



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Influência da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência dos juvenis
diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aqüicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

Professor orientador: Evoy Zaniboni Filho, Dr.

LUCIANO AUGUSTO WEISS

Florianópolis – SC
2007

Weiss, Luciano Augusto

Influência da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência dos juvenis diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) – Florianópolis / 2007.

45f. grafs., tabs.

Professor orientador: Evoy Zaniboni Filho, Dr.

Dissertação de Mestrado em Aqüicultura, Programa de Pós-graduação em Aqüicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

1. Ploidia; 2. Amônia; 3. Oxigênio dissolvido; 4. CL50; 5. Sobrevivência.

Influência da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência dos juvenis diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824).

Por

LUCIANO AUGUSTO WEISS

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Evoy Zaniboni Filho - *Orientador*

Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez

Dr. Bernardo Baldisserotto

Aos meus pais...

Não há nada de nobre em sermos superiores aos outros.

A verdadeira nobreza consiste em sermos superiores ao que éramos antes.

(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por permitir a conclusão de mais uma etapa importante da minha vida.

À Fillipa, minha vovó iluminada e adorada, por sua imprescindível ajuda e pelos seus preciosos ensinamentos para o verdadeiro entendimento da vida.

À minha querida companheira Fabiana pela sua compreensão, incentivo e, principalmente, pelo seu amor.

Ao Programa de Pós-graduação em Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Carina (UFSC), que através do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD) possibilitou a adequada execução do trabalho.

Ao professor Evoy Zaniboni Filho, além da sua amizade, por aceitar me orientar e pela sua confiança na execução e escrita do trabalho.

Ao pessoal do LAPAD, em especial ao Marcos Weingartner e à Cláudia Machado pela essencial ajuda e paciência durante a preparação e execução do trabalho, assim como aos estagiários das análises de qualidade da água Lucas Marques da Cunha, Tiê Ferreira e Maurício Schard Jr.

Aos que não estão citados aqui e que de alguma forma contribuíram na execução e conclusão do trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. O jundiá <i>Rhamdia quelen</i>	13
1.2. Manipulação cromossômica em peixes.....	14
1.3. Importância da amônia e do oxigênio dissolvido na piscicultura.....	15
1.4. Testes de toxicidade em peixes.....	16
2. OBJETIVOS DO ESTUDO.....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4. PRIMEIRO ARTIGO REFERENTE AO EXPERIMENTO “DETERMINAÇÃO SEPARADA E SIMULTÂNEA DA CL50 DE AMÔNIA PARA JUVENIS DIPLÓIDES E TRIPLÓIDES DE JUNDIÁ <i>Rhamdia quelen</i> ”.....	20
Resumo.....	20
Abstract.....	21
Introdução.....	22
Material e métodos.....	22
Resultados e discussão.....	24
Referências bibliográficas.....	27
5. SEGUNDO ARTIGO REFERENTE AO EXPERIMENTO “DETERMINAÇÃO SEPARADA E SIMULTÂNEA DA CL50 DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO PARA JUVENIS DIPLÓIDES E TRIPLÓIDES DE JUNDIÁ <i>Rhamdia quelen</i> ”.....	30
Resumo.....	30
Abstract.....	31
Introdução.....	32
Material e métodos.....	33
Resultados e discussão.....	34
Referências bibliográficas.....	37
6. CONCLUSÃO GERAL.....	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	41

LISTA DE TABELAS

ANÁLISE DA SOBREVIVÊNCIA DOS JUVENIS DIPLÓIDES E TRIPLÓIDES DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824), EXPOSTOS EM DIFERENTES NÍVEIS DE AMÔNIA

- Tabela 1.** Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água dos diferentes tratamentos para cada ploidia de jundiá..... 24
- Tabela 2.** Valores das CL50 (média \pm desvio padrão) para diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen*, a cada 24 horas de exposição nos quatro níveis de NH₃ e com seus respectivos limites de confiança (95%)..... 27

AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DOS JUVENIS DIPLÓIDES E TRIPLÓIDES DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824), EXPOSTOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO

- Tabela 1.** Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água dos diferentes tratamentos para cada ploidia de jundiá..... 34
- Tabela 2.** Valores das CL50 (média \pm desvio padrão) para diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen*, a cada 24 horas de exposição nos quatro níveis de OD e com seus respectivos limites de confiança (95%)..... 37

LISTA DE FIGURAS

ANÁLISE DA SOBREVIVÊNCIA DOS JUVENIS DIPLÓIDES E TRIPLÓIDES DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824), EXPOSTOS EM DIFERENTES NÍVEIS DE AMÔNIA

- Figura 1.** Porcentagem da mortalidade média acumulada dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* expostos a distintas concentrações de amônia por 96 horas. Acima das barras uma representação gráfica, no sentido horário, da mortalidade média acumulada (%) de cada tratamento em intervalos de 24 horas de exposição..... 25
- Figura 2.** Porcentagem da mortalidade média total dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* ao longo do período de exposição. Acima das barras uma representação gráfica, no sentido horário, da influência de cada tratamento na mortalidade média total (%) de cada ploidia no decorrer do período experimental..... 26

AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DOS JUVENIS DIPLÓIDES E TRIPLÓIDES DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824), EXPOSTOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO

- Figura 1.** Porcentagem da mortalidade média acumulada dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* expostos a distintos níveis de OD por 96 horas. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$). Acima das barras uma representação gráfica, no sentido horário, da mortalidade média acumulada (%) de cada tratamento em intervalos de 24 horas de exposição..... 35
- Figura 2.** Porcentagem da mortalidade média total dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* ao longo do período de exposição nos diferentes níveis testados de OD. Acima das barras um esquema representativo, no sentido horário, da influência de cada tratamento na mortalidade média total de cada ploidia no decorrer do período experimental..... 36

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

%	→	Porcentagem
‰	→	Partes por mil
°C	→	Graus centígrados
°h	→	Grau hora
AgNO ₃	→	Nitrato de prata
CaCO ₃	→	Carbonato de cálcio
CL50	→	Concentração letal que mata pelo menos 50% dos indivíduos
cm	→	Centímetros
cv	→	Unidade de potência (cavalo-vapor)
EPC	→	Extrato de pituitária da carpa
g	→	Gramas
kg	→	Quilograma
LAPAD	→	Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce
mg kg ⁻¹	→	Miligrama por quilo
mg L ⁻¹	→	Miligrama por litro
NaHCO ₃	→	Bicarbonato de sódio
NH ₃	→	Amônia não ionizada
NH ₄ ⁺	→	Amônia ionizada
NH ₄ Cl	→	Cloreto de amônio
O ₂	→	Oxigênio
OD	→	Oxigênio dissolvido
pH	→	Potencial hidrogeniônico de uma solução aquosa
psi	→	Unidade de pressão (Pound-force per square inch)
SC	→	Santa Catarina
UFSC	→	Universidade Federal de Santa Catarina
W	→	Watt

RESUMO

O jundiá *Rhamdia quelen* possui grande potencial zootécnico para a piscicultura de água doce brasileira, entretanto apresenta entraves como a maturação precoce e o crescimento heterogêneo. Para eliminar a maturação das gônadas e potencialmente melhorar outras características zootécnicas, a manipulação cromossômica através da triploidia se tornou uma ferramenta bastante difundida na piscicultura. Porém, existem diferenças fisiológicas e comportamentais entre peixes com diferentes ploidias. O objetivo deste estudo é estabelecer uma análise comparativa da sobrevivência de jundiás diplóides e triplóides submetidos a diferentes níveis de amônia e oxigênio dissolvido (OD). O estudo foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), onde foram realizados dois experimentos: 1) Determinação separada e simultânea da CL50 de amônia para diplóides e triplóides de jundiá; 2) Determinação separada e simultânea da CL50 de OD para diplóides e triplóides de jundiá. No teste de tolerância à amônia as CL50 para os diplóides variaram de 2,99 a 1,91mg L⁻¹ NH₃ e para os triplóides de 2,39 a 1,91mg L⁻¹ NH₃, em 96h. Estes resultados sugerem que inicialmente os triplóides são mais sensíveis à exposição em amônia, porém com o passar do tempo de exposição, apresentam tolerância semelhante. Já no teste de tolerância ao oxigênio dissolvido a CL50-96h dos diplóides de jundiá foi 0,54mg L⁻¹ OD, enquanto o valor obtido para os triplóides foi 6% maior, evidenciando uma sensibilidade discretamente superior dos triplóides a baixas concentrações de oxigênio dissolvido.

Palavras-chave: Ploidia, Amônia, Oxigênio dissolvido, CL50-96h.

ABSTRACT

Jundiá *Rhamdia quelen* show great potential for inland aquaculture, but early maturation and heterogeneous growth are some of the drawbacks still to be solved. Chromosome manipulation via triploidy has become a widely used tool in aquaculture to eliminate gonad maturation and enhance other zoo technical characteristics. Studies have demonstrated that there are physiological and behavioral differences between fish of different ploidies. The objective of this study was to compare the survival of diploid and triploid jundiá catfish under different values of ammonia and dissolved oxygen (DO). Two 96-hours experiments were carried out at the Laboratory of Biology and Culture of Freshwater Fish (LAPAD): 1) Separate and simultaneous determination of ammonia LC50 for diploid and triploid jundiá; 2) Separate and simultaneous determination of DO LC50 for juvenile diploid and triploid jundiá. In the ammonia tolerance test LC50 for diploid fish vary between 2.99 and 1.91mg L⁻¹ NH₃ and for triploid fish between 2.39 and 1.91mg L⁻¹ NH₃, in 96h. The results suggest that, initially, triploid fish are more sensitive to exposure to ammonia, but as exposure continues, tolerance is similar and cumulative mortality after 96 h is the same as diploids. In the dissolved oxygen test, diploid jundiá LC50-96h was of 0.54mg L⁻¹ DO and for triploids it was 6% higher, demonstrating that triploid jundiá are slightly more sensitivity to low oxygen concentration than diploids.

Keywords: Ploidy, Ammonia, Dissolved oxygen, LC50-96h.

1. INTRODUÇÃO

1.1. O jundiá *Rhamdia quelen*

A piscicultura de água doce está em crescente desenvolvimento no Brasil, podendo contar com uma grande diversidade de peixes nativos que podem se tornar a chave para o sucesso da atividade. No entanto, atualmente as espécies de peixes mais cultivadas nacionalmente são as espécies exóticas, como as carpas (*Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Ctenopharyngodon idella* e *Aristichthys nobilis*) e a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Borghetti *et al.* 2003). Visando mudar este quadro, e considerando que as espécies nativas são mais bem adaptadas às condições locais, estudos vêm demonstrando o grande potencial zootécnico de algumas espécies nativas para a piscicultura nacional, dentre as quais se destaca para a região sul o jundiá *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) (Fracalossi *et al.* 2004).

Com ampla distribuição geográfica, o jundiá pode ser encontrado desde a região central da Argentina até a parte sul do México (Silfvergrip 1996). No ambiente natural o jundiá apresenta hábito noturno, sendo normalmente encontrado em águas lênticas e profundas dos rios (Gomes *et al.* 2000). Esta espécie vem chamando a atenção dos piscicultores da região sul do Brasil, dentre outras características, por ser uma espécie onívora (Meurer & Zaniboni-Filho 1997), pela sua boa resistência ao manejo e com crescimento satisfatório mesmo em temperaturas baixas (Carneiro *et al.* 2002, Fracalossi *et al.* 2004), e por apresentar ótima aceitação pelo mercado consumidor, apresentando carne com ausência de espinhas intramusculares (Marchioro & Baldisserotto 1999, Barcellos *et al.* 2001).

O crescimento do cultivo da espécie no sul do Brasil também se explica devido à reprodução induzida apresentar bons resultados com altas taxas de fecundação. Em condições artificiais ocorre um crescimento larval inicial destacável, atingindo 5cm em trinta dias de larvicultura (Gomes *et al.* 2000). As larvas e juvenis de jundiá apresentam certa aversão à ambientes claros, com melhor desenvolvimento em ambientes mais escuros (Piaia *et al.* 1999). O melhor desempenho das larvas de jundiá ocorre com pH entre 8,0 e 8,5 (Lopes *et al.* 2001) e dureza entre 30 e 70mg L⁻¹ CaCO₃ (Townsend *et al.* 2003), embora apresente sobrevivência semelhante quando expostos por 96h a pH entre 4,0 e 9,5 e dureza de até 600mg L⁻¹ CaCO₃ (Townsend *et al.* 2001).

