMMERFELT, R. 1996. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. J. World Aquac. Soc. 27(1): 40-51.
- HSEU-JINN, K., CHANG, H. & TING, Y. 2002. Inducing effects of hormones in metamorphosis arrested grouper larvae. J. Fish. Soc. Taiwan. 29(1): 79-83.
- JONES, I., ROGERS, S., KILLE, P. & SWEENEY, G. 2002. Molecular cloning expression of thyroid hormone receptor alpha during salmonid development. Gen. Comp. Endocrinol. 125: 226-235.
- KIM, B. & BROWN, C. 1997. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of Pacific threadfin. Amer. Zool. 37: 470-481.
- LAM, J. 1995. Eggs in fish: are hormones involved? Aquaculture 135(1-3): 74.
- LEATHERLAND, J. & BARRETT, S. 1993. 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. Physiol. Biochem. 12(2): 149-159.
- LEIN, I., HOLMEFJORD, I. & RYE, M. 1997. Effects of temperature on yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture 157: 123-135.
- LEME DOS SANTOS, H. & AZOUBEL, R. 1996. Embriologia comparada. FUNEP, Jaboticabal. 189p.
- LIU, Y. & CHAN, W. 2002. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. Differentiation 70: 36-45.
- LIU, Y., LO, L., & CHAN, W. 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. Cell Endocrinol. 159: 187-195.
- LUZ, R. 2000. Larvicultura do mandi amarelo *Pimelodus maculatus* (Lacèpède 1803): Desenvolvimento embrionário, larval e primeira alimentação. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura. Florianópolis – SC. 47p.
- MATKOVIC, M., CUSSAC, V., CUKIER, M., GUERRERO, G. & MAGGESE, M. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) Eigenmann y Eigenmann, 1888 (Pisces, Pimelodidae) I. Segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. Rev. Bras. Biol. 45(1/2): 39-50.

- MORAIS FILHO, M. & SCHUBART, O. 1955. Contribuição ao estudo do dourado (*Salminus maxillosus*) do rio Mogi Guassu (Pisces, Characidae). São Paulo: Ministério da Agricultura. 143p.
- NAKATANI, K., AGOSTINHO, A., BAUMGARTNER, G., BIALETZKI, A., SANCHES, P., MAKRAKIS, M. & PAVANELLI, C. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação. Editora Universidade Estadual de Maringá. 378p.
- PINTO, M. & GUGLIELMONI, L. A. 1986. Observações sobre o desenvolvimento e comportamento alimentar das larvas de dourado, *Salminus maxillosus* (Valenciennes, 1894). In: IV Simpósio Brasileiro de Aquicultura. Anais. Cuiabá MT, p.35-47.
- PORTELLA, M., VERANI, J. & CESTAROLLI, M. 2000. 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. J. Aquac.Trop.15(1): 45-58.
- POWER, D., LLEWELLYN, L., FAUSTINO, M., NOWELL, M., BJÖRNSSON, B., EINARSDOTTIR, I., CANARIO, A. & SWEENEY, G. 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. Comp. Biochem. Physiol. part C. 130: 447-459.
- RAINE, J. & LEATHERLAND, J. 1999. Ontogeny of thyroid tissue and tissue thyroid hormone clearance in rainbow trout embryos reared at two temperatures. Fish. Physiol. Biochem. 20: 209-217.
- RIBEIRO, C., LEME DOS SANTOS, H. & BOLZAN, A. 1995. Estudo comparativo da embriogênese de peixes ósseos (pacu, *Piaractus mesopotamicus*; tambaqui, *Colossoma macropomum* e híbrido tambacu). Rev. Bras. Biol. 55(supl 1): 65-68.
- SANTOS, J. & GODINHO, H. 1992. Desenvolvimento larval do dourado *Salminus brasiliensis* em condições experimentais. In: Resumos da Primeira Reunião Anual do Instituto de Pesca São Paulo - Brasil. 39p.
- SOUZA, R. 1999. Respostas cárdio-respiratórias e metabólicas de dourado, *Salminus maxillosus* (Valenciennes, 1849) (Teleostei, Characidae) submetidos à hipóxia ambiental. Tese, Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. São Carlos – SP. 160p.
- TAGAWA, M. & BROWN, C. 2001. Entry of thyroid hormones into tilapia oocytes. Comp. Biochem. Physiol. Part B. 129: 605-611.
- TAGAWA, M. & HIRANO, T. 1991. Effects of thyroid hormone deficiency in eggs early development of the medaka, *Oryzias latipes*. J. Exp. Zool. 257: 360-366.
- TAGAWA, M., de JESUS, E. & HIRANO, T. 1995. The thyroid hormone monodeiodinase system during flounder metamorphosis. Aquaculture 135: 127-129.

