

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL

**Efeito da triiodotironina no desenvolvimento inicial de piau verdadeiro, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1849), adicionada nos ovos por hidratação, durante a fertilização.**

*Reidelvin Dumont Neto*

**Orientador: Prof.a. Dra. Elisabeth C. Urbinati**

**Dissertação apresentada ao Curso de Pós  
Graduação em Aquicultura do CAUNESP,  
como parte dos requisitos para obtenção do  
título de Mestre em Aquicultura.**

**JABOTICABAL – SP**

**2000**

*“DA MINHA ALDEIA vejo quanto da terra se pode ver no Universo*

*Por isso a minha aldeia é tão grande como outra terra qualquer*

*Porque eu sou do tamanho do que vejo*

*E não do tamanho da minha altura...”*

***Fernando Pessoa***

*Aos meus pais Demóstenes e Antônia, pelas palavras amigas e incentivo.*

*Às minhas irmãs, Ângela, Marilu, Sália e Marta*

*À minha esposa, Sandra, e aos meus filhos, Hugo e Carolina,  
os quais deram o maior incentivo e, ao mesmo tempo, foram  
os mais sacrificados, em todos os sentidos, para possibilitar  
a conclusão dos meus estudos. Que Deus permita estarmos  
sempre juntos.*

*Dedico este trabalho*

### **Agradecimentos especiais**

À Prof.a. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati, pela amizade, paciência, disponibilidade, dedicação e sinceridade, nos momentos de orientação

À Cia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF- Três marias-MG), na pessoa do Dr. Vilivaldo, pelas facilidades concedidas para que este trabalho fosse executado.

Ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UNESP, Jaboticabal, na pessoa da Sra. Damares Percim Roviero, por me ajudar em todos os momentos que precisei.

Aos amigos José Eugênio Diniz Bastos e Geraldo Diniz, os quais sempre me incentivaram a estudar e me ajudaram nos momentos mais difíceis de minha carreira profissional.

Ao Zezito e Maria, pelo carinho com meus filhos e apoio incondicional em todas as horas.

Ao Dr. Hugo Pereira Godinho, pela amizade e valiosa colaboração durante o transcorrer deste trabalho.

Aos amigos Sérgio Ostini (Cervejinha), Mônica, Alitiane, Afonso Pelli, Rossineide, Veralice, Sandrinha, Marcelo (Mala), Marcelo (Japinha) e Rose, pelo convívio curto, mas sincero.

À Fátima, Mônica e Ana, funcionárias do CAUNESP, pela atenção e auxílio prestado.

Ao Alexandre e ao Gil pelos auxílio estatístico.

Ao Dr. Euclides Braga Malheiros, pela tolerância, compreensão e auxílio estatístico.

## RESUMO

Os hormônios tireoideanos são hormônios metabólicos envolvidos nos processos de desenvolvimento inicial de muitas espécies de vertebrados. Em peixes, sua ação ainda é contraditória. O tratamento hormonal de ovos e larvas pode ser um meio prático de melhorar as técnicas de cultivo de peixes de importância comercial. O presente estudo avaliou o efeito da adição de triiodotironina em ovos de piau verdadeiro (*Leporinus elongatus*), através da hidratação dos mesmos, durante a fertilização, sobre o desenvolvimento inicial da espécie.

O experimento foi realizado na Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Três Marias, CODEVASF, em Três Marias, MG, de fevereiro e março de 2000. Foram utilizados ovos de 3 fêmeas (4 repetições por fêmea), fertilizados a seco, com o sêmen de um macho por fêmea. A hidratação dos ovos foi feita com soluções de triiodotironina, preparadas com água das incubadoras, durante 35 minutos. As soluções constituíram os tratamentos: Controle/Tr1 (0,0 ppm T<sub>3</sub>); Tr2 (0,01 ppm T<sub>3</sub>); Tr3 (0,05 ppm T<sub>3</sub>) e Tr4 (0,1 ppm T<sub>3</sub>). Após hidratação, os ovos foram transferidos para incubadoras de 20L, com condição físico-química monitorada. Determinou-se: taxa de fertilização, ao final da gastrulação (9 h após fertilização); duração da embriogênese (à eclosão); comprimento total das larvas e volume do saco vitelino (12 e 24 hs após a eclosão) e taxa de malformação (zero, 12 e 24 hs após eclosão). Os dados foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

O método de adição de hormônio durante a hidratação dos ovos, na fertilização, se mostrou de fácil execução e repetibilidade, mesmo em trabalho de campo. A adição de T<sub>3</sub> aos ovos de *Leporinus elongatus*, nas doses e condições testadas, prejudicou a

taxa de fertilização, prolongou o tempo de embriogênese, não alterou o crescimento inicial das larvas e não provocou malformações. A espécie parece apresentar níveis endógenos que dispensa o uso de hormônio exógeno para acelerar os processos iniciais de desenvolvimento.

## ABSTRACT

In teleostean fish, thyroid hormones have been implicated in early development, although available data are still contradictory. Hormonal treatments may offer a practical means of improving rearing techniques. The present study assessed the effects of triiodothyronine (T<sub>3</sub>) added to eggs of *Leporinus elongatus* by hydration during the fertilization process on the early development of the species.

The experiment was carried out at Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Três Marias, CODEVASF, in Três Marias, MG, from February to March of 2000. Eggs from 3 females were dry fertilized with milt (one male for each female) and hydrated with T<sub>3</sub> water solutions, during 35 minutes. Solutions constituted the treatments: Control/Tr1 (0.0 ppm T<sub>3</sub>); Tr2 (0.01 ppm T<sub>3</sub>); Tr3 (0.05 ppm T<sub>3</sub>) and Tr4 (0.1 ppm T<sub>3</sub>). After hydration, eggs were maintained in 20L incubators, with constant water flow and water conditions monitored. Fertilization rate (9 h after fertilization), embryogenesis time (at hatching), total length, yolk sac volume (12 and 24 h after hatching) and abnormality rate (zero, 12 and 24 h after hatching) were determined. Data were analyzed by ANOVA and Tukey test.

The T<sub>3</sub> addition by egg hydration during the fertilization process showed to be a practical and reproducible method to test hormones effect on fish early development. T<sub>3</sub> addition to *Leporinus elongatus* eggs decreased fertilization rate and prolonged embryogenesis time, in the tested dosis. It neither altered the larvae growth nor induced abnormalities. The species might present circulating levels of thyroid hormones that make exogenous hormone unnecessary to the improvement of its early development.