No ano de 2000 foram produzidas 2546 toneladas de jundiá no Brasil, correspondendo a 1,4% do total produzido pela piscicultura brasileira (Borghetti *et al.* 2003). Segundo Meyer & Fracalossi (2004), a produção de jundiá ainda é destinada ao comércio local e a pesca esportiva, sendo realizada normalmente em sistemas de policultivos. Entretanto, Barcellos *et al.* (2004), quando realizaram um estudo visando desenvolver tecnologia para cultivar intensivamente jundiá em tanque rede, obtiveram resultados interessantes e promissores, com crescimento de 600 a 800g em oito meses de cultivo. Quando comparado o cultivo do jundiá *Rhamdia quelen* com o bagre do canal *Ictalurus punctatus*, Souza *et al.* (2005) verificaram que o jundiá apresenta um melhor desempenho produtivo durante o período de outono–inverno na região do extremo sul do Rio Grande do Sul.

Apesar da existência de uma ampla gama de estudos visando o desenvolvimento tecnológico do cultivo de jundiá, alguns entraves ainda não foram superados, com destaque para a maturação precoce e o crescimento heterogêneo durante a engorda (Fracalossi *et al.* 2002). Quando em cultivo,

os machos apresentam um menor ganho em peso do que as fêmeas, sendo que ambos desviam energia metabólica para a produção de gametas (Fracalossi *et al.* 2004). Como existe um custo de produção associado ao fornecimento de ração, esta característica é altamente indesejável num cultivo em que a espécie atinge a maturidade gonadal antes do tamanho comercial, pois ocorre um desvio de energia da dieta consumida para a produção dos gametas em prejuízo do crescimento corporal.

1.2. Manipulação cromossômica em peixes

Em piscicultura, quando se pretende eliminar a maturação sexual, a manipulação cromossômica através da triploidia é uma ferramenta bastante difundida. Na maturação sexual dos peixes a energia e a proteína da dieta são utilizadas principalmente na síntese do tecido gonadal (Kamler 1992), e caso ocorra uma interrupção ou ausência da maturação sexual, toda a energia metabólica que seria desprendida neste evento passaria a ser utilizada no crescimento somático dos peixes (Thorgaard 1986). Peixes triploides podem ser obtidos por cruzamento interespecífico (triploidia híbrida), através do cruzamento de fêmeas tetraploides com machos diplóides (triploides interplóides) ou pela retenção do segundo corpúsculo polar em ovos recém fertilizados e submetidos a choques químicos, térmicos ou de pressão (triploidia pura).

Quando comparados aos diplóides, os peixes triploides geralmente são mais heterozigotos (Allendorf & Leary 1984, Leary *et al.* 1985), apresentam esterilidade reprodutiva em determinadas espécies (Thorgaard 1986, Tiwary *et al.* 2000, Cotter *et al.* 2000), convertem melhor o alimento (Wolters *et al.* 1982), possuem grande variedade de tecidos com células maiores, porém em número reduzido (Swarup 1959a, Small & Benfey 1987, Aliah *et al.* 1990), e apresentam uma taxa de crescimento maior (Wolters *et al.* 1982, Arai 2001).

Trabalhos vêm demonstrando eficiência na produção de lotes 100% triploides para algumas espécies de peixes, como é o caso para bagre do canal *Ictalurus punctatus* (Wolters *et al.* 1981), truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Chourrout 1984), salmão coho *Oncorhynchus kisutch* (Teskeredzic *et al.* 1993), bagre europeu *Silurus glanis* (Linhart *et al.* 2001), e o próprio jundiá *Rhamdia quelen* (Huergo & Zaniboni-Filho 2006), dentre outras. Importante salientar que a triploidia ocorre naturalmente em certas espécies de peixes selvagens e, portanto, os indivíduos triploides não devem ser considerados organismos geneticamente modificados (Fauaz *et al.* 1994, Maistro *et al.* 1994).

Para algumas espécies de peixes, também pertencentes à ordem dos Siluriformes, a triploidia garante um ganho em peso maior, uma conversão alimentar mais eficiente e a desejada esterilidade reprodutiva. Segundo Wolters *et al.* (1982), triploides de bagre do canal *Ictalurus punctatus* apresentam taxa de crescimento maior e convertem mais eficientemente o alimento do que os diplóides. Fast *et al.* (1995) trabalharam com o bagre asiático *Clarias macrocephalus* e concluíram que após oito meses a média de peso dos triploides foi superior a dos diplóides. No bagre indiano *Heteropneustes fossilis*, foi verificada uma redução do índice gonadosomático e das células germinativas nos túbulos seminíferos dos triploides, caracterizando sua esterilidade (Tiwary *et al.* 2000).

De acordo com Cotter *et al.* (2000), a triploidia potencialmente elimina as possíveis interações genéticas entre as populações cultivadas e selvagens. Desta forma, a triploidia também pode mitigar o possível impacto causado nos ecossistemas naturais pelos escapes acidentais de peixes oriundos das estações de piscicultura. Existe uma forte crítica sobre a aquicultura pelo possível impacto negativo causado através dos escapes de organismos cultivados sobre as estruturas genética e ecológica das populações naturais (Lutz 2001). Esta crítica é pertinente, uma vez que só durante uma época de cheia forte na bacia do rio Tibagi, estado do Paraná, registrou-se o escape de mais de um milhão de peixes provenientes das pisciculturas locais (Orsi & Agostinho 1999).

A mistura de genes, causada pelo intercâmbio entre espécies cultivadas em diferentes estações de piscicultura, gera uma homogeneização genética entre populações geograficamente diferentes e, desta forma, quando um peixe cultivado conseguir se reproduzir no ambiente natural pode estar comprometendo a rusticidade genética dos peixes selvagens (Skibinski 1998). Atualmente a triploidia também vem sendo utilizada na intenção de esterilizar sexualmente os peixes transgênicos, para evitar possíveis interações genéticas indesejadas (Nam *et al.* 2004).

Contudo, estudos mostram que existem diferenças fisiológicas e comportamentais dos peixes triplóides em relação aos diplóides. Para o ayu *Plecoglossus altivelis*, os triplóides apresentam menor sensibilidade ao som e a luz do que os diplóides (Aliah *et al.* 1990), porém, com relação ao consumo de oxigênio não existe diferença entre eles (Aliah *et al.* 1991). Segundo Small & Benfey (1987), para salmão coho *Oncorhynchus kisutch* e salmão do Atlântico *Salmo salar* ocorre uma mudança fisiológica e de comportamento nos triplóides. Kavumpurath & Pandian (1992) observaram que em triplóides do peixe de briga *Betta splendens* o comportamento agressivo diminuiu. Vale salientar que nada foi relatado sobre as possíveis diferenças fisiológicas e comportamentais entre diplóides e triplóides de jundiá, carecendo de informações que documentem a viabilidade do jundiá triplóide na piscicultura comercial.

1.3. Importância da amônia e do oxigênio dissolvido na piscicultura

Dentre os parâmetros de qualidade da água considerados essenciais para aquicultura, os compostos nitrogenados e o oxigênio dissolvido (OD) na água estão entre os maiores limitantes de produtividade nos sistemas de cultivo (Boyd & Watten 1989, Boyd 1990). De acordo com Person-Le Ruyet *et al.* (1997), em sistemas de cultivos com altas densidades de estocagem ocorre um acúmulo crescente de amônia e de sólidos em suspensão, seguido pelo decréscimo de OD e pH da água. Geralmente a mortalidade massiva de peixes cultivados ocorre devido à combinação sinérgica entre baixo nível de oxigênio dissolvido e alta concentração de amônia presentes na água (Krom *et al.* 1985, Serafini 2005).

Em tanques de aquicultura o OD na água provém normalmente da fotossíntese, da difusão com o ar atmosférico, da renovação de água e pelo uso de aeradores mecânicos (Arana 1997). Em água doce o oxigênio tem sua solubilidade influenciada principalmente pela pressão atmosférica e pela temperatura, onde um aumento de temperatura e/ou uma diminuição da pressão atmosférica geram uma redução na sua solubilidade (Esteves 1998). A depleção de OD na água é causada, de

forma geral, pela respiração dos organismos presentes, decomposição da matéria orgânica e perda para a atmosfera (Rantin & Marins 1984, Baldisserotto 2002).

Peixes expostos continuamente a baixas concentrações de OD (condição de hipóxia) diminuem o crescimento (Chabot & Dutil 1999, Karim *et al.* 2002, Wu 2002, Wilhelm *et al.* 2005, Maffezzolli & Nuñez 2006), apresentam prejuízos nos tecidos branquiais (Wu 2002), não consomem e não convertem o alimento tão eficientemente (Bergheim *et al.* 2006, Maffezzolli & Nuñez 2006), têm a sobrevivência prejudicada (Braun *et al.* 2006) e sua capacidade reprodutiva afetada (Karim *et al.* 2002). No entanto, algumas espécies conseguem desenvolver mecanismos e estratégias adaptativas para sobreviver em condições de hipóxia, dentre as quais se encontram as modificações comportamentais, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (Almeida-Val *et al.* 1995, Moraes *et al.* 1997, Wu 2002, Wilhelm *et al.* 2005, Braun *et al.* 2006).

A amônia é encontrada no meio aquoso nas formas ionizada (NH_4^+) e não ionizada (NH_3), sendo o principal produto nitrogenado gerado pelo metabolismo de proteínas em peixes teleósteos (Foster & Goldstein 1969). A forma NH_3 representa de 75 a 90% da excreção nitrogenada dos peixes (Handy & Poxton 1993, Dosdat *et al.* 1996), sendo excretada em quase sua totalidade (90%) através das brânquias por difusão passiva (Cameron & Heisler 1983). Conforme Baldisserotto (2002), além da excreção dos peixes, a concentração da amônia também é influenciada pela decomposição do alimento não ingerido e através da introdução de fertilizantes no preparo dos tanques de cultivo.

A forma não ionizada (NH_3) da amônia é lipossolúvel e difunde-se mais facilmente pelas membranas celulares, sendo responsável pelo efeito tóxico da amônia (Thurston *et al.* 1981). O equilíbrio do balanço entre NH_4^+ e NH_3 depende do pH, da temperatura e da composição iônica da água (Thurston *et al.* 1986, Wajsbrodt 1991). Uma concentração elevada de amônia na água dificulta a excreção dos peixes, aumentando o nível de amônia no sangue e nos tecidos, causando prejuízos fisiológicos (Arana 1997, Boyd & Tucker 1998). Diferentes tipos de estudos já foram realizados visando determinar os efeitos tóxicos causados pelos compostos nitrogenados em animais aquáticos, mostrando que as altas concentrações destes compostos diminuem o crescimento, causam danos às brânquias, reduzem o pH sanguíneo, aumentam a demanda de oxigênio, dentre outros prejuízos (Colt & Armstrong 1981).

1.4. Testes de toxicidade em peixes

Através dos testes de toxicidade é possível determinar o tempo e os níveis em que o agente tóxico é potencialmente prejudicial. Independente da toxicidade do agente presente na água, o contato com o peixe pode não produzir um efeito negativo quando a concentração é muito baixa ou o tempo de contato é insuficiente. Desta forma, concentração e tempo de exposição estão diretamente relacionados ao efeito tóxico, uma vez que altas concentrações poderão ter efeitos letais em tempos curtos de exposição, enquanto que baixas concentrações podem produzir efeitos crônicos sub-letais, ou até mesmo letais, durante longos períodos de exposição (César *et al.* 1997).

Quando um grande estresse é exercido em peixes, como níveis altos de NH_3 ou baixos de OD presente na água, e esta condição excede o limite de tolerância fisiológica dos mesmos, a taxa de sobrevivência vai diminuir drasticamente (Wedemeyer 1996). Uma forma de avaliar este efeito

tóxico de NH_3 e de OD na sobrevivência de peixes consiste em utilizar como estimativa de mortalidade o valor de CL50, que é a concentração letal responsável pela morte de pelo menos 50% dos peixes (Alpha 1992).

O valor de CL50 é obtido através dos testes de toxicidade de curta duração, normalmente de 24 a 96 horas, gerando uma faixa segura da concentração tóxica em questão que pode nortear outro teste de médio e longo prazo (Alpha 1992). A interpretação deste valor vai depender da toxicidade testada. Por exemplo, no caso do OD um valor baixo de CL50 indica uma maior resistência do peixe à falta de oxigênio, já para o caso da NH_3 um valor baixo vai indicar uma grande sensibilidade do peixe a este composto (Boyd & Tucker 1998).

Valores da CL50 de OD e de NH_3 para jundiá diplóide já foram determinados, porém não há informação para triplóides desta espécie. De acordo com Braun *et al.* (2006), a CL50-96hs de oxigênio dissolvido para juvenis diplóides de jundiá *Rhamdia quelen* é $0,52\text{mg L}^{-1}$. Conforme Miron (2004), os valores da CL50-96hs de NH_3 para diplóides de jundiá são 0,44; 1,45 e $2,09\text{mg L}^{-1}$, em pH 6,0; 7,5 e 8,2, respectivamente. Estes valores citados de CL50-96hs foram considerados para a determinação das concentrações testadas de NH_3 e OD no presente estudo, buscando avaliar possíveis diferenças de sobrevivência entre as ploidias de jundiá.