- TAGAWA, M., MIWA, S., INUI, Y., de JESUS, E. & HIRANO, T. 1990. Changes in thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis of the flounder, *Paralichthys olivaceus*. Zool. Sci. 7: 7-96.
- TESSER, M. 2002. Desenvolvimento do trato digestório e crescimento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) em sistemas de co-alimentação com náuplios de *Artemia* e dieta microencapsulada. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 59 p.
- URBINATI, E. C. 2002. Estudos hormonais e metabólicos em peixes. Livre docência, Universidade Estadual Paulista, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal. Jaboticabal – SP. 166p.
- URBINATI, E. C., SOARES, M. F. & SENHORINI, J. A. 2002. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae). J. Aquac. Trop. (in press).
- VASQUES, L. H. 2003. Participação do hormônio triiodotironina (T_3) no desenvolvimento inicial do matrinxã (*Brycon cephalus*). Tese, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 142p.
- VAZZOLER, A. 1996. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, Maringá. 169p.
- WOYNAROVICH, E. & HORVATH, L. 1983. A propagação artificial de peixes de águas tropicais. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq. 220p.
- YAMANO, K., TAKANO-OHMURO, H. & OBINATA, T. 1994. Effect of thyroid hormone on developmental transition of myosin light chains during flounder metamorphosis. Gen. Comp. Endocrinol. 93(3): 321-326.
- ZANIBONI FILHO, E., TORQUATO, V., BARBOSA, N. & MEIRELES, A. 1988. Considerações sobre a reprodução induzida e larvicultura do dourado *Salminus maxillosus* (Valenciennes, 1849). In: VI Encontro Anual de Aquicultura, Associação Mineira de Aquicultura, 1998. Resumos. Belo Horizonte – MG. 23p.

CAPÍTULO VII

EFEITO DA TRIIODOTIRONINA (T3) NA
LARVICULTURA DO DOURADO
(*Salminus maxillosus*)

RESUMO

Neste trabalho foi analisado o efeito da triiodotironina (T_3) aplicada na água de hidratação dos ovos do dourado *Salminus maxillosus* sobre o crescimento e sobrevivência das larvas. O trabalho foi desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, e na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

Foram utilizadas larvas, provenientes de ovos fertilizados, em cuja água de hidratação foi adicionada T_3 , compondo-se os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm. Os ovos permaneceram expostos às soluções durante 15 minutos, após o qual foram lavados e transferidos para incubadoras, onde permaneceram até 72 horas após a eclosão das larvas. Posteriormente, as larvas foram distribuídas ao acaso em 4 caixas por tratamento numa densidade de 10 larvas L^{-1} . Nos primeiros 3 dias foram alimentadas com plâncton (cladóceras), larvas de *Prochilodus scrofa* e ração comercial (48% PB) e posteriormente, plâncton e ração. As coletas foram realizadas nos dias 1, 3, 5, 7 e 10 para análise de peso, comprimento, taxa de crescimento específico e sobrevivência. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%), utilizando o aplicativo SAS v.8.

As diferenças relacionadas ao uso do hormônio só apareceram no último dia de cultivo, com uma tendência de superioridade, tanto em peso quanto em comprimento nas larvas provenientes de ovos hidratados com a maior concentração da T_3 (1 ppm). Por outro lado, a sobrevivência foi maior no tratamento 0,1ppm de T_3 e menor no tratamento 1 ppm de T_3 . Nos outros tratamentos não houve diferenças, observando-se, entretanto, que os maiores valores ocorreram nos grupos de larvas que apresentaram os menores pesos (tratamentos 0,05 e 0,1 ppm de T_3). Os dados sugerem a utilização de 0,1 ppm de T_3 na água de hidratação dos ovos para melhorar a sobrevivência da espécie, o parâmetro mais importante a ser tido em conta nesta fase produtiva.

ABSTRACT

This experiment investigated the effect of triiodothyronine (T_3) applied to the eggs of dourado *Salminus maxillosus* through immersion on the growth and survival of larvae. The work was carried out at Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, and at Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

The study used larvae produced from fertilized eggs immersed in T_3 solutions constituting the treatments: T1-no hormone; T2-0.01 ppm; T3-0.05 ppm; T4-0.1 ppm; T5-0.5 ppm and T6-1 ppm. Eggs were exposed to T_3 for 15 min, washed and transferred to incubators where they were held until 72 h after hatching. Following, larvae were randomly distributed in plastic boxes (4 for treatment) in a density of 10 larvae L^{-1} . At first 3 days, they fed plankton (cladocera), larvae of *Prochilodus scrofa* and commercial ration (48% CP) and after that plankton and ration. Samplings were performed at days 1, 3, 5, 7 and 10 for determination of body weight and length, specific growth rate and survival. The results were submitted to ANOVA and means compared by Tukey test (5%), with a SAS software.

The effects of the hormone were observed at the end of the cultivation showing a trend of higher values in weight and length in larvae treated with the highest dose of T_3 (1 ppm). Otherwise, survival was higher in treatment 0.1ppm T_3 and lower in the treatment 1 ppm T_3 . In the other treatments there were no differences, but the highest values occurred among larvae that presented the lowest weights (treatments 0.05 and 0.1 ppm T_3). The results suggest the utilization of 0.1 ppm T_3 solution in the dourado egg immersion to improve the survival, one of the most important parameter in the fish production.