## INTRODUÇÃO

O piau verdadeiro ou piapara (*Leporinus elongatus*, Val. 1849) é endêmico em duas das maiores bacias brasileiras – Paraná e São Francisco. Espécie omnívora, com forte tendência para herbivoria, pode alimentar-se de crustáceos e plâncton (GODOY, 1975; FONTENELE & VASCONCELOS, 1977) e atinge até 7,5 kg de peso corporal (GODOY, 1975). Espécie reofílica importante para a pesca comercial e esportiva, o piau verdadeiro, assim como outras espécies migratórias, teve seu estoque pesqueiro reduzido como resultado das modificações ambientais causadas principalmente pelas barragens hidrelétricas (GODINHO, 1998). Embora dados sobre reprodução desta espécie sejam ainda reduzidos, a mesma vem sendo propagada com razoável eficiência na Estação de Piscicultura e Hidrobiologia de Três Marias, desde 1984, com objetivo de repovoamento do rio São Francisco (SATO et al., 1988).

A piscicultura no Brasil tem apresentado um notável crescimento nas últimas duas décadas, haja visto o grande número de empreendimentos voltados à produção de peixes principalmente nas regiões nordeste, sudeste e sul (CASTAGNOLLI, 1997; KUBITZA, 1998). Todavia, o sucesso dessa atividade depende do atendimento à crescente demanda de alevinos, que necessita de soluções eficazes para os diversos problemas existentes no processo zootécnico.

Na piscicultura de água doce, vários problemas relativos à criação foram solucionados com a domesticação e formação de plantéis de reprodutores de diversas espécies nativas e aprimoramento de técnicas de reprodução em cativeiro. No entanto, não existe produção eficiente de pós-larvas e alevinos, sendo um dos fatores limitantes o cultivo nos estágios mais precoces ou sensíveis de criação (SORGELOOS et al., 1991).

O aumento da demanda de pós-larvas e alevinos de diversas espécies neotropicais motivou pesquisas para solucionar os problemas relativos à esta fase de cultivo, através do

desenvolvimento de técnicas que possibilitem a obtenção de melhores taxas de sobrevivência e de crescimento desses organismos (PORTELLA, 1996; CECCARELLI, 1997).

As pesquisas com larvicultura de peixes nativos brasileiros têm abordado dentre outros aspectos, alimentação e nutrição, comportamento, sistemas de cultivo e qualidade da água.

Estudos com larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e dourado (*Salminus maxillosus*) têm demonstrado a necessidade do uso de alimentos vivos para obter-se uma boa taxa de crescimento e sobrevivência das larvas (BASILE MARTINS et al., 1987; PINTO & CASTAGNOLLI, 1984; SENHORINI, 1995; PELLI et al., 1997).

Testando o efeito da utilização de dietas vivas e artificiais enriquecidas com diferentes fontes de ácidos graxos, sobre a sobrevivência e desempenho de larvas de curimatã (*Prochilodus scrofa*), PORTELLA et al (2000) concluíram que a sobrevivência não foi afetada pelo uso das fontes de ácidos graxos utilizadas, indicando que a espécie é pouco exigente em relação à esta substância, porém dietas contendo 6% de óleo de fígado de bacalhau induziram melhores resultados de desempenho de crescimento dos alevinos. Dietas artificiais podem ser usadas como alimento exclusivo para larvas de curimatã, a partir de um mês de vida e com cerca de 12 mm de comprimento total.

CUFF (1977) e LOADMAN et al. (1986) atribuem ao canibalismo a baixa sobrevivência de larvas de peixes. WOYNAROVICH & SATO (1990) associaram nas incubadoras larvas de matrinxã (*Brycon lundii*) e de curimatã (*Prochilodus affinis*) e observaram predação das últimas pelas larvas de matrinxã, principalmente na primeira semana, o que proporcionou aumento de sobrevivência e crescimento acelerado destas. CECCARELLI (1997) avaliou a sobrevivência, canibalismo e crescimento de larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) em função da

consorciação com larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), curimatá (*Prochilodus scrofa*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*), admitindo como hipótese para explicar os possíveis efeitos dessa consorciação no canibalismo a diferença de velocidade de locomoção entre presa e predador. Ao final, sugeriu o consórcio de larvas de matrinxã com pacu na proporção de 5 pacus : 1 matrinxã.

KNOSCHE & MEYLAHN (1990) afirmam que a criação super intensiva de larvas é a maneira mais confiável de se obter animais para a estocagem de viveiros, tanques-rede ou outros sistemas de criação ao ar livre. De acordo com SALLES (1998), devido ao alto custo das terras no sudeste do Brasil, o cultivo de larvas de peixes em sistemas intensivos apresenta-se como uma alternativa ao sistema tradicional de criação, uma vez que exige áreas menores e permite maior controle das condições ambientais, fatores estes que afetam o sucesso econômico da atividade. GOMES et al. (2000), estudando os efeitos de densidade de estocagem do *Brycon cephalus* sobre a qualidade da água, sobrevivência e crescimento, concluíram que o aumento da densidade de estocagem reduziu o crescimento e a homogeneidade, mas aumentou a produção de larvas de *Brycon cephalus*.

Segundo RANA (1990), cada espécie tem sua faixa de temperatura ótima para eclosão e desenvolvimento larval, a qual está relacionada com sua história evolutiva, podendo variar de acordo com o estágio ontogênico. CURIACOS (1999) avaliou os efeitos da temperatura na larvicultura do curimatá (*Prochilodus scrofa*) e concluiu que a fertilização dos ovos pode ocorrer entre 20 e 32 °C, sendo que a 32 °C a taxa de fertilização foi extremamente baixa e que a temperatura de 29 °C acelerou o crescimento, sem afetar a qualidade das larvas além de apresentar indivíduos maiores no início da alimentação exógena.

Além dos enfoques supra citados, mais recentemente, vêm se destacando estudos de fisiologia larval, em particular do efeito de hormônios tireoideanos no desenvolvimento inicial, embora os dados disponíveis ainda sejam contraditórios.

Os hormônios tireoideanos são conhecidos por acelerar o processo de metamorfose de anfíbios (HOURDRY, 1993) e por atuar em muitos processos fisiológicos, incluindo crescimento, desenvolvimento e diferenciação em muitos outros vertebrados (SCHWARTS, 1983).

Esses hormônios, quando utilizados para tratamentos de ovos de peixes, promovem a aceleração do crescimento e aumento da sobrevivência final de pós-larvas e alevinos em diversas espécies (LAM, 1994). Porém, alguns estudos mostram resultados contrários, indicando que seu efeito pode ser nulo ou deletério em outras espécies (LAM, 1994; MYLONAS et al., 1994; HUANG et al., 1996; STICKNEY & LIU, 1999).

O efeito dos hormônios tireoideanos pode ser testado na larva por via materna (BROWN et al., 1987; AYSON & LAM, 1993; MYLONAS et al., 1994; URBINATI et al., 2000) ou por tratamento direto das mesmas (LAM, 1980; LAM & SHARMA, 1985; HEY et al., 1996; HUANG et al., 1996; de JESUS et al., 1998; VASQUES, comunicação pessoal).