2. OBJETIVOS DO ESTUDO

2.1. Objetivo geral

Estudos demonstram que os peixes triplóides possuem células maiores, porém em menor número, principalmente no sistema nervoso central e nos órgãos sensoriais, sugerindo que estes peixes apresentam percepções e respostas ambientais diferenciadas em relação aos peixes diplóides. Uma vez que o baixo nível de oxigênio dissolvido e a alta concentração de amônia presentes na água estão entre os maiores limitantes da produtividade e causadores de mortalidade em piscicultura, este trabalho objetiva realizar uma análise comparativa do desempenho quanto à sobrevivência entre jundiás diplóides e triplóides.

2.2. Objetivo específico

Avaliar a sobrevivência dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* expostos a diferentes níveis de amônia e de oxigênio dissolvido, através da determinação das concentrações letais após 96 horas de exposição (CL50-96h).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), pertencente ao Departamento de Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. O LAPAD possui um plantel de reprodutores selvagens de jundiá capturados no alto rio Uruguai que estão estocados na fazenda Mapijú, localizada no município de Santo Amaro da Imperatriz (SC).

Exemplares selecionados do plantel de reprodutores, de acordo com os critérios de maturação das gônadas descritos por Woynarovich & Horvath (1980), foram transportadas ao LAPAD para o tratamento de indução hormonal. As fêmeas receberam duas doses ($0,5\text{mg Kg}^{-1}$ e $5,0\text{mg Kg}^{-1}$) de extrato de pituitária da carpa (EPC), em intervalo de 12 horas, e os machos receberam apenas a segunda dose. A extrusão de óvulos e espermatozóides ocorreu 234°h (grau-hora) após a aplicação da segunda dose. Os gametas foram recolhidos separadamente e posteriormente misturados, em seguida foi adicionada água para que ocorresse a fertilização.

A obtenção dos triplóides de jundiá seguiu o protocolo desenvolvido por Huergo & Zaniboni-Filho (2006). Foi aplicado choque de pressão (5000psi) nos ovos recém fertilizados, através da ação de uma prensa hidráulica sobre uma câmara de aço com volume de 800mL. Os choques foram aplicados 4 minutos após a fertilização, com duração de 5 minutos. Esse tratamento garantiu a produção de 100% de triplóides. Simultaneamente à produção dos triplóides, os óvulos para obtenção de diplóides foram fertilizados e mantidos até o final do tratamento de indução à triploidia.

Após a obtenção dos dois lotes de ovos (diplóides e triplóides) ambos foram estocados separadamente em incubadoras do tipo cilindro-cônico (56L), abastecidas por um sistema de recirculação de água. Depois do período de incubação, os dois lotes foram mantidos separados em tanques de larvicultura intensiva (1000L). Para evitar problemas de patologia, parasitismo e facilitar a primeira alimentação com náuplios de *Artemia* sp., a larvicultura foi conduzida a uma salinidade de 3‰ na água.

Antes da estocagem dos peixes para a realização dos experimentos, a triploidia foi comprovada em todos os peixes do lote triplóide através do método descrito por Phillips *et al.* (1986) com modificações (Huergo & Zaniboni-Filho 2006), onde foi quantificado o número de nucléolos (3 no caso dos triplóides) em núcleos celulares corados com nitrato de prata (AgNO_3).

Foram realizados dois experimentos com duração de quatro dias cada (96 horas): 1) Determinação separada e simultânea da CL50 de amônia para juvenis diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen*, 2) Determinação separada e simultânea da CL50 de oxigênio dissolvido para juvenis diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen*.

A seguir, estes dois experimentos serão apresentados separadamente na forma de artigo científico.

4. PRIMEIRO ARTIGO REFERENTE AO EXPERIMENTO “DETERMINAÇÃO SEPARADA E SIMULTÂNEA DA CL50 DE AMÔNIA PARA JUVENIS DIPLÓIDES E TRIPLÓIDES DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen*”

Sobrevivência dos juvenis diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824), expostos a diferentes níveis de amônia

Luciano Augusto Weiss e Evoy Zaniboni Filho

Resumo

Uma concentração elevada de amônia na água dificulta a excreção dos peixes, aumentando o nível de amônia no sangue e nos tecidos, causando prejuízos fisiológicos que podem levar a morte. O jundiá *Rhamdia quelen* é um peixe nativo sul americano com grande potencial zootécnico para a piscicultura de água doce. Contudo ainda existem entraves para seu cultivo, com destaque para a maturação sexual precoce e o crescimento heterogêneo. A manipulação cromossômica, através da triploidia, é bem difundida na piscicultura quando se pretende eliminar a maturação das gônadas e potencialmente melhorar outras características zootécnicas. Entretanto, estudos demonstram que triplóides possuem células maiores, porém em menor número, principalmente no sistema nervoso central e nos órgãos sensoriais, sugerindo que estes peixes apresentam percepções e respostas ambientais diferenciadas. Desta forma o objetivo do estudo foi avaliar a sobrevivência dos diplóides e triplóides de jundiá expostos a quatro concentrações de amônia durante quatro dias (96h), através da determinação separada e simultânea das concentrações letais (CL50). Para a obtenção das concentrações de amônia nos diferentes tratamentos foi adicionado cloreto de amônio (NH_4Cl) em água tamponada com bicarbonato de sódio (NaHCO_3). Os diplóides de $10,66 \pm 2,43\text{g}$ e $12,09 \pm 0,87\text{cm}$ (média \pm desvio padrão) foram submetidos a 0,87; 1,80; 2,72 e $3,42\text{mg L}^{-1}$ de NH_3 , em água saturada de oxigênio a $25,02^\circ\text{C}$ e pH 8,06. Em condições similares, os triplóides de $10,36 \pm 2,77\text{g}$ e $11,39 \pm 1,21\text{cm}$ foram expostos a 0,87; 1,86; 2,66 e $3,40\text{mg L}^{-1}$ NH_3 , em água também saturada de oxigênio, com $25,03^\circ\text{C}$ e pH 8,07. As CL50 para os diplóides foram de 2,99; 2,26; 2,00 e $1,91\text{mg L}^{-1}$ NH_3 e para os triplóides 2,39; 2,03; 1,96 e $1,91\text{mg L}^{-1}$ NH_3 , em 24, 48, 72 e 96h respectivamente. Os resultados indicam uma maior sensibilidade dos triplóides nas primeiras 48 horas de exposição à amônia, porém, com o passar do tempo de exposição apresentam tolerância semelhante e valor idêntico de mortalidade acumulada ao final das 96 horas.

Palavras-chave: Larvicultura, Amônia, Sobrevivência, CL50.

Survival of diploid and triploid juvenile jundiá catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) exposed to different ammonia levels

Luciano Augusto Weiss and Evoy Zaniboni Filho

Abstract

High ammonia concentration in the water impairs fish excretion due to increased ammonia concentration in the blood and tissues, which can cause physiological damage and even death. Jundiá catfish *Rhamdia quelen* is a fish species indigenous to South America with high zootechnical potential for inland aquaculture. However, some drawbacks in husbandry such as early sexual maturation and heterogeneous growth still remain. Triploidy, a chromosome manipulation is well known in aquaculture when it is aimed at eliminating gonad maturation and enhances other characteristics. Nevertheless, studies have demonstrated that triploid fish have bigger cells in smaller numbers, mainly in the central nervous system and in sensory organs, suggesting that they can perceive and respond differently to the environment. In this way, the objective of the study was to assess the survival of diploid and triploid jundiá catfish exposed to four ammonia concentrations for four days (96h), by separate and simultaneous determination of lethal concentrations (LC50). Ammonium chloride (NH_4Cl) was added in sodium carbonate (NaHCO_3) buffered water to obtain the ammonia concentrations. Diploid fish of $10.66 \pm 2.43\text{g}$ and $12.09 \pm 0.87\text{cm}$ (mean \pm standard deviation) were tested in 0.87; 1.80; 2.72 and 3.42mg L^{-1} NH_3 in oxygen saturated water at 25.02°C and pH 8.06. Similarly, triploid fish of $10.36 \pm 2.77\text{g}$ and $11.39 \pm 1.21\text{cm}$ were exposed to 0.87; 1.86; 2.66 and 3.40mg L^{-1} NH_3 in oxygen saturated water at 25.03°C and pH 8.07. LC50 for diploids were 2.99; 2.26; 2.00 and 1.91mg L^{-1} NH_3 and for triploids, 2.39; 2.03; 1.96 and 1.91mg L^{-1} NH_3 in 24, 48, 72 and 96h, respectively. Results indicate high sensitivity of triploids in the first 48h of exposure to ammonia, however, tolerance was similar and cumulative mortality was the same after 96 hours exposure.

Keywords: Larviculture, Ammonia, Survival, LC50.

Introdução

Com ampla distribuição geográfica, o jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824, Siluriformes: Heptapteridae) é um bagre que pode ser encontrado desde a região central da Argentina até a parte sul do México (Silfvergrip 1996). Esta espécie vem chamando a atenção dos piscicultores da região sul do Brasil nos últimos anos, dentre outras características, pela sua boa resistência ao manejo, crescimento satisfatório mesmo em temperaturas baixas (Carneiro *et al.* 2002, Fracalossi *et al.* 2004) e por apresentar ótima aceitação pelo mercado consumidor, devido a sua carne com ausência de espinhas intramusculares (Marchioro & Baldisserotto 1999, Barcellos *et al.* 2001). Porém, ainda existem entraves para o seu cultivo em larga escala, com destaque para a maturação precoce e crescimento heterogêneo durante a engorda (Fracalossi *et al.* 2002).

Uma prática bastante difundida em piscicultura para evitar a indesejada maturação gonadal durante o cultivo é a manipulação cromossômica através da triploidia, além de poder gerar outras vantagens zootécnicas. Em algumas espécies de peixes, também pertencentes à ordem dos Siluriformes como o jundiá, a triploidia garante um maior ganho em peso (Wolters *et al.* 1982, Fast *et al.* 1995), uma conversão alimentar mais eficiente (Wolters *et al.* 1982) e a desejada esterilidade reprodutiva (Tiwary *et al.* 2000). Peixes triplóides possuem células maiores e em menor número, principalmente no sistema nervoso central e nos órgãos sensoriais, sugerindo que estes peixes apresentam percepções, comportamento e respostas a variações ambientais distintas dos diplóides (Small & Benfey 1987, Aliah *et al.* 1990, Aliah *et al.* 1991, Kavumpurath & Pandian 1992, Benfey 1999).

A presença de uma concentração elevada de NH_3 na água acaba dificultando a excreção dos peixes, aumentando o nível de amônia no sangue e nos tecidos, causando prejuízos fisiológicos que podem causar grande mortalidade em piscicultura (Arana 1997, Boyd & Tucker 1998). O objetivo deste estudo é investigar a sobrevivência dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* expostos a diferentes níveis de NH_3 , através da determinação separada e simultânea das concentrações letais (CL50) após 24, 48, 72 e 96 horas de exposição.

Material e métodos

Local do estudo e obtenção do material biológico

O estudo foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), que está vinculado ao Departamento de Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

As larvas foram obtidas através da indução hormonal de machos e fêmeas de jundiá *Rhamdia quelen* selvagens capturados na bacia do alto rio Uruguai e que fazem parte do plantel de reprodutores do LAPAD. Os gametas de dois casais foram misturados para formação de um pool e posteriormente separados para produção de diplóides e triplóides. A obtenção dos triplóides de jundiá foi de acordo com o protocolo desenvolvido por Huergo & Zaniboni-Filho (2006), aplicando-se um choque de pressão (5000psi), com duração de cinco minutos, quatro minutos após a fertilização dos ovos.

A incubação dos ovos diplóides e triplóides ocorreu separadamente em incubadoras cilindro-cônicas. Após a eclosão as larvas foram mantidas separadas em tanques de 1000L acoplados a um sistema fechado de recirculação de água. Nesse período foram mantidas em água salinizada a 3‰ e alimentadas com náuplios de *Artemia* sp.

Foi realizada a comprovação da triploidia de todos os peixes submetidos ao choque de pressão. Para tal foi utilizado o método descrito por Phillips *et al.* (1986), com modificações (Huergo & Zaniboni-Filho 2006), que consiste na quantificação do número de nucléolos corados com nitrato de prata (AgNO_3) em núcleos celulares. O tratamento de indução à triploidia foi eficiente para produzir 100% de jundiás triplóides.

Desenho e procedimento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, onde foram testadas separada e simultaneamente quatro concentrações de amônia para cada ploidia, com três repetições por tratamento, durante quatro dias (96h). As unidades experimentais (UE) utilizadas eram retangulares, de coloração escura e continham um volume útil de 30L de água. Foram estocados 10 juvenis de jundiá por UE, sendo mantida biomassa semelhante entre as ploidias e tratamentos. Os diplóides apresentaram peso e o comprimento total (média \pm desvio padrão) de $10,66 \pm 2,43\text{g}$ e $12,09 \pm 0,87\text{cm}$ e os triplóides de $10,36 \pm 2,77\text{g}$ e $11,39 \pm 1,21\text{cm}$, respectivamente.