1. INTRODUÇÃO

Um dos principais fatores limitantes da piscicultura é a produção intensiva de alevinos de boa qualidade (Holmefjord *et al.*, 1993; Tanaka *et al.*, 1995). Anteriormente, acreditava-se que o problema fundamental seria conseguir a reprodução de espécies reofílicas em cativeiro, pois a reprodução delas dependia em grande parte, das mudanças no meio ambiente natural (Zanuy & Carrillo, 1987; Harvey & Carosfeld, 1993). Hoje em dia, com a implementação das técnicas de reprodução induzida, esse problema acabou. No entanto, a larvicultura ainda apresenta grandes dificuldades, pois nessa etapa a mortalidade é alta, chegando, em ocasiões, a dizimar grande parte da população. Adicionalmente, muitas espécies apresentam alto grau de canibalismo, agravando ainda mais a situação (Cecarelli, 1997; Senhorini, 1999; Baras *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2000). Porém, o desenvolvimento de novas tecnologias em larvicultura ainda é limitado e a maioria das pesquisas refere-se a técnicas de alimentação inicial das larvas (Atencio-Garcia, 2000; Luz, 2000; Portella *et al.*, 2000; Tesser, 2002), sem levar em conta outros aspectos importantes, como a participação de hormônios no desenvolvimento inicial e na larvicultura, tais como os hormônios tireoidianos (Gorbman, 1969; Goetz, 1983).

Não obstante, na atualidade, existem muitos estudos que abordam a participação desses hormônios no desenvolvimento inicial e na larvicultura dos peixes, mas muitos deles concluem que ainda falta muita pesquisa para esclarecer a participação dos hormônios nesses processos (MacKenzie *et al.*, 1989; Lam, 1994; Mylonas *et al.*, 1994; Wigham *et al.*, 1998; Deane & Woo, 2003). Já está comprovado que os hormônios tireoidianos são essenciais no desenvolvimento inicial dos peixes (de Jesús *et al.*, 1994; Liu & Chan, 2002).

Estes hormônios têm sido utilizados com sucesso para aumentar o desenvolvimento, crescimento e sobrevivência de muitas espécies de peixes (Lam, 1994; Power *et al.*, 2001). A tiroxina, por exemplo, quando utilizada em imersão melhorou o desenvolvimento, crescimento e sobrevivência das larvas de *Sarotherodon mossambicus* (Lam, 1980) e *Cyprinus carpio* (Lam & Sharma, 1985). A triiodotironina participou na transição de neonato a adulto de *Salvelinus alpinus* (Martínez *et al.*, 1995) e aumentou a sobrevivência das larvas de *Morone saxatilis* provenientes de mães injetadas com o hormônio (Brown *et al.*, 1988). Em *Hippoglossus stenolepis*, os dois hormônios melhoraram a sobrevivência das larvas (Stickney & Liu, 1999).

Quanto ao canibalismo, Urbinati *et al.* (2002) reportam diminuição deste comportamento e aumento da sobrevivência em larvas de *Brycon cephalus*, descendentes de mães injetadas como T3, resultados que concordam com os encontrados por Kim & Brown (1997) ao utilizar T3 e cortisol na água das larvas de *Polidactylus sexfilis*. Entretanto discordam dos de Hey *et al.* (1996) que demonstraram aumento de canibalismo em larvas de *Stizostedion vitreum* após imersão em hormônios tireoidianos.

Um dos peixes de maior valor comercial no Brasil é o dourado, *Salminus maxillosus*, apreciado pelo grande tamanho e a boa qualidade de carne. É um peixe com grande potencial para cultivo, porém apresenta elevada mortalidade na fase inicial por apresentar alto grau canibalismo (Woynarovich & Sato, 1989; Souza, 1999; Ribolli *et al.*, 2002).

Segundo as considerações anteriores, o presente trabalho teve como objetivo estudar a participação da triiodotironina (T3) no crescimento e sobrevivência das larvas de dourado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

O trabalho foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Peixes Tropicais (CEPTA), Pirassununga, e no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal.

2.2 Material biológico, tratamentos e manejo experimental

Foram utilizadas 8400 larvas de dourado provenientes de ovos fertilizados que foram hidratados com soluções de triiodotironina (T_3), segundo os seguintes tratamentos: T1-sem hormônio; T2-0,01 ppm; T3-0,05 ppm; T4-0,1 ppm; T5-0,5 ppm e T6-1 ppm de T_3 . Para o preparo das soluções de hidratação, a T_3 foi previamente dissolvida em di-metil-sulfóxido (DMSO), adicionado também na água do tratamento 1 (controle) (Brown *et al.*, 1988).

Depois de 15 minutos, os ovos foram lavados com água corrente e transferidos para incubadoras cônicas com fluxo ascendente e contínuo de água, numa temperatura média de $26,44 \pm 0,87^\circ\text{C}$, onde permaneceram até 72 horas após a eclosão. As larvas obtidas foram alimentadas desde a hora 24 com zooplâncton (cladóceros) e larvas de curimatá (*Prochilodus lineatus*).

Para a montagem do experimento, as larvas foram divididas ao acaso em quatro caixas por tratamento numa densidade de 10 larvas L^{-1} . A alimentação foi oferecida 7 vezes por dia, intercalando larvas de curimatá (10 unidades por larva), plâncton (250

unidades por larva) e ração comercial de 48% de PB, durante os primeiros 3 dias; do dia 4 ao 7, plâncton (500 unidades) e ração e nos últimos 3 dias somente ração.

Todos os dias (manhã e tarde), foram registrados a temperatura e o oxigênio dissolvido da água, com ajuda de um oxímetro YSI[®] 95/25FT. Os outros parâmetros de qualidade da água (dureza total, pH, amônia e alcalinidade) foram medidos a cada 3 dias. A dureza e alcalinidade foram determinadas por titulação e a amônia pelo método de Nessler.