Estudos com *Brycon cephalus* têm mostrado efeitos positivos da triiodotironina, administrada na mãe durante a indução da reprodução, sobre o desenvolvimento e sobrevivência larval (URBINATI et al., 2000), ou administrada aos ovos durante a fertilização (VASQUES, comunicação pessoal).

Nesse sentido, o tratamento hormonal de ovos e larvas pode ser um método prático de melhorar o cultivo inicial de muitas espécies de peixes de importância comercial.

O objetivo deste estudo foi investigar o efeito da triiodotironina ( $T_3$ ) exógena sobre o desenvolvimento embrionário/larval de piau verdadeiro (*Leporinus elongatus*), adicionada aos ovos por hidratação com soluções do hormônio, durante o processo de fertilização.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Animais e tratamentos*

O experimento foi realizado na Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Três Marias, da Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco – CODEVASF, em Três Marias, MG ( $18^{\circ} 12'S$ ,  $45^{\circ} 15'O$ ), no período de fevereiro e março de 2000.

Os reprodutores de *Leporinus elongatus*, de 02 a 03 anos de idade, eram oriundos de propagação artificial efetuada naquela estação, onde foram mantidos em tanques de terra 0,06 ha (5 peixes/m<sup>2</sup>), alimentados com ração comercial (26% de proteína bruta), na proporção de 1,5% da biomassa, 5 dias por semana. Os tanques eram abastecidos com a água do reservatório de Três Marias, no rio São Francisco.

A seleção dos reprodutores para reprodução artificial, foi feita conforme a rotina da estação, baseada em características de maturação gonadal descritas por WOYNAROVICH & HÓVART (1983). Do mesmo modo, a hipofização dos reprodutores baseou-se na metodologia descrita pelos autores citados. A extrusão a seco dos gametas foi feita no momento em que apareceram os primeiros óvulos soltos no tanque de reprodução.

Para testar o efeito modulador do T<sub>3</sub>, elaborou-se um experimento inteiramente casualizado, para o qual foram utilizados ovos de 3 fêmeas (blocos 1, 2 e 3). Os ovos de cada fêmea foram separados em quatro alíquotas de 10ml cada, medidos por meio de bécker e separados em bacias de plástico com capacidade de 2 litros cada, previamente rotuladas. As alíquotas foram fertilizadas a seco, utilizando-se o sêmen de um macho por fêmea. A hidratação dos ovos foi feita com diferentes soluções de triiodotironina, preparadas com água das incubadoras. As soluções constituíram os diferentes tratamentos: Controle ou Tr1 (0,0 ppm T<sub>3</sub>); Tr2 (0,01 ppm T<sub>3</sub>); Tr3 (0,05 ppm T<sub>3</sub>) e Tr4 (0,1 ppm T<sub>3</sub>). Durante o processo de hidratação, as soluções de T<sub>3</sub> ou água (controle) foram adicionadas à massa de ovos sempre

que necessário. A duração deste processo foi de 35 minutos para cada porção de ovos, após o qual eles foram transferidos para incubadoras de 20 litros de capacidade, aleatoriamente escolhidas.

A vazão das incubadoras foi regulada para aproximadamente, 1,5 a 2,5 litros/min para cada 10 litros de volume de água da incubadora, uma vez que os ovos dessa espécie são demersais e livres (SATO et al., 2000), não necessitando de grande fluxo de água para sua movimentação.

A condição físico-química da água (temperatura, pH e condutividade), foi monitorada periodicamente ao longo período experimental. A temperatura foi mensurada de hora em hora nas primeiras 12 horas, e os dados utilizados para se determinar as horas-grau relativas à duração da embriogênese. O pH e a condutividade foram medidos uma vez ao dia (às 15:00 h) e oscilaram de 6,1 a 6,29 e de 61 a 62  $\mu\text{S}$ , respectivamente.

### ***Amostragens***

Ao longo do experimento, foram realizadas 4 amostragens de embriões e larvas, nos seguintes tempos:

- Para determinação da taxa de fertilização - ao final da gastrulação ( 9 h após fertilização);
- para determinação da duração da embriogênese - à eclosão;

- Para realização de biometrias - 12 e 24 horas após a eclosão;

Todas as amostras foram fixadas em solução de formol a 8% em solução de NaCl 0,7% , para análise posterior.

A taxa de fertilização foi determinada ao final da gastrulação, segundo ZANIBONI & BARBOSA (1992).

A duração da embriogênese foi determinada, em horas-grau, no período compreendido entre a fertilização dos ovos e a eclosão, multiplicando-se a temperatura média registrada pelo número de horas decorridas no referido período, podendo ser chamada também de tempo de eclosão.

A biometria dos embriões e larvas coletados foi feita através de microscópio estereoscópico Zeiss SV-6, medindo-se o comprimento total da larva, a altura e o comprimento do saco vitelino. Estas duas últimas medidas foram utilizadas para se determinar o volume do vitelo, segundo a fórmula:  $YV = \pi/6 \cdot YL \cdot YD^2$  (ÁVILA & JUÁRIO, 1987). As medidas foram obtidas em 30 larvas de cada fêmea, por tratamento e por hora de coleta.

A taxa de malformações das larvas foi obtida examinando-se 100 larvas, por fêmea, tratamento e hora de coleta.

Os dados foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), através do SAS (6.12).

As variáveis em %, foram previamente transformadas em arsen/100 para serem analisadas.

## RESULTADOS

### *Taxa de fertilização*

Os dados da taxa de fertilização dos ovos de *Leporinus elongatus* submetidos a diferentes concentrações de T<sub>3</sub> durante a hidratação e analisados estatisticamente estão representados na Tabela 1 e os dados médios de cada fêmea utilizada na Tabela 3, do Apêndice. Observando os dados, verifica-se que houve diferença altamente significativa ( $P < 0,001$ ) para os blocos 1, 2 e 3 (fêmeas) e para os tratamentos (doses de T<sub>3</sub>), indicando um efeito prejudicial do T<sub>3</sub> sobre a taxa de fertilização dos ovos desta espécie. O hormônio reduziu a taxa de fertilização em todas as doses testadas, sendo que as fêmeas mostraram respostas individuais diferenciadas.

### *Duração da embriogênese ou tempo de eclosão (horas-grau)*

Na Tabela 1, são apresentados os dados de duração de embriogênese analisados estatisticamente e na Tabela 4, do Apêndice, os dados médios de cada fêmea, bem como as médias por tratamento. Observa-se que a utilização do T<sub>3</sub>, durante a fertilização de ovos de *Leporinus elongatus*, provocou um retardamento do tempo de eclosão com diferença entre fêmeas e proporcional à dose utilizada, sendo o efeito altamente significativo para blocos ( $P < 0,001$ ) e significativo para os tratamentos ( $P < 0,05$ ).

Tabela 1. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias, obtidos na análise de variância das variáveis: taxa de fertilização (Fert.) e duração da embriogênese (Embr., horas-grau).