Os valores de amônia testados no presente estudo foram baseados nos resultados obtidos por Miron (2004), onde foi determinada a CL50-96h da amônia para juvenis diplóides de jundiá em distintos valores de pH da água ($\text{pH} = 8,2 - \text{CL50-96h} = 2,09\text{mg L}^{-1}$). Para a obtenção das concentrações de NH_3 , nos diferentes tratamentos, foram adicionados 0,04; 0,08; 0,12 e $0,16\text{g L}^{-1}$ NH_4Cl (cloreto de amônio). Os cálculos da quantidade adicionada de NH_4Cl foram realizados para pH 8 e temperatura da água em 25°C , onde 5% da amônia total manifesta-se na forma NH_3 . Antes da adição de NH_4Cl a água foi tamponada com 5g L^{-1} NaHCO_3 (bicarbonato de sódio). A temperatura da água nas UE foi mantida estável através de aquecedores Hot – 30W (SARLO Better) controlados por termostatos digitais (Full Gauge). Todas as UE possuíam aeração constante, através de pedras porosas abastecidas por um compressor radial de 7,5cv (ELAM).

Cada UE foi continuamente abastecida com água previamente tratada permitindo uma taxa de renovação de 50% do volume das UE a cada 12 horas. O oxigênio dissolvido, a temperatura, salinidade e o pH foram monitorados a cada 6 horas com o auxílio de oxímetro (YSI 55, Yellow Springs, OH, USA) e uma sonda multi-parâmetros (YSI 63, Yellow Springs, OH, USA). A cada 6 horas foi verificada e quantificada a mortalidade dos peixes nos diferentes tratamentos. A cada 24 horas foi coletada água de todas as UE e realizada uma análise laboratorial em duplicata da amônia total pelo método do indofenol (Koroleff 1975), aplicando-se a fórmula descrita por Emerson *et al.* (1975) para a obtenção da fração de NH_3 . A alcalinidade e o nitrito (ambos em duplicata) foram determinados no início e no final do experimento através de um kit volumétrico (Alfa Tecnoquímica) e pelo método descrito por Golterman *et al.* (1978), respectivamente.

Análises estatísticas empregadas

A determinação da CL50-96hs de NH₃ para diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* foi realizada pela análise de regressão de probit através do “Probit Analysis Program” desenvolvido pela U.S. Environmental Protection Agency (EPA).

Para a verificação da existência de diferenças estatísticas dos parâmetros de qualidade da água nos diferentes tratamentos, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey (P<0,05), com o auxílio do software GraphPad InStat.

Resultados e discussão

Os parâmetros de qualidade de água se mantiveram semelhantes entre os tratamentos e dentro do limite de conforto para a espécie, exceto pela amônia (Tabela 1). Apesar da pequena variação de pH (7,82 a 8,26), houve diferença entre os tratamentos, porém, não impossibilitou a comparação entre diplóides e triplóides que sempre apresentaram semelhança de condições experimentais dentro de cada tratamento. Os valores médios (\pm desvio padrão) de alcalinidade, nitrito e salinidade foram 105,00 \pm 7,07mg L⁻¹ CaCO₃; 0,001 \pm 0,001mg L⁻¹ NO₂⁻ e 0,2‰, respectivamente.

Tabela 1. Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água dos diferentes tratamentos para cada ploidia de jundiá.

Ploidia	NH ₃ (mg L ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	OD (mg L ⁻¹)
2n	0,87 \pm 0,06 a (0,76 – 0,93) n = 8	8,08 \pm 0,08 a (7,93 – 8,20) n = 48	25,01 \pm 0,13 a (24,80 – 25,20) n = 48	7,87 \pm 0,24 a (7,40 – 8,31) n = 48
3n	0,87 \pm 0,06 a (0,74 – 0,93) n = 8	8,11 \pm 0,10 ac (7,82 – 8,26) n = 48	25,04 \pm 0,08 a (24,80 – 25,20) n = 48	7,82 \pm 0,33 a (7,10 – 8,33) n = 48
2n	1,80 \pm 0,12 b (1,61 – 1,99) n = 8	8,07 \pm 0,08 a (7,86 – 8,18) n = 48	25,01 \pm 0,11 a (24,80 – 25,20) n = 48	7,90 \pm 0,26 a (7,35 – 8,44) n = 48
3n	1,86 \pm 0,11 b (1,64 – 1,99) n = 8	8,09 \pm 0,06 ac (7,92 – 8,19) n = 48	25,03 \pm 0,11 a (24,80 – 25,20) n = 48	7,93 \pm 0,21 a (7,51 – 8,27) n = 48
2n	2,72 \pm 0,16 c (2,40 – 2,88) n = 8	8,05 \pm 0,07 a (7,90 – 8,15) n = 48	25,01 \pm 0,12 a (24,80 – 25,20) n = 48	7,94 \pm 0,28 a (7,49 – 8,44) n = 48
3n	2,66 \pm 0,08 c (2,51 – 2,75) n = 8	8,06 \pm 0,08 a (7,94 – 8,16) n = 48	25,01 \pm 0,09 a (24,80 – 25,20) n = 48	8,02 \pm 0,27 a (7,54 – 8,48) n = 48
2n	3,42 \pm 0,27 d (3,13 – 3,72) n = 4	8,00 \pm 0,04 bd (7,96 – 8,10) n = 18	25,04 \pm 0,10 a (24,80 – 25,20) n = 18	7,91 \pm 0,32 a (7,51 – 8,40) n = 18
3n	3,40 \pm 0,19 d (3,18 – 3,63) n = 4	8,01 \pm 0,04 ad (7,94 – 8,08) n = 15	25,03 \pm 0,11 a (24,80 – 25,10) n = 15	7,97 \pm 0,32 a (7,70 – 8,54) n = 15

Na mesma coluna as letras minúsculas indicam diferenças estatísticas, através da ANOVA e do teste de Tukey (P>0,05). Entre parênteses estão indicados os menores e maiores valores encontrados no período experimental. O “n” representa o número de medidas realizadas para cada parâmetro durante o período experimental.

Não ocorreu mortalidade de jundiás diplóides e triplóides submetidos ao tratamento com menor concentração de NH_3 . No maior nível de NH_3 testado ocorreu mortalidade total dos triplóides após 30 horas de exposição e dos diplóides depois de 36 horas (Figura 1).

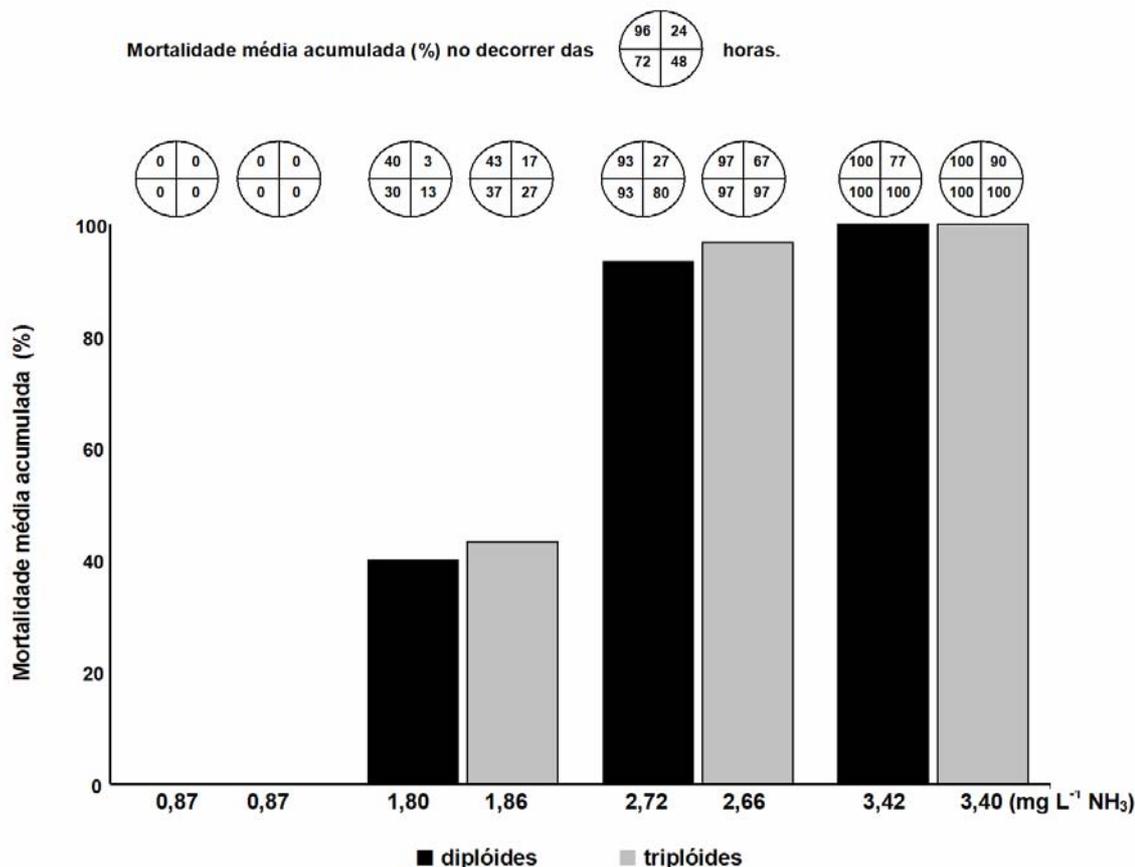


Figura 1. Porcentagem da mortalidade média acumulada dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* expostos a distintas concentrações de amônia por 96 horas. Acima das barras uma representação gráfica, no sentido horário, da mortalidade média acumulada (%) de cada tratamento em intervalos de 24 horas de exposição.

A presença de elevados níveis de NH_3 na água desencadeia uma série de reações por parte dos peixes para tentar preservar a homeostase, surgindo alterações morfológicas (Val & Almeida-Val 1995), fisiológicas e alguns reajustes moleculares (Hochachka & Somero 1984). Esta toxicidade também pode fazer com que a NH_3 substitua o potássio presente nos músculos e membranas nervosas, alterando e até mesmo inibindo o correto funcionamento destes tecidos (Raabe & Lin 1985, Cooper & Plum 1987), causando conseqüências como redução da velocidade natatória (Shingles *et al.* 2001).

Para buscar conhecer a viabilidade do uso de triplóides em piscicultura comercial é importante verificar a resistência fisiológica e imune destes indivíduos quando comparados com seus respectivos diplóides. Os diversos trabalhos comparativos da sobrevivência de diplóides e triplóides revelam que o desempenho superior de uma ploidia varia de acordo com a espécie de peixe (Kerbya *et al.* 2002).

Nas primeiras 24 e 48 horas ocorreu uma mortalidade mais acentuada dos triplóides, no entanto, aumentando o tempo de exposição, a mortalidade acumulada foi similar entre as ploidias (Figura 2). A mortalidade mais acentuada dos triplóides de jundiá nas primeiras horas de exposição a NH_3 pode ser justificada por uma resposta fisiológica mais lenta. O comportamento dos peixes é controlado e estimulado pelo sistema nervoso central e pelos hormônios. Entretanto, como nos triplóides ocorre uma diminuição do número de células no sistema nervoso central e uma redução dos níveis hormonais, estes peixes apresentam uma reação mais lenta a estímulos ambientais e também reagem de maneira diferenciada com relação aos respectivos diplóides (Benfey 1999).