2.3 Coleta do material

Quarenta larvas de cada tratamento (10 por repetição) foram coletadas e fixadas nos dias 1, 3, 5, 7 e 10 do experimento. A fixação foi feita em glutaraldeído 2,5% e posteriormente todo o material foi lavado e mantido a 4°C em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH=7,4), até o momento das análises.

2.4 Análise do material

O comprimento das larvas foi medido com um paquímetro Mitutoyo[®], com precisão de 0,01 mm, e o peso numa balança analítica Sartorius[®], com precisão de 0,01 mg. A taxa de crescimento específico (SGR) foi calculada utilizando a equação apresentada por Ricker (1979). No final do experimento, foi calculada a taxa de sobrevivência.

2.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando-se uma análise de variância (ANOVA). A comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey (5%). Todas as análises foram realizadas pelo software SAS v.8.

3. RESULTADOS

Como ilustrado na Figura 1, durante todo o período experimental, foi observada uma relativa homogeneidade nos valores de temperatura e oxigênio, sem diferenças entre os tratamentos. Os outros parâmetros também se mantiveram constantes com valores médios de pH $5,91 \pm 0,03$; amônia $0,04 \pm 0,002 \text{ mg L}^{-1}$; dureza total $4,59 \pm 0,14 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ e alcalinidade $8,75 \pm 0,70 \text{ mg L}^{-1}$.

O peso e comprimento corporal das larvas são apresentados na Tabela 1. As diferenças relacionadas ao uso do hormônio só apareceram no último dia de cultivo, com uma tendência de superioridade, tanto em peso quanto em comprimento, nas larvas provenientes de ovos hidratados na maior concentração do hormônio (tratamento 6). Igual comportamento foi observado na taxa de crescimento específico (Figura 2), que demonstrou que, nesse tratamento (1 ppm de T3), o crescimento foi maior no final do experimento, embora menor no início dele.

Por outro lado, a sobrevivência apresentou diferenças significativas entre os tratamentos 4 (larvas produzidas de ovos expostos a 0,1 ppm de T3) e 6 (larvas produzidas de ovos expostos a 1 ppm de T3), sendo maior no tratamento 4. Nos outros tratamentos não houve diferenças (Figura 3). Observa-se que os maiores valores de

sobrevivência ocorreram nos grupos de larvas que apresentaram os menores pesos (tratamentos 3 e 4), 0,05 e 0,1 ppm, respectivamente.