Estatística	Variáveis		
	Fert. <sup>1</sup>	Embr.	
F para Blocos	9,37 <sup>**</sup>	67,91 <sup>**</sup>	
F para Tratamentos	26,11 <sup>**</sup>	5,91 <sup>*</sup>	
CV %	32,89	0,78	
Médias			
	Tr1	0,93 <sup>2</sup> A	444,61B
	Tr2	0,39 BC	449,69AB
	Tr3	0,26 C	452,49AB
	Tr4	0,49 B	456,32A

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\arcsen \sqrt{\%}$

<sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5%

<sup>\*\*</sup> (P < 0,001)

<sup>\*</sup> (P < 0,05)

### ***Taxa de malformações***

Na Tabela 2, são apresentados os dados de taxa de malformação das larvas analisados estatisticamente e na Tabela 5, do Apêndice, os dados médios de cada fêmea. A análise indica que houve diferença altamente significativa ( $P < 0,001$ ) entre as fêmeas e ao longo do tempo de amostragem, mas não para os tratamentos. As diferentes fêmeas apresentaram respostas individuais e o número de larvas malformadas reduziu ao longo do tempo.

### ***Comprimento total das larvas – CT (mm)***

Na Tabela 2, são apresentados os dados de comprimento total das larvas analisados estatisticamente e na Tabela 6, do Apêndice, os dados médios de cada fêmea. De acordo com os dados, não houve diferenças significativas no comprimento total das larvas por efeito das diferentes doses de triiodotironina utilizadas. As diferenças registradas ocorreram em larvas de diferentes fêmeas e ao longo do tempo, como era de se esperar.

### ***Volume do Vitelo – VV ( $\mu$ l)***

Na Tabela 2, são apresentados os dados de volume de vitelo das larvas analisados estatisticamente e na Tabela 7, do Apêndice, os dados médios de cada fêmea. A análise dos dados indica que, nas condições deste experimento, não houve diferença significativa no volume do saco vitelino das larvas por efeito do hormônio utilizado durante a fertilização dos ovos. As diferenças foram registradas entre diferentes fêmeas, com redução ao longo do tempo, como era de se esperar.

Tabela 2. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias, obtidos na análise de variância das variáveis: taxa de malformações (MF), comprimento total CT (mm) e volume do saco vitelino – VV ( $\mu$ l) das larvas.

Estatística	Variáveis			
	MF <sup>1</sup>	CT	VV	
F para Blocos	28,73 <sup>**</sup>	18,80 <sup>**</sup>	76,95 <sup>**</sup>	
F para Tratamentos (Tr)	1,22 <sup>NS</sup>	0,22 <sup>NS</sup>	0,28 <sup>NS</sup>	
F para Tempo (T)	13,23 <sup>**</sup>	1463,07 <sup>**</sup>	8,60 <sup>**</sup>	
F para int. Tr x T	0,24 <sup>NS</sup>	1,79 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>	
CV Parcela %	21,49	2,32	8,57	
CV Subparcela %	33,55	1,51	36,48	
-----				
Médias Tr	Tr 1	0,48 <sup>2</sup>	3,13	140,83
	Tr 2	0,57	3,12	139,93
	Tr 3	0,49	2,11	136,35
	Tr 4	0,49	3,12	137,40
-----				
Médias T	T 0	0,70A	2,58C	210,59A
	T 12	0,49B	3,17B	111,04B
	T 24	0,34B	3,61A	94,24B

<sup>1</sup> Dados transformados em arcsen  $\sqrt{\%}$

<sup>2</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5%

<sup>\*\*</sup> (P<0,001)

## DISCUSSÃO

A forma de adição de hormônios tireoideanos a ovos de peixes, através da hidratação, durante a fertilização, como suplemento às concentrações endógenas de origem materna ou própria, não foi ainda descrito na literatura. Embora a concentração de  $T_3$  dos ovos após a fertilização ou das larvas provenientes de ovos suplementados com hormônios não tenha sido quantificada neste experimento, sua incorporação é esperada, visto que as iodotironinas ( $T_3$  e  $T_4$ ) são hormônios hidrófobos, que atravessam a membrana celular com facilidade para a ligação com seus receptores nucleares (EALES, 1988) onde irão desencadear os efeitos biológicos específicos. A interação dos hormônios tireoideanos com os receptores nucleares é o ponto final da ação desta glândula. A maior afinidade do  $T_3$  em relação ao  $T_4$  é um indício de que o hormônio da tireóide biologicamente ativo nos tecidos é o  $T_3$ , razão pela qual só esse hormônio foi utilizado no presente trabalho.

Essa metodologia apresenta como vantagem a facilidade de execução, não necessitando de tecnologia refinada ou perícia especial, além de ser barata pois utiliza quantidades muito pequenas de hormônios. Sua utilização em estudos do efeito de  $T_3$  no desenvolvimento inicial do matrinxã vem sendo usada com resultados promissores (VASQUES, comunicação pessoal).

### *Taxa de fertilização (Fert.)*

A taxa de fertilização é um parâmetro rotineiramente utilizado na reprodução de peixes para avaliar o desempenho reprodutivo e estimar a quantidade final de larvas e alevinos produzidos (ZANIBONI FILHO & BARBOSA, 1992).

Vários fatores afetam esta variável. Uma delas é a condição nutricional dos reprodutores que pode influenciar a qualidade dos ovos e larvas produzidas por peixes

(WATANABE et al., 1984; JOBLING, 1995). Além disso, durante o período de incubação de ovos e larvas, a renovação da água das incubadoras tem papel fundamental no desempenho do desenvolvimento dos embriões, pois além de carrear os catabólitos ajuda a manter o oxigênio em níveis satisfatórios, devendo permanecer entre 0,2 e 0,5 litros/minuto por cada 10 litros de incubadora tipo funil (WOYNAROVICH & HÓVART, 1983; ZANIBONI FILHO (1992), trabalhando com tambaqui (*Colossoma macropomum*), relacionou quedas na taxa de fertilização com variações de níveis de oxigênio.

Outro fator ambiental importante é a temperatura. CURIACOS (1999) relata que a faixa de conforto térmico para o cultivo de ovos e larvas de curimatá (*Prochilodus scrofa*) está entre 20 e 32 °C, sendo possível obter maiores valores de fertilização a 26 °C.

No presente experimento, estes fatores provavelmente não afetaram as respostas obtidas, visto que todos os reprodutores utilizados tinham o mesmo manejo alimentar, descartando a condição nutricional como responsável por respostas diferenciadas. Por outro lado, o fluxo de água de 1,5 a 2,5 litros/minuto, por cada 10 litros de volume de incubadora, assegurou a qualidade da água de cultivo, o que conseqüentemente não teve influências negativas para a taxa de fertilização. Igualmente, a temperatura da água foi semelhante em todo o período experimental, para todos os grupos estudados.