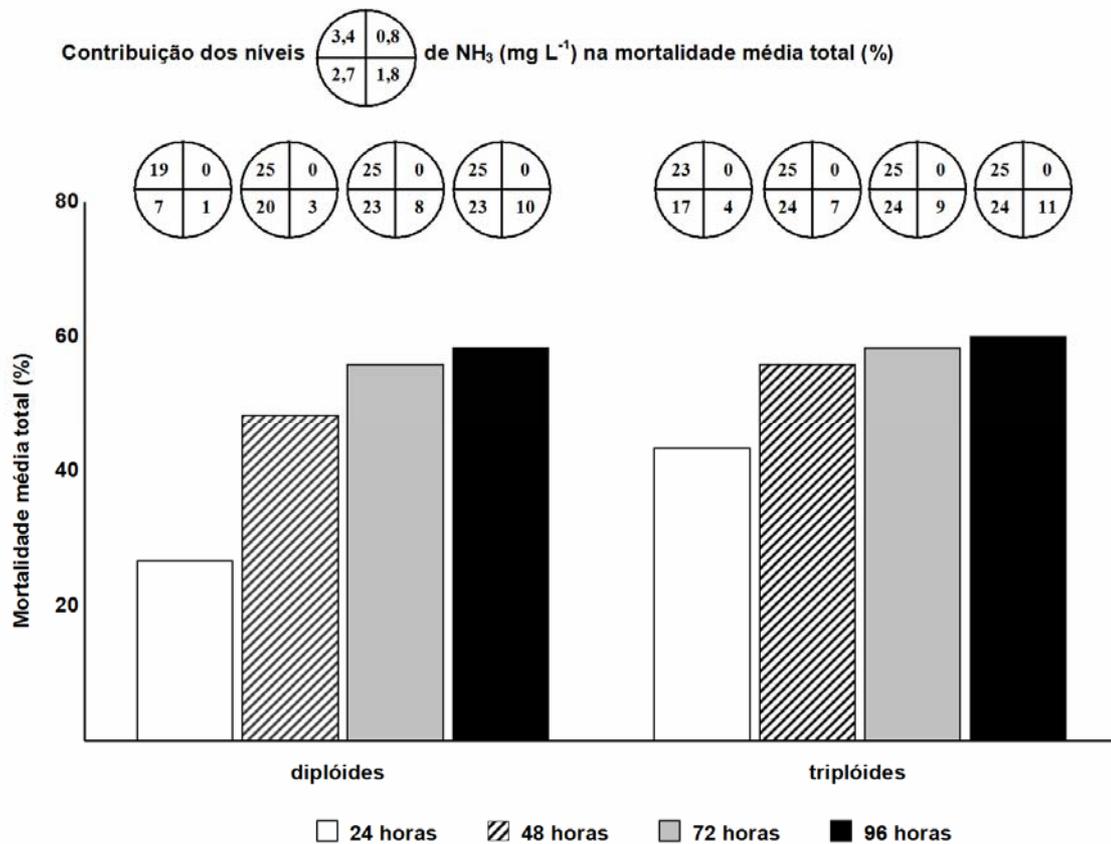


Figura 2. Porcentagem da mortalidade média total dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* ao longo do período de exposição. Acima das barras uma representação gráfica, no sentido horário, da influência de cada tratamento na mortalidade média total (%) de cada ploidia no decorrer do período experimental.

O tempo de exposição nos diferentes níveis de amônia influenciou a concentração letal, diminuindo os valores de CL50 para ambas ploidias. Nas primeiras 72 horas os valores de CL50 para os diplóides foram maiores revelando uma maior sensibilidade dos triplóides de jundiá à amônia, porém, ao final das 96 horas os valores foram similares entre as ploidias (Tabela 2). O valor da CL50-96h encontrado no presente estudo, tanto para diplóides quanto para triplóides de jundiá, foi próximo ao encontrado para diplóides de jundiá por Miron (2004).

Tabela 2. Valores das CL50 (média \pm desvio padrão) para diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen*, a cada 24 horas de exposição nos quatro níveis de NH_3 e com seus respectivos limites de confiança (95%).

Horas	jundiá diplóide			jundiá triplóide		
	CL50 ($\text{mg L}^{-1} \text{NH}_3$)	Limites de confiança (95%)		CL50 ($\text{mg L}^{-1} \text{NH}_3$)	Limites de confiança (95%)	
		Mínimo ($\text{mg L}^{-1} \text{NH}_3$)	Máximo ($\text{mg L}^{-1} \text{NH}_3$)		Mínimo ($\text{mg L}^{-1} \text{NH}_3$)	Máximo ($\text{mg L}^{-1} \text{NH}_3$)
24	2,99	2,54	3,72	2,39	1,94	2,80
48	2,26	1,91	2,58	2,03	1,77	2,36
72	2,00	1,64	2,32	1,96	1,59	2,28
96	1,91	1,42	2,23	1,91	1,39	2,21

Valores gerados pelo "Probit Analysis Program", desenvolvido pela U.S. Environmental Protection Agency (EPA).

Avaliando os valores da CL50 de amônia para diferentes espécies de Siluriformes, verifica-se uma grande variação de sensibilidade. Enquanto a CL50-24h para o bagre do canal *Ictalurus punctatus* é de $2,36 \text{mg L}^{-1}$ (Robinette 1976), o bagre africano *Clarias gariepinus* apresenta CL50-96h de $3,80 \text{mg L}^{-1}$ (Aguigwo 2003). Jundiás de ambas ploidias apresentam maior sensibilidade, com valor da CL50-96h de $1,91 \text{mg L}^{-1}$. Apesar disso, os jundiás diplóides e triplóides mostram resistência à amônia semelhante à observada para o dourado *Salminus brasiliensis* (CL50-96h = $1,83 \text{mg L}^{-1}$ - Gazzola 2003), que divide com o jundiá a mesma bacia hidrográfica do rio Uruguai.

Durante o período experimental, os triplóides apresentaram um comportamento mais passivo durante a exposição nos níveis crescentes de NH_3 . Por sua vez, os diplóides demonstraram uma maior agitação, inclusive com saltos para fora da água durante a exposição nos maiores níveis de NH_3 . Em ambas ploidias, com exceção da exposição ao menor nível de NH_3 , foi sintomática a perda de coloração, natação próxima à superfície, movimento opercular acelerado, perda do equilíbrio, convulsões e morte de alguns indivíduos. Os peixes mortos apresentaram opérculo excessivamente abertos, sugerindo uma morte por asfixia.

Diferenças comportamentais e fisiológicas entre peixes triplóides e diplóides foi registrada para salmonídeos (Small & Benfey 1987) e para outras espécies de peixes, mostrando menor sensibilidade dos triplóides de ayu *Plecoglossus altivelis* ao som e a luz (Aliah *et al.* 1990) e menor agressividade dos triplóides do peixe de briga *Betta splendens* (Kavumpurath & Pandian 1992). Os jundiás triplóides apresentaram maior sensibilidade à exposição da amônia durante as primeiras horas, indicando maior dificuldade fisiológica para atingir a homeostase, porém, decorridas 96 horas de exposição mostraram desempenho semelhante a dos jundiás diplóides.

Referências bibliográficas

- Aguigwo J.N. (2003). Acute toxicity of ammonia to the African freshwater catfish *Clarias gariepinus*. **Journal of Aquatic Sciences**, 18(1): 71-74.
- Aliah R.S., Yamaoka K., Inada Y., Taniguchi N. (1990). Effects of triploidy on tissue structure of some organs of ayu. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 56: 569-575.

Aliah R.S., Inada Y., Yamaoka K., Taniguchi N. (1991). Effects of triploidy on hematological characteristics and oxygen consumption in ayu. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 57: 833-836.

Arana L.V. (1997). **Princípios Químicos de Qualidade de Água em Aqüicultura: Uma revisão para peixes e camarões**. Editora da UFSC, Florianópolis. 166p.

Barcellos L.J.G., Wassermann G.F., Scout A.P., Whoel V.M., Quevedo R.M., Itzéz I., Krieger M.H., Lulhier F. (2001). Steroid profiles in cultured female jundiá, the Siluridae *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pisces teleostei), during the first reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**, 121: 325-332.

Benfey T.J. (1999). The physiology and behavior of triploid fishes*. **Reviews in Fisheries Science**, 7(1): 39-67.

Boyd C.E., Tucker C.S. (1998). **Pond Aquaculture Water Quality Management**. Kluwer Academic Publishers, Norwell, 700p.

Carneiro P.C.F., Bendhack F., Mikos J.D., Schorer M., Oliveira Filho P.R.C. (2002). Jundiá: um grande peixe para a Região Sul. **Panorama da Aqüicultura**, 12: 41-46.

Cooper A.J., Plum F. (1987). Biochemistry and physiology of brain ammonia. **Physiological Reviews**, 67(2): 440-519.

Emerson K., Russo R.C., Lund R.E., Thurston R.V. (1975). Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effect of pH and temperature. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, 32(12): 2379-2388.

Fast A.W., Pewnim T., Keawtabtim R., Sajjit R., Te F.T., Vejaratpimol R. (1995). Comparative growth of diploid and triploid asian catfish *Clarias macrocephalus* in Thailand. **Journal of the World Aquaculture Society**, 26: 390-395.

Fracalossi D.M., Zaniboni-Filho E., Meurer S. (2002). No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aqüicultura**, 12: 43-49.

Fracalossi D.M., Meyer G., Santamaria F.M., Weingartner M., Zaniboni-Filho E. (2004). Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum, Animal Sciences**, Maringá, 26: 345-352.

Gazzola A.C. (2003). **Efeito da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência de alevinos de dourado, *Salminus brasiliensis*** (Dissertação de Mestrado em Aqüicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

Golterman H., Clymo R.S., Ohnstad M.A.M. (1978). **Methods for physical and chemical analysis of fresh water**. Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford, 213pp.

Hochachka P.W., Sommero G. N. (1984). **Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution**. Princeton, Princeton University Press, 466p.

Huergo G.M., Zaniboni-Filho E. (2006). Triploidy induction in jundiá *Rhamdia quelen*, through hydrostatic pressure shock. **Journal of Applied Aquaculture**, 18(4): 45-57.

Kavumpurath S., Pandian T.J. (1992). Effects of induced triploidy on aggressive display in the fighting fish, *Betta splendens* Regan. **Aquaculture and Fisheries Management**, 23: 281-290.

Kerbya J.H., Eversona J.M., Harrellb R.M., Geigerc J.G., Starlingd C.C., Revelsd H. (2002). Performance comparisons between diploid and triploid sunshine bass in fresh water ponds. **Aquaculture**, 211: 91-108.

Koroleff F. (1975). **Metodologia para Determinação da Amônia**. In: Grasshoff K. Methods of seawater analysis. Verlag. Chemie. Weinheim, New York: 117-181.

- Marchioro M.I., Baldisserotto B. (1999). Sobrevivência de alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy e Gaimard 1824) à variação de salinidade da água. **Ciência Rural**, 29: 315-318.
- Miron D.S. (2004). **Efeito da amônia em diferentes níveis de pH da água na sobrevivência e no crescimento de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* (Heptateridae)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- Phillips R.B., Zajicek K.D., Ihssen P.E., Johnson O. (1986). Application of silver staining to the identification of triploid fish cells. **Aquaculture**, 54: 313-319.
- Raabe W., Lin S. (1985). Pathophysiology of ammonia intoxication. **Experimental Neurology**, 87(3): 519-532.
- Robinette H.R. (1976). Effect of selected sub lethal levels of ammonia on the growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **The Progressive Fish Culturist**, 38: 26-29.
- Shingles A., McKenzie D.J., Taylor E.W., Moretti A., Butler P.J., Ceradini S. (2001). Effects of sublethal ammonia exposure on swimming performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Experimental Biology**, 204: 2691-2698.
- Silfvergrip A.M.C. (1996). **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Tese de Doutorado – Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum Natural History, Stockholm, Sweden.
- Small S.A., Benfey T.J. (1987). Cell size in triploid salmon. **Journal of Experimental Zoology**, 241: 339-342.
- Tiway B.K., Kirubakaran R., Ray A.K. (2000). Gonadal development in triploid *Heteropneustes fossilis*. **Journal of Fish Biology**, 57: 1343-1348.
- Val A.L., Almeida-Val V.M.F. (1995). Fishes of the Amazon and their environment. **Physiological and Biochemistry Features**. Springer Verlag, Berlin, 224 pp..
- Wolters W.R., Chrisman C.L., Libey G.S. (1982). Erythrocyte nuclear measurements of diploid and triploid channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). **Journal of Fish Biology**, 20: 253-258.

5. SEGUNDO ARTIGO REFERENTE AO EXPERIMENTO “DETERMINAÇÃO SEPARADA E SIMULTÂNEA DA CL50 DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO PARA JUVENIS DIPLÓIDES E TRIPLÓIDES DE JUNDIÁ *Rhamdia quelen*”

Sobrevivência dos juvenis diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824), expostos a diferentes concentrações de oxigênio dissolvido

Luciano Augusto Weiss e Evoy Zaniboni Filho

Resumo

Níveis adequados de oxigênio dissolvido (OD) na água são necessários para garantir uma melhor produtividade em piscicultura. O limite de tolerância a baixas concentrações de OD varia bastante entre as espécies de peixes. Quando submetidos a valores abaixo desse limite os peixes ficam estressados na busca da homeostase do organismo, podendo ocorrer grande mortalidade. O jundiá *Rhamdia quelen* é um peixe nativo sul americano com grande potencial zootécnico para a piscicultura de água doce no sul do Brasil. Contudo ainda existem entraves para seu cultivo, com destaque para a maturação sexual precoce e o crescimento heterogêneo durante a engorda. A manipulação cromossômica, através da triploidia, é bem difundida na piscicultura quando se busca eliminar a maturação das gônadas e potencialmente melhorar outras características. Entretanto, quando comparados aos diplóides, peixes triplóides possuem células maiores e em menor número no sistema nervoso central e nos órgãos sensoriais, sugerindo que estes peixes apresentam percepções e respostas ambientais diferenciadas. O objetivo do estudo foi avaliar a sobrevivência dos diplóides e triplóides de jundiá, expostos em quatro concentrações de OD em triplicata durante quatro dias (96h), através da determinação separada e simultânea das concentrações letais (CL50). Peixes diplóides e triplóides com cerca de 4g de peso foram submetidos a distintas concentrações de OD variando entre 0,4 e 1,3mg L⁻¹ de OD, mantendo a água a 27°C e pH de 6,3. A CL50-96h dos diplóides de jundiá foi 0,535mg L⁻¹ OD, enquanto o valor obtido para os triplóides foi 6% maior.