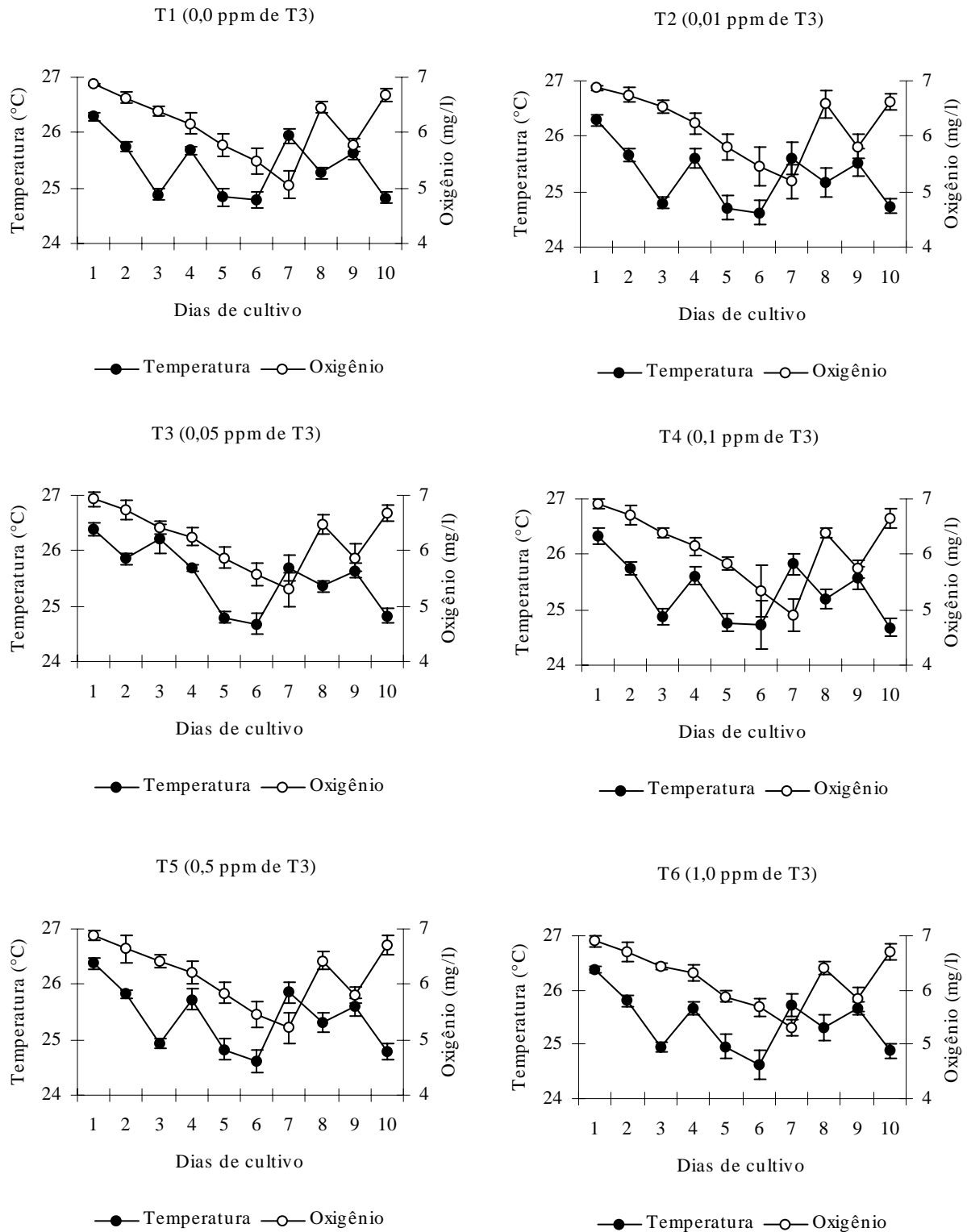


Figura 1. Valores médios \pm desvio padrão de temperatura e oxigênio dissolvido da água durante todo o período experimental.

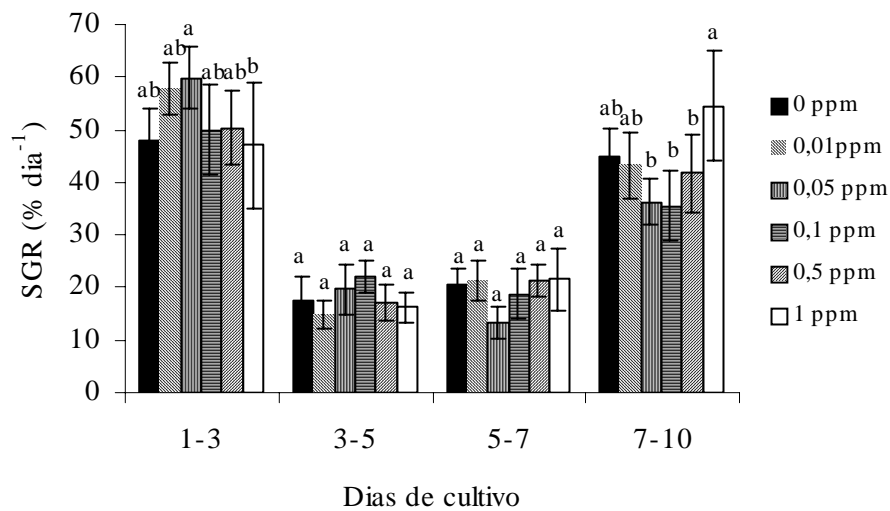
Tabela 1. Médias \pm desvio padrão do peso (mg) e comprimento (mm) das larvas de *Salminus maxillosus* nos diferentes tempos de coleta.

	T3 (ppm)	Tempo de cultivo (dias)				
		1	3	5	7	10
Peso (mg)	0	9,16 \pm 2,43 ^a	23,78 \pm 9,37 ^a	33,77 \pm 8,41 ^a	51,33 \pm 16,02 ^a	201,31 \pm 84,24 ^{ab}
	0,01	7,68 \pm 2,34 ^a	24,69 \pm 9,12 ^a	33,04 \pm 10,30 ^a	52,33 \pm 17,33 ^a	194,00 \pm 55,00 ^{ab}
	0,05	7,87 \pm 2,60 ^a	26,20 \pm 7,78 ^a	38,75 \pm 11,51 ^a	50,83 \pm 19,01 ^a	152,61 \pm 64,25 ^b
	0,10	8,96 \pm 2,53 ^a	24,37 \pm 10,83 ^a	37,78 \pm 15,03 ^a	55,10 \pm 12,92 ^a	161,65 \pm 35,52 ^b
	0,50	9,29 \pm 2,49 ^a	25,41 \pm 8,57 ^a	36,10 \pm 13,43 ^a	55,58 \pm 11,62 ^a	192,28 \pm 52,09 ^{ab}
	1,00	8,89 \pm 2,98 ^a	22,86 \pm 7,99 ^a	31,58 \pm 9,17 ^a	57,87 \pm 20,37 ^a	293,69 \pm 76,43 ^a
CV (%)		11,67	13,78	13,22	18,43	17,45
Comprimento (mm)	0	10,66 \pm 0,90 ^a	14,69 \pm 1,19 ^a	16,38 \pm 0,94 ^a	18,87 \pm 1,37 ^a	26,79 \pm 3,97 ^{abc}
	0,01	10,56 \pm 1,01 ^a	14,83 \pm 1,32 ^a	16,38 \pm 1,26 ^a	18,73 \pm 1,80 ^a	28,36 \pm 2,34 ^{ab}
	0,05	10,47 \pm 0,91 ^a	15,20 \pm 1,29 ^a	17,16 \pm 1,08 ^a	18,71 \pm 1,28 ^a	24,95 \pm 3,60 ^{bc}
	0,10	10,55 \pm 0,96 ^a	15,04 \pm 1,57 ^a	16,84 \pm 1,48 ^a	18,93 \pm 1,57 ^a	24,22 \pm 2,97 ^c
	0,50	10,47 \pm 0,97 ^a	14,85 \pm 1,28 ^a	16,58 \pm 1,14 ^a	18,96 \pm 1,58 ^a	27,25 \pm 3,49 ^{abc}
	1,00	10,56 \pm 1,21 ^a	14,48 \pm 1,21 ^a	16,19 \pm 1,17 ^a	19,03 \pm 1,78 ^a	30,25 \pm 3,06 ^a
CV (%)		4,56	2,80	2,96	4,91	6,10

n = 40

CV = Coeficiente de variação

Médias com letras iguais nas colunas não apresentam diferenças significativas entre os tratamentos (teste de Tukey, 5%)