Além da variação da taxa de fertilização devido a fatores individuais das fêmeas de *Leporinus elongatus*, foi observada uma variação altamente significativa devido à utilização de soluções de T<sub>3</sub> para a hidratação dos ovos durante a fertilização. Considerando os valores obtidos para os ovos do tratamento controle, hidratados apenas com água, a adição do hormônio prejudicou a fertilização dos ovos. A taxa

de fertilização verificada para os ovos submetidos ao tratamento controle é semelhante à já descrita para a espécie por SATO et al. (2000), que obtiveram taxa de fertilização  $63,8 \pm 16,4 \%$ .

Embora a forma de adição do T<sub>3</sub> aos ovos utilizada neste experimento não tenha sido utilizada em outros trabalhos da literatura, ou efeitos sobre taxa de fertilização não tenham sido descritos, efeitos negativos gerais dos hormônios tireoideanos no desenvolvimento inicial de peixes foram relatados (REDDY & LAM, 1991; REDDY & LAM, 1992; LAM, 1994; MYLONAS et al., 1994; HUANG et al., 1996; STICKNEY & LIU, 1999).

#### ***Duração da embriogênese ou tempo para a eclosão (Embr.)***

A duração do período embrionário não é pré determinada, pois além de variar entre as espécies e indivíduos, depende da temperatura da água de incubação, que pode acelerar ou retardar a duração do evento (CURIACOS, 1999; SATO et al. 2000). O tempo de embriogênese do piau verdadeiro foi significativamente acelerado, com o aumento da temperatura da água de incubação (SATO et al., 2000). Neste estudo, este fator foi excluído com determinante de alterações, visto que todos os grupos estudados foram submetidos às mesmas variações de temperatura, ao longo de experimento.

A utilização de hormônios tireoideanos acelera a embriogênese de vários peixes (AYSON & LAM, 1993, INUI et al, 1995, DE JESUS et al, 1998). Porém , a mesma tendência não foi verificada no presente estudo. Ao contrário, a duração da embriogênese aumentou á medida que se aumentou a concentração do hormônio (T3) usado na fertilização dos ovos de *Leporinus elongatus*. *Este resultado contrapõe á ação metabólica dos hormônios tireoideanos de acelerar processos de crescimento e maturação*

tecidual (SCHWARTZ, 1983), a não ser que a concentração do hormônio utilizada tenha sido excessiva, disparando mecanismos regulatórios, como o de retroalimentação negativa ou de down regulation de receptores (AYRES, 1999). Para reforçar essa possibilidade, RED & LAM (1992) relataram que doses de T<sub>4</sub> consideradas suprafsiológicas causaram anormalidades esqueléticas no *Carassius auratus*.

Resultados semelhantes aos do presente experimento foram obtidos por VASQUES (comunicação pessoal), que medindo o tempo de eclosão de ovos de *Brycon cephalus*, tratados com T<sub>3</sub> durante a fertilização, encontrou tempos maiores de embriogênese, utilizando as mesmas doses hormonais do presente experimento.

Contrariamente à esta observação, ocorreu redução no tempo de eclosão dos ovos de fêmeas de matrinxã, que foram injetadas com T<sub>3</sub> durante a indução para a reprodução, feita com extrato bruto de hipófise, sugerindo que o efeito do hormônio possa ocorrer antes do processo da fertilização (URBINATI, comunicação pessoal).

### ***Taxa de malformações***

A condição nutricional dos reprodutores é importante para determinar a qualidade da progênie. Segundo JOBLING (1995), dietas para reprodutores pobres em ácido ascórbico podem ocasionar aparecimento de deformidades em larvas. Já, CURIACOS (1999) atribuiu o aumento do número de deformidades em larvas de *Prochilodus scrofa* às diferentes temperaturas de incubação. Como estas variáveis foram controladas no presente estudo, provavelmente não interferiram nas respostas verificadas.

Os hormônios tireoideanos são classicamente conhecidos por atuar no processo de metamorfose de anfíbios (HOURDRY, 1993) e no desenvolvimento inicial de outras espécies de vertebrados (SCHWARTZ, 1983).

MYLONAS et al. (1994), em experimento com fêmeas de *Salmo trutta* injetadas com T<sub>3</sub>, sugeriram que, em teleósteos que têm altos níveis endógenos de T<sub>3</sub>, o acréscimo desse hormônio provoca efeitos deletérios aumentando o número de larvas com anormalidades esqueléticas. Além disso, REDDY & LAM (1992) afirmaram que a utilização de T<sub>3</sub> em doses acima de 0,1ppm provoca anormalidades, principalmente na coluna vertebral e nadadeiras peitorais de *Carassius auratus*.

Embora os efeitos do T<sub>3</sub> sobre a duração da embriogênese de *Leporinus elongatus* verificados no presente experimento possam sugerir doses excessivas do hormônio, elas não foram suficientes para induzir malformações nas larvas provenientes de ovos tratados com a triiodotironina. Do mesmo modo, VASQUES (comunicação pessoal) e URBINATI (comunicação pessoal) não observaram no matrinxã aumento do número de malformações em larvas provenientes de ovos hidratados com T<sub>3</sub>, ou de ovos provenientes de mães injetadas com o mesmo hormônio durante a hipofiseção, respectivamente.

A redução do número de indivíduos malformados ao longo do tempo neste experimento ocorreu provalmente devido a mortalidade destas larvas

#### ***Comprimento total das larvas (CT)***

Tendência de aumento do tamanho da larva proporcional à elevação da temperatura da água de incubação, até um determinado valor, foi observado para *Sparus sarta* e *Prochilodus scrofa* (MIHELAKAKIS & KITAJIMA, 1994; CURIACOS, 1999).

Este fator foi excluído como determinante de alterações, pois esteve presente em todos os grupos utilizados.

O envolvimento dos hormônios tireoideanos ( $T_4$  e  $T_3$ ) no desenvolvimento inicial de peixes teleósteos foi relatado por BROWN et al. (1987) e LAM (1994). Os hormônios da circulação materna podem ser transferidos para os ovos e conseqüentemente alterar o desempenho larval (AYSON & LAM, 1993) ou ser administrado às larvas por imersão induzindo alterações no desempenho (REDDY & LAM, 1992; HEY et al., 1996; de JESUS et al., 1998).

CHANG-YOUNG & DUK-YOUNG (1998) observaram que os hormônios da tireóide podem desempenhar algum papel no metabolismo fisiológico do rockfish (*Sebastes schlegelii*), durante o desenvolvimento larval. Mas as evidências disponíveis são contraditórias.