Palavras-chave: Poliploidia, Oxigênio dissolvido, Sobrevivência, CL50.

Survival of diploid and triploid juvenile jundiá catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) exposed to different concentrations of dissolved oxygen

Luciano Augusto Weiss and Evoy Zaniboni Filho

Abstract

Adequate dissolved oxygen (DO) levels in the water are required for best productivity in fish aquaculture. Resistance to low DO concentration varies among fish species. When submitted to minimum concentrations fish become stressed searching for homeostasis and great mortality can occur. Jundiá catfish *Rhamdia quelen* is a fish indigenous to South America with great zoo technical potential for inland aquaculture in Southern Brazil. However, drawbacks such as early sexual maturation and heterogeneous growth still remain during grow out. Chromosome manipulation via triploidy is well known in fish aquaculture to eliminate gonad maturation and enhance other characteristics. But when compared to diploid fish, triploids have bigger cells in small number in the central nervous system and sensory organs, suggesting that they present different environmental perceptions and responses. The objective of this study was to assess the survival of diploid and triploid jundiá catfish exposed to four DO concentrations in triplicate during four days (96h) by separate and simultaneous determination of the lethal concentrations (LC50). 4-g diploid and triploid fish were submitted to DO concentrations varying between 0.4 and 1.3mg L⁻¹ DO, at water temperature of 27°C and pH of 6.3. Diploid jundiá LC50-96h was of 0.535mg L⁻¹ DO, whereas it was 6% higher for triploids.

Keywords: Polyploidy, Dissolved oxygen, Survival, LC50.

Introdução

Dentre os parâmetros de qualidade da água, o oxigênio dissolvido (OD) na água é considerado um dos maiores limitantes de produtividade nos sistemas de cultivo (Boyd & Watten 1989, Boyd 1990). Peixes expostos continuamente a baixas concentrações de oxigênio (condição de hipóxia) diminuem o crescimento (Chabot & Dutil 1999, Karim *et al.* 2002, Wu 2002, Wilhelm *et al.* 2005, Maffezzoli & Nuñez 2006), apresentam prejuízos nos tecidos branquiais (Wu 2002), não consomem e não convertem o alimento tão eficientemente (Bergheim *et al.* 2006, Maffezzoli & Nuñez 2006), têm a sobrevivência influenciada (Braun *et al.* 2006) e sua capacidade reprodutiva afetada (Karim *et al.* 2002).

Baixas concentrações de OD induzem a uma maior utilização da via metabólica anaeróbica (Cooper 2002, Wu 2002), podendo gerar alguns efeitos tóxicos sobre o organismo do peixe. Essa condição, além de causar estresse, pode provocar aumento da mortalidade (Madenjian *et al.*, 1987). A determinação da concentração letal responsável pela morte de pelo menos 50% dos peixes (CL50) é utilizada como estimativa de mortalidade em testes de curta duração, gerando uma faixa segura desta concentração tóxica para outros testes de médio e longo prazo (Alpha 1992).

Com ampla distribuição geográfica, o jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824, Siluriformes: Heptapteridae) é um bagre que pode ser encontrado desde a região central da Argentina até a parte sul do México (Silfvergrip 1996). No ambiente natural apresenta hábito noturno e é encontrado em locais lânticos e profundos dos rios, sugerindo suportar amplas flutuações de OD (Gomes *et al.*, 2000). Esta espécie vem atraindo piscicultores da região sul do Brasil nos últimos anos, dentre outras características, pela sua boa resistência ao manejo com crescimento satisfatório mesmo em temperaturas baixas (Carneiro *et al.* 2002, Fracalossi *et al.* 2004) e por apresentar ótima aceitação pelo mercado consumidor (Marchioro & Baldisserotto 1999, Barcellos *et al.* 2001).

Porém, ainda existem entraves para o cultivo em larga escala de jundiá, com destaque para a maturação precoce e seu crescimento heterogêneo durante a engorda (Fracalossi *et al.* 2002). Quando cultivados, os machos apresentam um menor ganho em peso do que as fêmeas, sendo que ambos desviam energia metabólica para a produção de seus gametas (Fracalossi *et al.* 2004). A manipulação cromossômica através da triploidia vem sendo utilizada para eliminar a maturação sexual, podendo ainda gerar outras vantagens zootécnicas. Em algumas espécies de Siluriformes a triploidia garante um ganho em peso maior (Wolters *et al.* 1982, Fast *et al.* 1995), uma conversão alimentar mais eficiente (Wolters *et al.* 1982) e a desejada esterilidade reprodutiva (Tiway *et al.* 2000).

Peixes triplóides possuem células maiores e em menor número, principalmente no sistema nervoso central e nos órgãos sensoriais, sugerindo que estes peixes apresentam percepções, comportamento e respostas a variações ambientais distintas dos diplóides (Small & Benfey 1987, Aliah *et al.* 1990, Aliah *et al.* 1991, Kavumpurath & Pandian 1992, Benfey 1999). O objetivo deste estudo foi investigar a sobrevivência dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* expostos a diferentes níveis de OD, através da determinação separada e simultânea das concentrações letais (CL50) em 24, 48, 72 e 96 horas de exposição.

Material e métodos

Local do estudo e obtenção do material biológico

O estudo foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), que está vinculado ao Departamento de Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

As larvas foram obtidas através da indução hormonal de machos e fêmeas de jundiá *Rhamdia quelen* selvagens capturados na bacia do alto rio Uruguai e que fazem parte do plantel de reprodutores do LAPAD. Os gametas de dois casais foram misturados para formação de um pool e posteriormente separados para produção de diplóides e triplóides.

A obtenção dos triplóides de jundiá foi de acordo com o protocolo desenvolvido por Huergo & Zaniboni-Filho (2006), aplicando-se um choque de pressão (5000psi), com duração de cinco minutos, quatro minutos após a fertilização dos ovos. A incubação dos ovos diplóides e triplóides ocorreu separadamente em incubadoras cilindro-cônicas. Após a eclosão as larvas foram mantidas separadas em tanques de 1000L acoplados a um sistema fechado de recirculação de água. Nesse período foram mantidas em água salinizada a 3‰ e alimentadas com náuplios de *Artemia* sp.

Foi realizada a comprovação da triploidia de todos os peixes submetidos ao choque de pressão. Para tal foi utilizado o método descrito por Phillips *et al.* (1986), com modificações (Huergo & Zaniboni-Filho 2006), que consiste na quantificação do número de nucléolos corados com nitrato de prata (AgNO_3) em núcleos celulares. O tratamento de indução à triploidia foi eficiente para produzir 100% de jundiás triplóides.

Desenho e procedimento experimental

O delineamento experimental foi realizado inteiramente ao acaso, para expor separada e simultaneamente cada ploidia a quatro concentrações de OD (0,4; 0,7; 1,0 e 1,3mg L⁻¹ de OD), com três repetições para cada tratamento, durante quatro dias (96h). As unidades experimentais (UE) utilizadas eram retangulares, de coloração escura e continham um volume útil de 30L de água. Foram estocados 10 juvenis diplóides, 3,91 ± 0,98g e 9,55 ± 0,78cm (média ± desvio padrão), por UE, buscando manter biomassa semelhante. Procedimento idêntico foi realizado nas UE estocadas com juvenis triplóides (4,28 ± 1,27g e 9,50 ± 0,92cm).

As concentrações de OD usadas foram baseadas no estudo realizado por Braun *et al.* (2006), que determinou a CL50-96hs de OD para juvenis diplóides de jundiá. Na execução do experimento foi utilizado um sistema estático sem renovação de água. Para manter as concentrações desejadas de OD, as UE receberam abastecimento de ar atmosférico e/ou de nitrogênio gasoso por meio de pedras porosas. Cada unidade experimental estava vedada por um plástico em contato com toda a superfície da água, evitando a troca gasosa com o ar atmosférico.

A alcalinidade, a amônia não ionizada (NH_3) e o nitrito foram determinados, em duplicata, no início e no final do experimento, através de um kit volumétrico (Alfa Tecnoquímica), pelo método do indofenol (Koroleff 1975) e pelo método descrito por Golterman *et al.* (1978), respectivamente. O oxigênio dissolvido e a temperatura foram monitorados a cada quatro horas com o auxílio de um

oxímetro (YSI 55, Yellow Springs, OH, USA). O pH foi medido a cada oito horas por meio de um pHmetro (YSI 60, Yellow Springs, OH, USA). A mortalidade dos peixes foi quantificada a cada quatro horas.

Análises estatísticas empregadas

A determinação da CL50-96hs de OD para ambas ploidias foi realizada pela análise de regressão de probit através do “Probit Analysis Program” desenvolvido pela U.S. Environmental Protection Agency (EPA).

Para a verificação da existência de diferenças estatísticas dos parâmetros de qualidade da água e mortalidade nos diferentes tratamentos, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), com o auxílio do software GraphPad InStat.

Resultados e discussão

Os parâmetros de qualidade de água se mantiveram semelhantes entre os tratamentos e dentro do limite de conforto para a espécie, exceto pelo OD (Tabela 1). A alcalinidade registrada foi de $27,50 \pm 2,89 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ (média \pm desvio padrão).

Tabela 1. Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água dos diferentes tratamentos para cada ploidia de jundiá.

Ploidia	OD (mg L⁻¹)	Temperatura (°C)	pH	NH₃ (mg L⁻¹)	NO₂⁻ (mg L⁻¹)
2n	0,44 \pm 0,04 a (0,34 – 0,49) n = 75	27,02 \pm 0,07 a (26,77 – 27,17) n = 75	6,40 \pm 0,06 a (6,35 – 6,49) n = 36	0,015 \pm 0,015 a (0,002 – 0,029) n = 4	0,079 \pm 0,089 a (0,001 – 0,156) n = 4
3n	0,44 \pm 0,04 a (0,36 – 0,49) n = 75	27,05 \pm 0,04 a (26,97 – 27,13) n = 75	6,38 \pm 0,07 a (6,30 – 6,46) n = 36	0,014 \pm 0,014 a (0,002 – 0,027) n = 4	0,079 \pm 0,089 a (0,001 – 0,156) n = 4
2n	0,70 \pm 0,05 b (0,60 – 0,79) n = 75	27,04 \pm 0,07 a (26,87 – 27,20) n = 75	6,33 \pm 0,08 a (6,26 – 6,44) n = 36	0,017 \pm 0,017 a (0,002 – 0,032) n = 4	0,074 \pm 0,084 a (0,001 – 0,146) n = 4
3n	0,70 \pm 0,05 b (0,59 – 0,79) n = 75	27,01 \pm 0,06 a (26,93 – 27,20) n = 75	6,34 \pm 0,08 a (6,28 – 6,45) n = 36	0,017 \pm 0,017 a (0,002 – 0,032) n = 4	0,076 \pm 0,087 a (0,001 – 0,151) n = 4
2n	1,01 \pm 0,08 c (0,83 – 1,16) n = 75	27,01 \pm 0,07 a (26,90 – 27,20) n = 75	6,26 \pm 0,04 a (6,21 – 6,30) n = 36	0,021 \pm 0,022 a (0,002 – 0,040) n = 4	0,096 \pm 0,110 a (0,001 – 0,191) n = 4
3n	1,00 \pm 0,08 c (0,84 – 1,16) n = 75	27,03 \pm 0,05 a (26,93 – 27,20) n = 75	6,25 \pm 0,07 a (6,19 – 6,34) n = 36	0,021 \pm 0,022 a (0,002 – 0,040) n = 4	0,096 \pm 0,110 a (0,001 – 0,191) n = 4
2n	1,30 \pm 0,07 d (1,19 – 1,49) n = 75	27,05 \pm 0,06 a (26,93 – 27,20) n = 75	6,32 \pm 0,08 a (6,22 – 6,39) n = 36	0,019 \pm 0,020 a (0,002 – 0,036) n = 4	0,128 \pm 0,147 a (0,001 – 0,255) n = 4
3n	1,33 \pm 0,07 d (1,20 – 1,50) n = 75	27,01 \pm 0,07 a (26,87 – 27,15) n = 75	6,33 \pm 0,05 a (6,26 – 6,38) n = 36	0,017 \pm 0,017 a (0,002 – 0,032) n = 4	0,122 \pm 0,139 a (0,001 – 0,242) n = 4

Na mesma coluna as letras minúsculas indicam diferenças estatísticas, através da ANOVA e do teste de Tukey ($P > 0,05$). Entre parênteses estão indicados os menores e maiores valores encontrados no período experimental. O “n” representa o número de medidas realizadas para cada parâmetro durante o período experimental.