Figura 2. Taxa de crescimento específico (SGR) \pm desvio padrão das larvas do dourado nos diferentes períodos amostrados. Em cada período, médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey (5%)

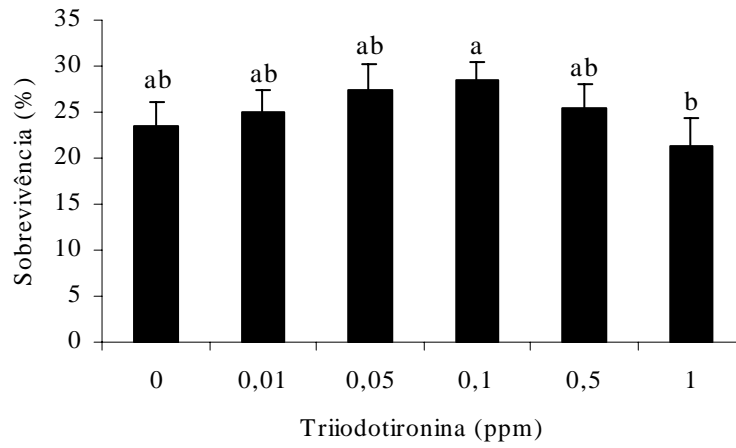


Figura 3. Taxas de sobrevivência \pm desvio padrão das larvas de dourado submetidas aos diferentes tratamentos. Médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas.

4. DISCUSSÃO

Os indicadores de qualidade da água durante todo o experimento estiveram dentro dos níveis normais para peixes tropicais, com exceção do pH que apresentou valor considerado baixo ($5,91 \pm 0,03$) (Boyd, 1990; Kubitza, 1999). Não obstante, nenhuma alteração foi observada no comportamento ou desempenho dos peixes que pudesse ser associada a este parâmetro. Os valores de pH encontrados no CEPTA estão sempre dentre esses limites sem afetar o desempenho dos animais.

Com relação ao crescimento das larvas, constatou-se que, no final do experimento, as larvas do tratamento 6, provenientes de ovos hidratados com 1 ppm de triiodotironina, apresentaram os maiores valores tanto em peso quanto em comprimento e taxa de crescimento específico, sugerindo que o hormônio afetou o crescimento inicial da espécie, resultados que concordam com os apresentados por Lam *et al.* (1985) e Lam & Sharma (1985) que conseguiram aumentar o crescimento das larvas de *Chanos chanos* e *Cyprinus carpio* ao utilizar T4. Do mesmo modo, Reddy & Lam (1992a, b) conseguiram melhorar o crescimento das larvas de *Carassius auratus* e *Oreochromis mossambicus* ao utilizar hormônios tireoidianos em tratamentos por imersão. No entanto, segundo vários pesquisadores, as doses altas dos hormônios são as que apresentam resultados negativos quanto ao crescimento (Lam, 1994; Huang *et al.*, 1996), contradizendo os resultados obtidos no presente trabalho.

Pelo exposto acima, se poderia afirmar que o uso da triiodotironina em dose de 1 ppm, na água de hidratação dos ovos, seria recomendada na larvicultura da espécie. Porém, nesse tratamento ocorreu a maior mortalidade, sugerindo que o crescimento superior pode ser devido a um aumento no canibalismo. Similares resultados são citados por Hey *et al.* (1996), em larvas de *Stizostedion vitreum*, mas discordam dos

apresentados por Urbinati *et al.* (2002), em *Brycon cephalus*, que observaram diminuição no canibalismo e aumento na sobrevivência e por Brown & Kim (1995) e Kim & Brown (1997) que demonstraram que a aplicação de T3 e cortisol por imersão melhorava a sobrevivência das larvas de *Polidactylus sexfilis* e que ambos os hormônios poderiam estar interagindo, proporcionando uniformidade do lote de larvas e diminuindo o canibalismo. No presente trabalho, a maior sobrevivência foi encontrada nos tratamentos 3 (0,05 ppm de T3) e 4 (0,1 ppm de T3), tratamentos nos quais o crescimento foi menor, sugerindo que nesses grupos houve menor predação, situação que concordaria com os resultados apresentados por esses pesquisadores.