Altas concentrações de  $T_3$  ou exposição prolongada de larvas de tilápia ao mesmo hormônio, que suplementou o estoque materno, causou retardamento de crescimento e desenvolvimento anormal (NACARIO, 1983; REDDY & LAM, 1992). Do mesmo modo, HUANG et al. (1996) concluíram que o  $T_3$  exógeno pode ser prejudicial ao desenvolvimento e sobrevivência de larvas de striped bass (*Morone saxatilis*).

No presente experimento, a inclusão do hormônio  $T_3$  nos ovos de piauí verdadeiro, pela hidratação durante a fertilização, não promoveu o crescimento em comprimento das larvas. O mesmo tratamento aplicado a ovos de matrinxã mostrou melhoria no desempenho das larvas, que ao final de 15 dias de cultivo apresentaram maior crescimento em peso e comprimento corporal na dose de 0,1ppm de  $T_3$  (VASQUES, comunicação pessoal), dose também usada para o *Leporinu elongatus*. Igualmente, larvas de matrinxã, provenientes de fêmeas que receberam injeção de  $T_3$  durante a indução à reprodução artificial, eram maiores que as de fêmeas não tratadas, até os 6 dias de

larvicultura (URBINATI et al., 2000), ou após 60 horas da eclosão (URBINATI, comunicação pessoal).

### ***Volume do Vitelo***

A maioria dos teleósteos é ovulípara, apresentando fertilização externa dos ovos. Por esta razão, o ovo contém todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento inicial do embrião (JOBLING, 1995). À medida que a embriogênese se desenvolve, o conteúdo do saco vitelino é consumido para atender à demanda energética do processo (ÁVILA & JUÁRIO, 1987).

A adição de T<sub>3</sub> nos ovos de *Leporinus elongatus* não alterou o desaparecimento do saco vitelino, bem como não acelerou a embriogênese ou desempenho inicial das larvas, negando a possibilidade de intensificação dos mecanismos metabólicos presentes nesta fase fisiológica do desenvolvimento dos indivíduos estudados.

Concluindo, o tratamento de ovos de *Leporinus elongatus* com T<sub>3</sub> durante a fertilização não trouxe vantagens para o desenvolvimento inicial das larvas. Ao contrário, prejudicou a taxa de fertilização e prolongou o tempo necessário para o término da embriogênese e eclosão.

Não obstante, o método de inclusão de hormônio aos ovos através da hidratação, durante a fertilização é recomendável, pois é de fácil utilização e repetibilidade, não sendo necessário habilidade ou preparo técnico especializado para seu desenvolvimento.

O uso do hormônio, em si, não apresentou qualquer vantagem para tratamento de ovos de *Leporinus elongatus*. Uma provável explicação para os efeitos negativos verificados pode ser o tempo de exposição dos ovos na hidratação (35 minutos), como comentado por NACARIO (1983), em estudos com tilápia. Outra provável explicação é a

carga parental de hormônios presente nos ovos. Embora não se tenha analisado a concentração dos hormônios tireoideanos de reprodutores de piau verdadeiro ou seu perfil ao longo do ciclo reprodutivo, como relatado para matrinxã (SOARES, 2000), é possível especular que esta espécie apresente níveis endógenos de  $T_3$  mais altos que o matrinxã, o que responderia as diferenças encontradas entre espécies, como aventado também por outros autores e para outras espécies (MYLONAS et al., 1994; DICKHOFF et al., 1989). Os níveis mais altos tornariam desnecessária a suplementação do hormônio tireoideano no *Leporinus elongatus*.

## CONCLUSÕES

1. O método de adição de hormônio tireoideano, e provavelmente de outros hormônios, a ovos de peixes por hidratação, durante a fertilização, é uma técnica de fácil aplicação, não exigindo tecnologia refinada e habilidade técnica especializada para o seu desenvolvimento.
2. O hormônio triiodotironina, nas doses utilizadas no presente estudo, não mostrou efeitos benéficos para *Leporinus elongatus*. Ao contrário, diminuiu a taxa de fertilização dos ovos e prolongou o período de embriogênese. Por outro lado, não afetou o crescimento inicial das larvas e não induziu o aparecimento de malformações.
3. Estudos futuros devem investigar a carga parental endógena de  $T_4$  e  $T_3$  do *Leporinus elongatus* e a possível transferência materna para os ovos, para entendimento do mecanismo de ação destes hormônios em peixes.

**REFERÊNCIAS**

- ÁVILA, E. M. & JUÁRIO, J. V. 1987. Yolk and oil globule utilization developmental morphology of the digestive tract epithelium in larval rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Aquaculture*, 65: 319-331.
- AYRES, M. Fisiologia. 1999. Editora Guanabara Koogan, RJ, 795 p
- AYSON, F. G. & LAM, T. J. 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture*, 109: 83-93,.
- BASILE-MARTINS, M.A.; YAMANAKA, N.; JACOBSEN, O. & ISHIKAWA, C. M. 1987. Crescimento e sobrevivência de larvas de pacu *Piaractus mesopotâmicus* (Homberg, 1987) (= *Colossoma mitrei*, BERG, 1887). *Boletim do Instituto de Pesca*, 14(único):63-68.
- BROWN, C. .L.; DROSHOV, SULIVAM, C. V.; BERN, H.A. & DICKHOFF, W. W. 1987. Occurrence of thyroid hormones in early development stages of teleost fish. *Transactions of American Fisheries Society Symposium*, 2:144-150.
- CASTAGNOLLI, N. 1997. Piscicultura Intensiva e Sustentável de Espécies Nativas Brasileiras. Simpósio Sobre Manejo e Nutrição de Peixes. Piracicaba, SP. Anais.

- CECCARELLI, P.S. 1997. Canibalismo em larvas de matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869), Universidade Estadual Paulista, UNESP, Instituto de Biociências de Botucatu, SP. (Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas, Zoologia).
- CHANG-YOUNG, J & DUK-YOUNG. 1998. Maternal injection of 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T3) causes changes of thyroid hormone levels in plasma, eggs and yolk-sac larvae in female rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Journal of the Korean Fisheries Society*, 31: 721-726
- CUFF, W.R. 1977. Initiation and control of cannibalism in larval walleyes. *Progressive Fish-Culturist*, 49: 29-32.
- CURIACOS, A. P. J. 1999. Efeito da temperatura no desenvolvimento inicial de larvas de curimatá *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Characiformes, Prochilodontidae). Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura, Florianópolis, (Dissertação de Mestrado em Aquicultura).
- DE JESUS, E. G.; TOLEDO, J.D. & SIMPAS, M. S. 1998. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *General and Comparative Endocrinology*, 112: 10-16.
- DICKHOFF, W. W.; YAN, L.; PLISETSKAYA, E. M.; SULLIVAN, C. V.; SWANSON, P.; HARA, A. & BERNARD, M. G. 1989. Relationship between metabolic and reproductive hormones in salmonid fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7: 147-155.
- EALLES, J. G. 1988. The influence of nutritional state on thyroid function in various vertebrates. *American Zoology*, 28: 351-62.
- FONTENELE, O. & VASCONCELOS, E. A. 1977. Considerações sobre a aclimatização do piau verdadeiro, *Leporinus elongatus* Cuv. & Val., 1864 (anostomidae), em açudes do nordeste brasileiro. *Boletim Técnico. DENOCS, Fortaleza*, 35 (1):61-62.