Não ocorreu mortalidade de peixes na exposição à maior concentração de OD, tanto para diplóides quanto para triplóides de jundiá. A mortalidade média acumulada foi similar entre as ploidias, com exceção do nível testado de 0,70mg L⁻¹ OD, quando os triplóides apresentaram maior sensibilidade (Figura 1).

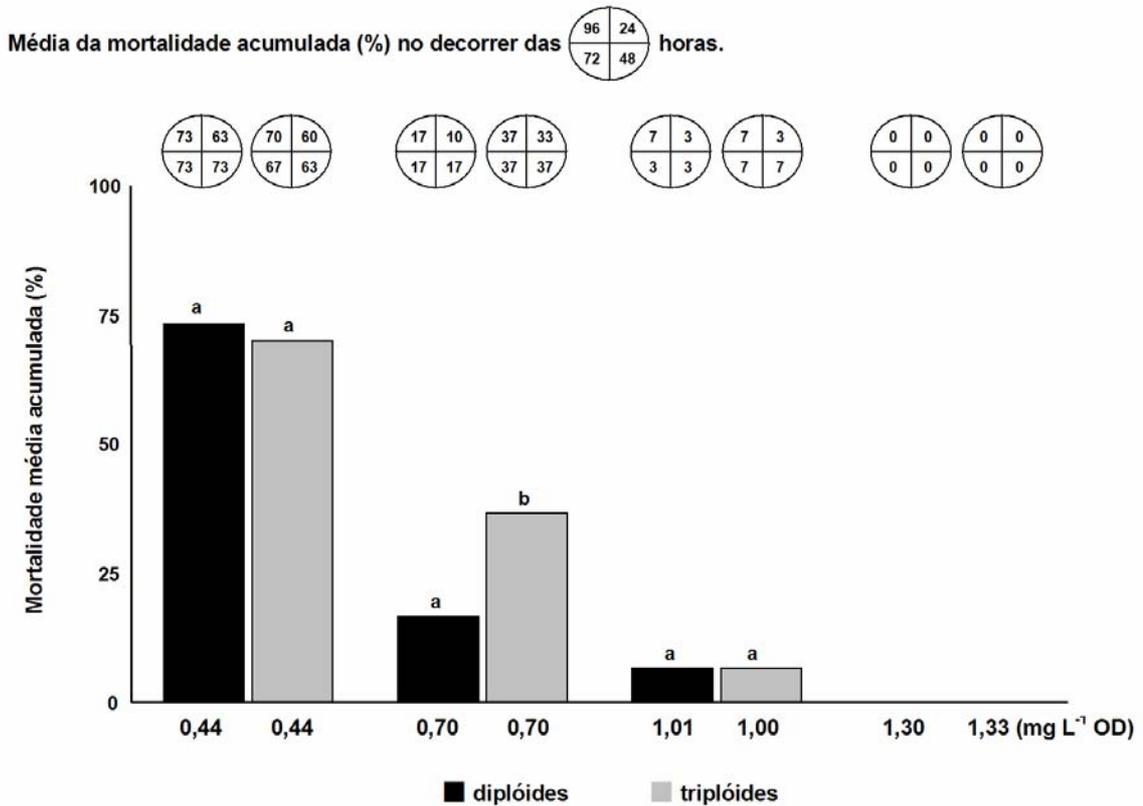


Figura 1. Porcentagem da mortalidade média acumulada dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* expostos a distintos níveis de OD por 96 horas. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$). Acima das barras uma representação gráfica, no sentido horário, da mortalidade média acumulada (%) de cada tratamento em intervalos de 24 horas de exposição.

A viabilidade do uso de triplóides na piscicultura comercial depende do resultado da análise da resistência fisiológica e imune destes indivíduos em comparação com os diplóides da espécie. Sabidamente o sistema imune é similar entre as ploidias, sendo que o menor número de leucócitos encontrados nos triplóides é compensado pelo seu maior tamanho e maior atividade celular (Budiño *et al.* 2006). Estudos comparativos que avaliam a sobrevivência de diplóides e triplóides revelam resultados conflitantes e que variam com a espécie (Kerbya *et al.* 2002).

Foi observado comportamento semelhante dos jundiás de ambas ploidias, à exceção do tratamento submetido a maior concentração de OD, foi sintomática a perda de coloração, natação próxima da superfície, movimento opercular acelerado, perda do equilíbrio, convulsões e morte de alguns peixes. Os peixes mortos apresentaram uma abertura excessiva do opérculo. Considerando a mortalidade média observada após 96 horas em todos os tratamentos, os triplóides revelaram uma mortalidade 17,2% maior que os diplóides (Figura 2).

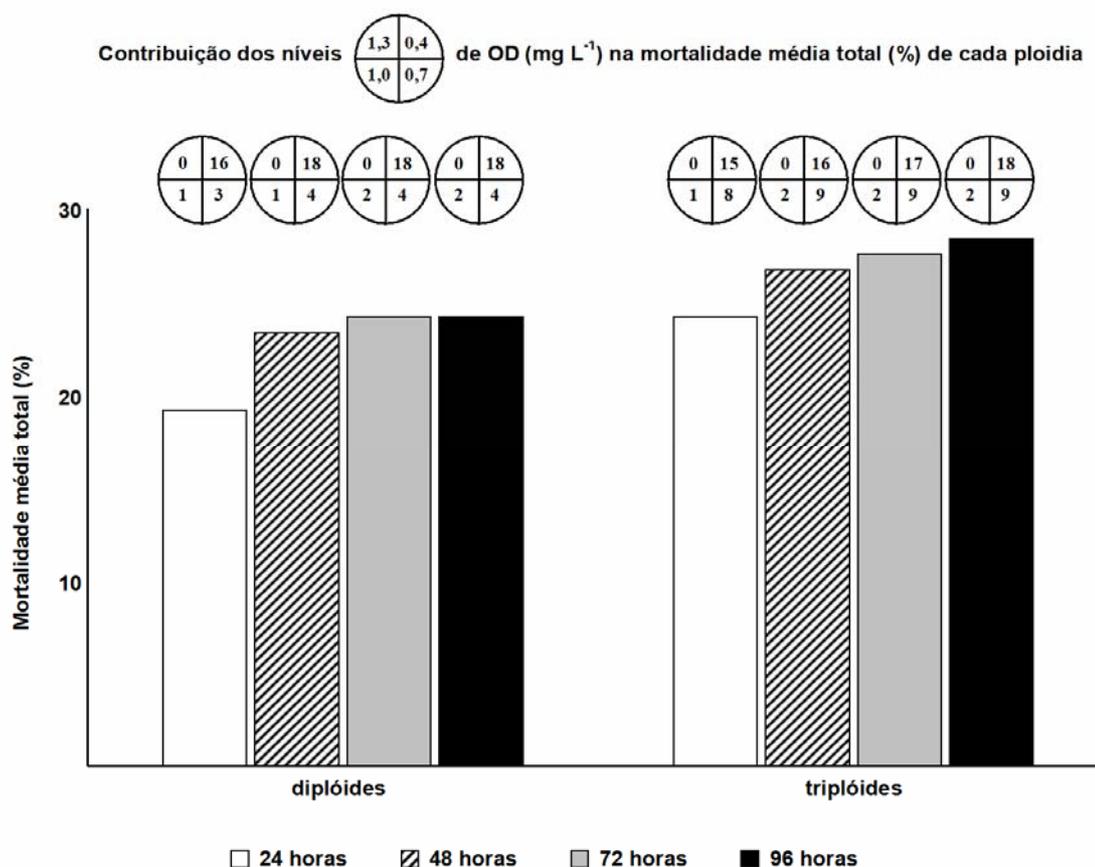


Figura 2. Porcentagem da mortalidade média total dos diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* ao longo do período de exposição nos diferentes níveis testados de OD. Acima das barras um esquema representativo, no sentido horário, da influência de cada tratamento na mortalidade média total de cada ploidia no decorrer do período experimental.

A maior mortalidade dos triplóides expostos à hipóxia pode ser resultado de uma resposta fisiológica mais lenta. O comportamento dos peixes é controlado e estimulado pelo sistema nervoso central e pelos hormônios. Os triplóides apresentam uma diminuição do número de células no sistema nervoso central e uma redução dos níveis hormonais, mostrando uma reação mais lenta a estímulos ambientais e uma reação diferenciada com relação aos diplóides (Benfey 1999).

Estas diferenças no número e tamanho das células também podem afetar o comportamento e a fisiologia dos peixes triplóides de algumas espécies, produzindo peixes menos sensíveis ao som e a luz (Aliah *et al.* 1990) e que apresentam menor agressividade (Kavumpurath & Pandian 1992).

O tempo de exposição elevou os valores de CL50 de modo semelhante para as distintas ploidias, com aumento aproximado de 10% entre o valor estimado entre 24 e 96 horas de exposição (Tabela 2). O valor da CL50-96h obtido no presente estudo para exemplares diplóides foi próximo aos $0,52 \text{ mg L}^{-1}$ OD estimado por Braun *et al.* (2006) para diplóides de jundiá.

Tabela 2. Valores das CL50 (média \pm desvio padrão) para diplóides e triplóides de jundiá *Rhamdia quelen*, a cada 24 horas de exposição nos quatro níveis de OD e com seus respectivos limites de confiança (95%).

Horas	jundiá diplóide			jundiá triplóide		
	CL50 (mg L ⁻¹ OD)	Limites de confiança (95%)		CL50 (mg L ⁻¹ OD)	Limites de confiança (95%)	
		Mínimo (mg L ⁻¹ OD)	Máximo (mg L ⁻¹ OD)		Mínimo (mg L ⁻¹ OD)	Máximo (mg L ⁻¹ OD)
24	0,485	0,299	0,594	0,516	0,265	0,655
48	0,531	0,386	0,644	0,540	0,275	0,696
72	0,535	0,366	0,658	0,554	0,326	0,707
96	0,535	0,366	0,658	0,567	0,366	0,717

Valores gerados pelo "Probit Analysis Program", desenvolvido pela U.S. Environmental Protection Agency (EPA).

A maior sensibilidade dos triplóides de jundiá a hipoxia pode estar associada ao menor número de células corporais observada em peixes triplóides. De acordo com Benfey (1999), a menor concentração de hemoglobina observada nos triplóides justifica a alteração na capacidade de transporte de oxigênio pelo organismo.

Numa análise comparativa do desempenho de peixes com diferentes ploidias, no tocante ao OD, há registros de que os triplóides apresentam uma redução na capacidade de transporte do oxigênio em salmão do Atlântico *Salmo salar* (Graham *et al.* 1985), um menor consumo de oxigênio em truta *Salvelinus fontinalis* (Stillwell & Benfey 1996) e que os triplóides de trutas arco-íris *Oncorhynchus mykiss* possuem menor capacidade aeróbica (Virtanen *et al.* 1990). Dessa forma, é maior a mortalidade de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* triplóide quando há elevação da temperatura da água e menor disponibilidade de OD (Ojolic *et al.* 1995).

Resultados distintos são registrados para outras espécies de peixes, tais como o consumo semelhante de oxigênio pela truta *Oncorhynchus masou macrostomus* (Nakamura *et al.* 1989) e pelo ayu *Plecoglossus altivelis*, embora os triplóides de *P. altivelis* tenham mostrado tendência de maior consumo (Aliah *et al.* 1990). Neste trabalho os triplóides de jundiá *Rhamdia quelen* demonstraram maior sensibilidade à exposição a baixos níveis de OD quando comparados aos respectivos diplóides.