Em conclusão, pode-se afirmar que embora se observou um crescimento maior nas larvas de *Salminus maxillosus*, provenientes de ovos expostos a 1ppm de triiodotironina, essa dose não seria recomendada para a espécie, pois foi a que ocasionou maior mortalidade. Nesta fase, um dos maiores desafios é conseguir altas taxas de sobrevivência, fazendo com que esse parâmetro seja o mais importante a ser analisado. Por isso, se sugere utilizar a dose de 0,1 ppm de T3, embora seja uma das que apresentou menor peso e comprimento, pois o mais importante para o produtor é o benefício econômico que possa ter ao vender maior número de indivíduos. No entanto, a pesquisa deve ser continuada para melhor confirmação dos resultados aqui obtidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATENCIO-GARCIA, V. 2000. Influência da primeira alimentação na alevinagem do yamú *Brycon siebenthalae* (Eigenmann, 1912), Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura. Florianópolis – SC, 130p.
- BARAS, E., NDAO, M., MAXI, M., JEANDRAIN, D., THOME, P., VANDEWALLE, P. & MELARD, C. 2000. Sibling cannibalism in dorada under experimental condition. I. Ontogeny, dynamics, bioenergetics of cannibalism and prey size selectivity. *J. Fish Biol.* 1001-1020.
- BOYD, C. 1990. Water quality in warmwater fish pond. Alabama: Auburn University. 482p.
- BROWN, C., DOROSHOV, S., NUÑEZ, J., HADLEY, C., VANEENENNAAM, J., NISHIOKA, R. & BERN, H. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J. Exp. Zool.* 248: 168-176.
- BROWN, C. & KIM, B. 1995. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. *Aquaculture* 135: 70-86.
- CECCARELLI, P. 1997. Canibalismo en larvas de matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências. Botucatu – SP. 92p.
- de JESUS, E., HIRANO, T. & INUI, Y. 1994. The antimetamorphic effect of prolactin in the Japanese flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.* 93: 44-50.
- DEANE, E. & WOO, N. 2003. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. *Life Sci.* 72: 805-818.
- GOETZ, F. 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. In: *Fish physiology*. Academic Press. New York. v. IX. part. B. p.117-170.
- GOMES, L., BALDISSEROTTO, B. & SENHORINI, J. 2000. Effects of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae) in ponds. *Aquaculture* 183: 73-81.
- GORBMAN, A. 1969. Thyroid function and its control in fishes. In: *Fish Physiology*. Academic Press. New York. v. II.
- HARVEY, B. & CAROLSFELD, J. 1993. Induced breeding in tropical fish culture. Ottawa, Ont., International Development Research Center. 144 p.
- HEY, J., FARRAR, E., BRIAN, T., BRISTOW, C., STETTNER & SUMMERFELT, R. 1996. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum*. *J. World Aquac. Soc.* 27(1): 40-51.

- HOLMEFJORD, I., GULBRANDSEN, J., LEIN, I., REFSTIE, T., LÉGER, P., HARBOE, T., HUSE, I., SORGELOOS, P., BOLLA, S., OLSEN, Y., REITAN, K., VADSTEIN, O., ØIE, G. & DANIELSBERG, A. 1993. An intensive approach to Atlantic halibut fry production. *J. World Aquac. Soc.* 24(2): 275-284.
- HUANG, L., SPECKER, J. & BENGTON, D. 1996. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish. Physiol. Biochem.* 15(1): 57-64.
- KIM, B. & BROWN, C. 1997. Interaction of cortisol and thyroid hormone in the larval development of Pacific threadfin. *Amer. Zool.* 37: 470-481.
- KUBITZA, F. 1999. Qualidade da água na produção de peixes. 3 edição. Jundiaí – SP. 97p.
- LAM, J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambicus*. *Aquaculture* 21: 287-291.
- LAM, J. 1994. Hormones and eggs/larval quality in fish. *J. World Aquac. Soc.* 25(1): 2-12.
- LAM, J., JUARIO, J. & BANNO, J. 1985. Effect of thyroxine on growth and development in post-sac larvae of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 46: 179-184.
- LAM, J. & SHARMA, R. 1985. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 44: 201-212.
- LIU, Y. & CHAN, W. 2002. Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation* 70: 36-45.
- LUZ, R. 2000. Larvicultura do mandi amarelo *Pimelodus maculatus* (Lacépède 1803): Desenvolvimento embrionário, larval e primeira alimentação. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura. Florianópolis – SC. 47p.
- MACKENZIE, D., THOMAS, P., & FARRAR, S. 1989. Seasonal changes in thyroid and reproductive steroid hormones in female channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in pond culture. *Aquaculture* 78: 63-80.
- MARTINEZ, I., DREYER, B., AGERSBORG, A., LEROUX, A., & BOEUF, G. 1995. Effects of T₃ and rearing temperature on growth and skeletal myosin heavy chain isoform transition during early development in the salmonid *Salvelinus alpinus* (L). *Comp. Biochem. Physiol.* 112B(4): 717-725.
- MYLONAS, C., SULLIVAN, C., & HINSHAW, J. 1994. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish. Physiol. Biochem.* 13(6): 485-493.