- GODINHO, H.P. 1998. Fisheries management and conservation in southeastern Brazil: current status and needs. In: Action Before Extinction: an International Conference on Conservation of Fish Genetic Diversity (ed. By B. Harvey, C. Ross, D. Greer & J. Carolsfeld), pp. 187-203. World Fisheries Trust, Victoria, BC, Canada.
- GODOY, M.P. 1975. Peixes do Brasil – Subordem Characoidei – Bacia do rio Mogi Guassu, Vol. 3, pp. 539-552. Editora Franciscana, Piracicaba.
- GOMES, L.C.; BALDISSEROTO, B.& SENHORINI, J. A. 2000. Effect of stocking density on water quality, survival, and growth of larvae of the matrinxã, *Brycon cephalus* (Characidae), in ponds. *Aquaculture* .(in press).
- HEY, J.; FARRAR, E.; BRISTOW, B.T.; STETTNER, C. & SUMMERFELT, R.C., 1996. Thyroid hormones and their influences on larval performance and incidence of cannibalism in walleye *Stizostedion vitreum* *Journal of World Aquaculture Society*, 27: 40-51.
- HUANG, L.; SPECKER, J.L. & BENGTSON, D. A. 1996. Effect of triiodothyronine on the growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 15: 57-64.
- HOURDRY, J. 1993. Passage to terrestrial life in amphibians II. Endocrine determinism. *Zoological Science*, 10: 887-902
- INUI, Y.; YAMANO, K. & MIWA, S. 1995. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. *Aquaculture* 135: 87-98.
- JOBLING, M. 1995. Environmental biology of fishes. Development of eggs and larvae. Eds. Chapman & Hall, 455p.
- KNOSCHE, R. & MEYLAHN, G. U. 1990. Intensive early rearing of larvae of cyprinids and other species in suspended tarpaulin silos. *Aquacultural Engineering*, 9: 343-355.

- KUBITZA, F. 1998. "O futuro da piscicultura industrial com peixes carnívoros no Brasil". *Panorama da Aquicultura*, 8: 48.
- LAM, T.J. 1994. Hormones and egg/larval quality in fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(1): 2-12.
- LAM, T. J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (Tilapia) *mossambicus* Rupell, *Aquaculture* 21: 287-291.
- LAM , T. J. & SHARMA, R. 1985. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 44: 201-212.
- LOADMAN, N.L., MODIE, G.E.R. & MATHIAS, J. A. 1986. Significance of cannibalism in larval walleye (*Stizostedion vitreum*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 43: 613-618.
- MIHELAKAKIS, A. & KITAJIMA, C. 1994. Effects of salinity and temperature on incubation period, hatching rate, and morphogenesis of the silver bream, *Sparus sarba* (Forsk. 1775). *Aquaculture*, 126: 361-371.
- MYLONAS, C. C.; SULLIVAN, C. V. & HINSHAW, J. M. 1994. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish Physiology and Biochemistry*, 13: 485-493.
- NACARIO, J.F. 1983. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. *tilapia nilotica*. *Aquaculture*, 34: 73-83.
- PELLI, A.; DUMONT-NETO, R.; SILVA, J.D. & BARBOSA, N.D.C. 1997. Observações sobre o hábito alimentar de pós-larvas e alevinos do dourado (*Salminus maxillosus* Val. 1849) em diferentes condições de cultivo. *Rev. UNIMAR*, 19: 509-520.
- PINTO, M.L.G. & CASTAGNOLLI, N. 1984. Desenvolvimento inicial do pacu *Colossoma mitrei* (BERG, 1895). *Anais. Simpósio Brasileiro de Aquicultura*, São Carlos-SP, p. 523-535.

- PORTELLA, M.C.; VERANI, J.R. & CESTAROLLI, M.A. 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. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 15(1): 45-58.
- RANA, K. J. 1990. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L) eggs and fry I. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. *Aquaculture*, 87: 165-181
- REDDY, P. K. & LAM, T. J. 1991. Effect of thyroid hormones on hatching in the tilapia larvae *Oreochromis mossambicus*. *General and Comparative Endocrinology*, 81: 484-491.
- REDDY, P. K. & LAM, T. J. 1992. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 107: 383-394.
- SALES, F. A., 1998. Aspectos técnicos e econômicos da larvicultura intensiva do curimatá *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881) em escala massal. Universidade Estadual de São Paulo, UNESP, Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal. (Dissertação de Mestrado em Aquicultura, Área de Concentração em Aquicultura).
- SATO, Y., CARDOSO, E.L. & CAPUCHINHO, S. A. 1988. Reprodução induzida do piauí-verdadeiro (*Leporinus elongatus*) da bacia do São Francisco. In: ENCONTRO ANUAL DE AQUICULTURA DE MINAS GERAIS, 4. Coletânea dos Resumos da Associação Mineira de Aquicultura; 1982-1987. Brasília, CODEVASF, p.72-73.
- SATO, Y., FENERICH-VERANI, N. VIERIA, L.J.S. & GODINHO, H.P. 2000. Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish *Leporinus elongatus* Val, under captive breeding. *Aquaculture Research*, 31: 89-193.
- SCHWARTZ, H. L. 1983. Effect of thyroid hormone in growth and development. In: Molecular bases of thyroid hormone action. Academic Press New York.

- SENHORINI, J. A. 1999. Biologia larval do matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) e da piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849), (Pisces Characidae) em viveiros. Universidade Estadual Paulista, UNESP, Instituto de Biociências, Botucatu, (Tese de Doutorado em Ciências, Zoologia).
- SOARES, M. C. F. 2000. Influência da triiodotironina no metabolismo e na reprodução induzida de matrinxã *Brycon cephalus*. Universidade Estadual Paulista, UNESP, FCAV, Jaboticabal (Tese de Doutorado em Zootecnia, Produção Animal).
- SORGELOOS P.; LAVENS, P.; LEGER, PH & TACKAERT, W. 1991. State of the art in larviculture of fish and shellfish. In: Fish & Crustaceans Larviculture Symposium. Gent, Belgium. Eds. P. LAVENS; P. SORGELOOS; E. JASPERS & F. OLIVER. European Aquaculture Society. p. 3-5.
- STICKNEY, R. R. & LIU, H. W. 1999. Maintenance of broodstock, spawning, and early larval rearing of Pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. *Aquaculture*, 176: 75-86.
- URBINATI, E. C.; SOARES, M. C. F. & SENHORINI, J. A. 2000. Effect of maternal triiodothyronine on early development of matrixã, *Brycon cephalus* (Characidae). *Aquaculture* (submitted).
- WATANABE, T.; ARAKAWA, T.; KITAGIMA, C. & FUGITA, S. 1984. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. Bulletin of *Japanese Society of Science and Fisheries*, 50: 495-501.
- WOINAROVICH, E. & HÓVARTH, L.A. 1983. A propagação artificial de peixes Tropicais. Manual de Extensão. Brasília, DF. FAO/CODEVASF/CNPq. 220p.