- PORTELLA, M., VERANI, J. & CESTAROLLI, M. 2000. 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. J. Aquac.Trop.15(1): 45-58.
- POWER, D., LLEWELLYN, L., FAUSTINO, M., NOWELL, M., BJÖRNSSON, B., EINARSDOTTIR, I., CANARIO, A. & SWEENEY, G. 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. Comp. Biochem. Physiol. part C. 130: 447-459.
- REDDY, P. & LAM, J. 1992a. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. Aquaculture 107: 383-394.
- REDDY, P. & LAM, J. 1992b. Role of thyroid hormones in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*) 1: Effects of the hormones and an antithyroid drug on yolk absorption, growth and development. Fish. Physiol. Biochem.9: 473-485.
- RIBOLLI, J., BERGMANN, F., da CUNHA, M., ROSA, M., MAKRAKIS, S., MARANHÃO, C., VIDAL, E., BAUMGARTNER, G. & MAKRAKIS, C. 2002. Efeito de diferentes tempos de privação de alimento sobre a mortalidade de larvas de dourado, *Salminus maxillosus* (Valenciennes,1849). In: XII Simpósio Brasileiro de Aquicultura. Anais, Goiânia-Goiás. p.57.
- RICKER, W. 1979. Growth rates and models. In: Fish Physiology, Academic Press. New York. v. VIII. p.677-743.
- SENHORINI, J. 1999. Biologia larval do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) e da piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae) em viveiros. Tese, Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP 101p.
- SOUZA, R. 1999. Respostas cárdio-respiratórias e metabólicas de dourado, *Salminus maxillosus* (Valenciennes, 1849) (Teleostei, Characidae) submetidos à hipóxia ambiental. Tese, Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. São Carlos – SP. 160p.
- STICKNEY, R. & LIU, H. 1999. Maintenance of broodstock, spawning, and early larval rearing of pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. Aquaculture 176(1-2): 75-86.
- TANAKA, M., TANANGONAN, J., TAGAWA, M., de JESUS, E., NISHIDA, H., ISAKA, M. KIMURA, R. & HIRANO, T. 1995. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. Aquaculture 135: 111-126.
- TESSER, M. 2002. Desenvolvimento do trato digestório e crescimento de larvas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) em sistemas de co-alimentação com náuplios de *Artemia* e dieta microencapsulada. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal – SP. 59p.

- URBINATI, E. C., SOARES, M. F. & SENHORINI, J. A. 2002. Preliminary study of the effect of maternal triiodothyronine on early development of matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae). *J. Aquac. Trop.* (in press).
- WIGHAM, T., POWER, D. & SWEENEY, G. 1998. The role of thyroid hormones and their receptors in development and growth of the sea bream: a molecular biological approach. Third European Marine Science and Technology Conference. p. 78-80.
- WOYNAROVICH, E. & SATO, J. 1989. Special rearing of larvae and post-larvae of matrinxã (*Brycon lundii*) and dourado (*Salminus brasiliensis*). In: Harvey, B. & Carosfeld, J. Eds. Workshop on larval rearing of finfish. Pirassununga, CIDA/CASAFA/ICSU. 134-136p.
- ZANUY, S. & CARRILLO, M. 1987. La reproducción de los teleosteos y su aplicación en acuicultura. In: reproducción en acuicultura. Monteros J. & Labarta. U. (editores). Madrid-España. p. 1-102.

CAPÍTULO VIII

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

O presente trabalho investigou a ação da triiodotironina (T_3), hormônio produzido pela glândula tireóide, sobre o desenvolvimento e crescimento inicial de 3 espécies de peixes nativos brasileiros, o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), a piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) e o dourado (*Salminus maxillosus*), com ênfase no desenvolvimento embrionário, no crescimento larval e dos alevinos, até o dia 15 de cultivo em aquário. Segundo a literatura especializada, este hormônio tem sido descrito como estimulador da embriogênese e do crescimento corporal dos peixes na fase inicial da vida. Ele é encontrado nos ovos, provenientes do organismo materno, e embora a glândula tireóide não esteja presente no início da vida embrionária dos peixes, ela aparece na fase larval deles. Além disso, receptores para os hormônios tireoidianos foram encontrados no embrião, em fase bem inicial do desenvolvimento. O presente trabalho utilizou a técnica de imersão de ovos fertilizados em soluções de triiodotironina, durante o procedimento de hidratação na rotina da reprodução artificial. As doses testadas foram escolhidas com base em estudos prévios, disponíveis na literatura.

Baseados nos resultados apresentados, pode-se concluir que a triiodotironina, da maneira como foi aplicada, e nas doses testadas:

1. Não teve influência no desenvolvimento embrionário do pintado, piracanjuba e dourado.
2. Afetou o crescimento larval e a reabsorção do saco vitelino no pintado e na piracanjuba. Porém, nesta última espécie, a dose maior utilizada (1 ppm) produziu resultados negativos.

3. A triiodotironina não teve efeito no crescimento do pintado durante 10 dias de cultivo. Na piracanjuba, o crescimento foi menor em todas as concentrações do hormônio utilizadas após 15 dias de cultivo, e no dourado a dose maior (1 ppm) é a que promoveu maior crescimento em 10 dias de cultivo.
4. O hormônio melhorou a taxa de sobrevivência das três espécies estudadas. Na piracanjuba e no dourado os melhores resultados foram obtidos nas doses de 0,01; 0,05; 0,1 e 0,5 ppm, começando a diminuir quando se utiliza a dose maior (1 ppm).

O aumento na taxa de sobrevivência é muito importante, pois na fase inicial de cultivo esse é o parâmetro mais importante a ser considerado, já que o produtor procura produzir e vender grandes quantidades de alevinos, os quais são cobrados individualmente, fazendo com que a utilização do hormônio seja recomendada na hidratação dos ovos das três espécies analisadas, devido a que sua utilização vai gerar benefício econômico para o produtor.

Os dados obtidos corroboram os encontrados em outras espécies e mostram a importância desta linha de pesquisa. Do mesmo modo, evidenciam a necessidade da continuidade das investigações visando esclarecer as dúvidas ainda existentes. Um exemplo é estabelecer a dose adequada para cada espécie, porque como se observou a resposta é diferente em cada uma delas. Recomenda-se, então, conhecer os níveis basais do hormônio antes de iniciar pesquisas futuras.