WOYNAROVICH, E. & SATO, Y. 1990. Special rearing of larvae of *matrinxã* (*Brycon lundii*) and dourado (*Salminus brasiliensis*). In: Harvey, B., CAROLSFELD, J. (eds). WORKSHOP ON LARVAL REARING OF FINFISH. [S.1.]:CIDA/CASAFA/ICSU, p. 134-136

ZANIBONI, FILHO, E. & BARBOSA, N.D.C. 1992. Número amostral para determinação de taxa de fertilização durante a incubação de ovos de peixes reofílicos. Resumo. 1ª Reunião Anual do Instituto de Pesca, São Paulo, SP. p 65.

ZANIBONI FILHO, E. 1992. Incubação, larvicultura e alevinagem do tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER 1818). Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar. (Tese de Doutorado em Ecologia em Recursos Naturais).

## **APÊNDICE**

**Tabela 3.** Taxa de fertilização\* (%) de ovos de *Leporinus elongatus*, hidratados com diferentes soluções de triiodotironina, durante o processo de fertilização.

Fêmea	T <sub>3</sub> (ppm)			
	0,0	0,01	0,05	0,1
1	77 <sup>n</sup>	7	14	12
2	33	2	7	19
3	80	49	1,6	38
Média	63 ± 26	19 ± 26	8 ± 6	23 ± 13

\* obtida ao final da gastrulação (cerca de 9 h após a fertilização)

<sup>n</sup> média de 4 repetições, para cada fêmea

**Tabela 4.** Duração da embriogênese\* (horas-grau) de ovos de *Leporinus elongatus*, hidratados com diferentes soluções de triiodotironina, durante o processo de fertilização.

Fêmea	T <sub>3</sub> (ppm)			
	0,0	0,01	0,05	0,1
1	453,6 <sup>n</sup>	457,9	457,2	455,9
2	457,2	467,9	463,5	458,7
3	423,1	443,2	436,8	434,5
Média	444,6 ± 18,7	456,3±12,4	452,5±14,0	449,5 ± 13,2

<sup>n</sup> média de 4 repetições, para cada fêmea

**Tabela 5.** Malformações (%) de larvas de *Leporinus elongatus*, provenientes de ovos hidratados com diferentes soluções de triiodotironina, durante o processo de fertilização, em diferentes idades (h)

T <sub>3</sub> (ppm)	Malformação (%)								
	Larvas da fêmea 1			Larvas da fêmea 2			Larvas da fêmea 3		
	0h*	12h	24h	0h*	12h	24h	0h*	12h	24h
Controle	33,0 <sup>n</sup>	11,5	9,0	38,5	47,06	23,2	48,5	5,4	2,2
0,01	25,0	13,1	5,0	53,0	56,09	21,2	54,1	5,0	2,0
0,05	25,0	15,4	22,1	46,0	45,65	10,2	33,3	4,8	11,4
0,1	31,0	16,7	11,7	58,2	74,00	36,1	50,0	10,6	1,0

\* horas após eclosão

<sup>n</sup> média de 4 repetições, para cada fêmea

**Tabela 6.** Comprimento total de larvas de *Leporinus elongatus*, provenientes de ovos hidratados com diferentes soluções de triiodotironina, durante o processo de fertilização, em diferentes idades (h)

T <sub>3</sub> (ppm)	Comprimento total das larvas (mm)								
	Fêmea 1			Fêmea 2			Fêmea 3		
	0h	12h	24h	0h	12h	24h	0h	12h	24h
Controle	2,6 ± 0,1 <sup>n</sup>	3,3 ± 0,1	3,7±0,1	2,4±0,0	3,0±0,1	3,6±0,1	2,6±0,1	3,2±0,1	3,6±0,1
0,01	2,6 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,8±0,1	2,5±0,1	3,1±0,1	3,5±0,2	2,7±0,1	3,2±0,1	3,6±0,1
0,05	2,6 ± 0,1	3,1 ± 0,1	3,6±0,2	2,5±0,1	3,1±0,1	3,5±0,1	2,7±0,1	3,3±0,1	3,6±0,1
0,1	2,6 ± 0,1	3,3 ± 0,1	3,6±0,1	2,5±0,1	3,0±0,1	3,5±0,1	2,7±0,1	3,1±0,1	3,7±0,1

<sup>n</sup> média de 4 repetições, para cada fêmea

**Tabela 7.** Volume ( $\mu\text{l}$ ) do saco vitelínico de larvas de *Leporinus elongatus*, provenientes de ovos hidratados com diferentes soluções de triiodotironina, durante o processo de fertilização, em diferentes idades (h).

$T_3$ (ppm)	Volume do saco vitelínico ( $\mu\text{l}$ )								
	Larvas da fêmea 1			Larvas da fêmea 2			Larvas da fêmea 3		
	0h	12h	24h	0h	12h	24h	0h	12h	24h
Controle	157,0 $\pm$ 10,1 <sup>n</sup>	115,8 $\pm$ 5,7	99,2 $\pm$ 6,4	155,3 $\pm$ 17,2	110,5 $\pm$ 11,7	96,9 $\pm$ 11,0	314,1 $\pm$ 21,2	121,2 $\pm$ 12,2	97,4 $\pm$ 6,8
0,01	158,3 $\pm$ 10,9	97,6 $\pm$ 10,0	90,8 $\pm$ 7,3	161,9 $\pm$ 14,5	108,6 $\pm$ 7,3	94,1 $\pm$ 9,6	330,0 $\pm$ 24,0	117,9 $\pm$ 12,6	89,5 $\pm$ 7,7
0,05	146,4 $\pm$ 11,4	109,3 $\pm$ 5,7	89,5 $\pm$ 6,9	193,1 $\pm$ 8,7	108,6 $\pm$ 7,3	96,6 $\pm$ 10,8	297,4 $\pm$ 12,7	101,8 $\pm$ 12,0	86,2 $\pm$ 9,3
0,1	153,3 $\pm$ 14,2	111,7 $\pm$ 5,3	92,3 $\pm$ 9,4	155,9 $\pm$ 9,5	116,7 $\pm$ 6,5	94,3 $\pm$ 7,7	304,6 $\pm$ 20,5	114,3 $\pm$ 12,3	104,0 $\pm$ 10,7

<sup>n</sup> média de 4 repetições, para cada fêmea+