Referências bibliográficas

- Aliah R.S., Yamaoka K., Inada Y., Taniguchi N. (1990). Effects of triploidy on tissue structure of some organs of ayu. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 56: 569–575.
- Aliah R.S., Inada Y., Yamaoka K., Taniguchi N. (1991). Effects of triploidy on hematological characteristics and oxygen consumption in ayu. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 57: 833-836.
- Alpha (1992). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 18 ed. American public health association, Washington.
- Barcellos L.J.G., Wassermann G.F., Scout A.P., Whoel V.M., Quevedo R.M., Itzéz I., Krieger M.H., Lulhier F. (2001). Steroid profiles in cultured female jundiá, the Siluridae *Rhamdia quelen* (Quoy and

- Gaimard, Pisces Teleostei), during the first reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**, 121: 325-332.
- Benfey T.J. (1999). The physiology and behavior of triploid fishes*. **Reviews in Fisheries Science**, 7(1): 39-67.
- Bergheim A., Gausen M., Naess A., Hoelland P.M., Krogedal P., Crampton V. (2006). A newly developed oxygen injection system for cage farms. **Aquacultural Engineering**, 34: 40-46.
- Boyd C.E. (1990). **Water Quality in Ponds for Aquaculture**. Auburn University, Alabama. Birmingham publishing co. Alabama. 482pp.
- Boyd C.E., Watten B.J. (1989). Aeration systems in aquaculture. **Reviews Aquatic Sciences**, 1: 425-472.
- Braun N., Lima R.L., Moraes B., Vieira V.L.P., Baldisserotto B. (2006). Survival, growth and biochemical parameters of silver catfish, *Rhamdia quelen*, juveniles exposed to different dissolved oxygen levels. **Aquaculture Research**, 37: 1524-1531.
- Budiño B., Cal R.M., Piazzon M.C., Lamas J. (2006). The activity of several components of the innate immune system in diploid and triploid turbot. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, 145: 108-113.
- Carneiro P.C.F., Bendhack F., Mikos J.D., Schorer M., Oliveira Filho P.R.C. (2002). Jundiá: um grande peixe para a região sul. **Panorama da Aqüicultura**, 12: 41-46.
- Chabot D., Dutil J. (1999). Reduced growth of Atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. **Journal of Fish Biology**, 55: 472-491.
- Cooper R.U., Clough L.M., Farwell M.A., West T.L. (2002). Hypoxia-induced metabolic and antioxidant enzymatic activities in the estuarine fish *Leiostomus xanthurus*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 279: 1-20.
- Fast A.W., Pewnim T., Keawtabtim R., Saijit R., Te F.T., Vejaratpimol R. (1995). Comparative growth of diploid and triploid asian catfish *Clarias macrocephalus* in Thailand. **Journal of the World Aquaculture Society**, 26: 390-395.
- Fracalossi D.M., Zaniboni-Filho E., Meurer S. (2002). No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aqüicultura**, 12: 43-49.
- Fracalossi D.M., Meyer G., Santamaria F.M., Weingartner M., Zaniboni-Filho E. (2004). Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum, Animal Sciences**, Maringá, 26: 345-352.
- Golterman H., Clymo R.S., Ohnstad M.A.M. (1978). **Methods for Physical and Chemical Analysis of Fresh Water**. Blackwell scientific publications Ltd. Oxford, 213pp.
- Gomes L.C. Golombieski J.I., Chippari Gomes A.R. Baldisserotto B. (2000). Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, 30(1): 179-185.
- Graham M.S., Fletcher G.L., Benfey T.J. (1985). Effect of triploidy on blood oxygen content of Atlantic salmon. **Aquaculture**, 50: 133-139.
- Huergo G.M., Zaniboni-Filho E. (2006). Triploidy induction in jundiá *Rhamdia quelen*, through hydrostatic pressure shock. **Journal of Applied Aquaculture**, 18(4): 45-57.
- Karim R., Sekine M., Ukita M. (2002). Simulation of eutrophication and associated occurrence of hypoxic and anoxic condition in a coastal bay in Japan. **Marine Pollution Bulletin**, 45: 280-285.
- Kavumpurath S., Pandian T.J. (1992). Effects of induced triploidy on aggressive display in the fighting fish, *Betta splendens* Regan. **Aquaculture and Fisheries Management**, 23: 281-290.

Kerby J.H., Everson J.M., Harrell R.M., Geiger J.G., Starling C.C., Revels H. (2002). Performance comparisons between diploid and triploid sunshine bass in fresh water ponds. **Aquaculture**, 211: 91–108.

Koroleff F. (1975). **Metodologia para Determinação da Amônia**. In: Grasshoff K. Methods of seawater analysis. Verlag. Chemie. Weinheim, New York: 117-181.

Madenjian C.P., Rogers G.L., Fast A.W. (1987). Predicting night time dissolved oxygen loss in prawn ponds of Hawaii: part I. Evaluation of traditional methods. **Aquacultural Engineering**, 6: 191-208.

Maffezzoli G., Nuñez A.P.O. (2006). Crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae), em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, 28(1): 41-45.

Marchioro M.I., Baldisserotto B. (1999). Sobrevivência de alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy e Gaimard 1824) à variação de salinidade da água. **Ciência Rural**, 29: 315-318.

Nakamura S., Imai N., Ohya S., Kobayashi H. (1989). **Oxygen Uptake Rate and Hematological Characteristics in Triploid Amago Salmon, *Oncorhynchus masou macrostomus***. In: No. 22. Mimeo, Faculty of the agricultural kinki university / Kinkidai No Kiyo, 31-38.

Ojotick E.J., Cusack R., Benfey T.J., Kerr S.R. (1995). Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature. **Aquaculture**, 131: 177–187.

Phillips R.B., Zajicek K.D., Ihssen P.E., Johnson O. (1986). Application of silver staining to the identification of triploid fish cells. **Aquaculture**, 54: 313-319.

Silfvergrip A.M.C. (1996). **A Systematic Revision of the Neotropical Catfish Genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Tese de doutorado - Department of vertebrate zoology, Swedish museum natural history, Stockholm, Sweden.

Small S.A., Benfey T.J. (1987). Cell size in triploid salmon. **Journal of Experimental Zoology**, 241: 339-342.

Stillwell E.J., Benfey T.J. (1996). Hemoglobin level, metabolic rate, opercular abduction rate and swimming efficiency in female triploid brook trout (*Salvelinus fontinalis*). **Fish Physiology and Biochemistry**, 15: 377–383.

Tiwary B.K., Kirubakaran R., Ray A.K. (2000). Gonadal development in triploid *Heteropneustes fossilis*. **Journal of Fish Biology**, 57: 1343-1348.

Virtanen E., Forsman L., Sundby A. (1990). Triploidy decreases the aerobic swimming capacity of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, 96A: 117–121.

Wilhelm Filho D., Torres M.A., Zaniboni-Filho E., Pedrosa R.C. (2005). Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847). **Aquaculture**, 244: 349-357.

Wolters W.R., Chrisman C.L., Libey G. S. (1982). Erythrocyte nuclear measurements of diploid and triploid channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). **Journal of Fish Biology**, 20: 253-258.

Wu R.S.S. (2002). Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. **Marine Pollution Bulletin**, 45: 35-45.

6. CONCLUSÃO GERAL

Os jundiás triplóides demonstraram maior sensibilidade à amônia nas primeiras horas de exposição, sugerindo uma organização fisiológica mais lenta que os diplóides para atingir a homeostase, uma vez que decorridas 96 horas de exposição apresentaram sobrevivência semelhante a dos jundiás diplóides.

Os triplóides de jundiá apresentaram uma maior sensibilidade à exposição a baixos níveis de oxigênio dissolvido quando comparados aos respectivos diplóides.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

- Aliah R.S., Yamaoka K., Inada Y., Taniguchi N. (1990). Effects of triploidy on tissue structure of some organs of ayu. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 56: 569–575.
- Aliah R.S., Inada Y., Yamaoka K., Taniguchi N. (1991). Effects of triploidy on hematological characteristics and oxygen consumption in ayu. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 57: 833-836.
- Allendorf F.W., Leary R.F. (1984). Heterozygosity in ginogenetic diploids and triploids estimated by gene-centromere recombination rates. **Aquaculture**, 43: 413-420.
- Almeida-Val V.M.F., Farias I.P., Silva M.N.P., Duncan W.P., Val A.L. (1995). Biochemical adjustments to hypoxia by Amazon cichlids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 28: 11-12.
- Alpha (1992). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 18 ed. American public health association, Washington.
- Arai K. (2001). Genetic improvement of aquaculture finfish species by chromosome manipulation techniques in Japan. **Aquaculture**, 197: 205-228.
- Arana L.V. (1997). **Princípios Químicos de Qualidade de Água em Aqüicultura: Uma revisão para peixes e camarões**. Editora da UFSC, Florianópolis. 166p.
- Baldisserotto B. (2002). **Fisiologia de Peixes Aplicada à Piscicultura**. Ed. UFSM, Santa Maria, Brasil.
- Barcellos L.J.G., Wassermann G.F., Scout A.P., Whoel V.M., Quevedo R.M., Itzéz I., Krieger M.H., Lulhier F. (2001). Steroid profiles in cultured female jundiá, the Siluridae *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pisces Teleostei), during the first reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**, 121: 325-332.
- Barcellos L.J., Kreutz L.C., Quevedo R.M., Fioreze I., Cericato L., Soso A.B., Fagundes M., Conrad J., Baldissera R.K., Bruschi A., Ritter F. (2004). Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, 232: 383-394.
- Bergheim A., Gausen M., Naess A., Hoelland P.M., Krogedal P., Crampton V. (2006). A newly developed oxygen injection system for cage farms. **Aquacultural Engineering**, 34: 40-46.
- Borghetti N.R.B., Ostrensky A., Borghetti J.R. (2003). **Aqüicultura: Uma Visão Geral Sobre a Produção de Organismos Aquáticos no Brasil e no Mundo**. Curitiba: Grupo integrado de aqüicultura e estudos ambientais. 128p.
- Boyd C.E. (1990). **Water Quality in Ponds for Aquaculture**. Auburn University, Alabama. Birmingham publishing Co. Alabama. 482pp.
- Boyd C.E., Tucker C.S. (1998). **Pond Aquaculture Water Quality Management**. Kluwer Academic Publishers, Norwell, 700p.
- Boyd C.E., Watten B.J. (1989). Aeration systems in aquaculture. **Reviews Aquatic Sciences**, 1: 425-472.
- Braun N., Lima R.L., Moraes B., Loro V.L., Baldisserotto B. (2006). Survival, growth and biochemical parameters of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824), juveniles exposed to different dissolved oxygen levels. **Aquaculture Research**, 37, 1524:1531.
- Cameron J.N., Heisler N. (1983). Studies of ammonia in rainbow trout: physico-chemical parameters, acid-base behaviour and respiratory clearance. **Journal of Experimental Biology**, 105: 107-125.

Carneiro P.C.F., Bendhack F., Mikos J.D., Schorer M., Oliveira Filho P.R.C. (2002). Jundiá: um grande peixe para a região sul. **Panorama da Aqüicultura**, 12: 41-46.

César A., Silva S.L.R., Santos A.R. (1997). **Testes de Toxicidade Aquática no Controle da Poluição**. Universidade Santa Cecília. Santos, São Paulo, Brasil.

Chabot D., Dutil J. (1999). Reduced growth of Atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions. **Journal of Fish Biology**, 55: 472-491.

Chourrout, D. (1984), Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout: Production of all-triploids, all-tetraploids, and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. **Aquaculture**, 36: 111-126.

Colt J.E., Armstrong D.A. (1981). **Nitrogen Toxicity to Crustaceans, Fish and Mollusks**. In: L. Allen and E. Kinney (Eds.). Proceedings of the bio-engineering symposium for fish culture. Fish culture section of the american fisheries society, Bethesda, Mariland USA: 34-47.

Cotter D., O'Donovan V., O'Maoiléidigh N., Rogan G., Roche N., Wilkins N.P. (2000). An evaluation of use of triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in minimizing the impact of escaped farmed salmon on wild populations. **Aquaculture**, 186: 61-75.

Dosdat A., Servais F., Métailler R., Huelvan C., Desbruyeres E. (1996). Comparasion of nitrogenous losses in five teleost fish species. **Aquaculture**, 141: 107-127.

Esteves F.A. (1998). **Fundamentos de Limnologia**. Interciência. Rio de Janeiro, Brasil.

Fast A.W., Pewnim T., Keawtabtim R., Sajjit R., Te F.T., Vejaratpimol R. (1995). Comparative growth of diploid and triploid Asian catfish *Clarias macrocephalus* in Thailand. **Journal of the World Aquaculture Society**, 26: 390-395.

Fauaz G., Vicente V.E., Moreira-Filho O. (1994). Natural triploidy and B-Chromosomes in the neotropical fish genus *Astyanax* (Characidae). **Revista Brasileira de Genética**, 17: 157-163.

Foster R.P., Goldstein L. (1969). **Formation of excretory products**. In: W.S. Hoar e D.J. Randall (Eds.), Fish Physiology, 1. Academic Press, New York, NY: 313-350.

Fracalossi D.M., Zaniboni-Filho E., Meurer S. (2002). No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aqüicultura**, 12: 43-49.

Fracalossi D.M., Meyer G., Santamaria F.M., Weingartner M., Zaniboni-Filho E. (2004). Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum, Animal Sciences**, Maringá, 26: 345-352.

Gomes L.C. Golombieski J. I., Chippari Gomes A. R. Baldisserotto B. (2000). Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, 30(1): 179-185.

Handy R.D., Poxton M.G. (1993). Nitrogen pollution in mariculture: toxicity and excretion of nitrogenous compounds by marine fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 3: 205-241.

Huergo G.M., Zaniboni-Filho E. (2006). Triploidy induction in jundiá *Rhamdia quelen*, through hydrostatic pressure shock. **Journal of Applied Aquaculture**, 18(4): 45-57.

Kamler E. (1992). **Early Life History of Fish: An Energetic Approach**. Chapman Hall, London (UK). Fish and fisheries (Oxf.). p.267.

Karim R., Sekine M., Ukita M. (2002). Simulation of eutrophication and associated occurrence of hypoxic and anoxic condition in a coastal bay in Japan. **Marine Pollution Bulletin**, 45: 280-285.

Kavumpurath S., Pandian T.J. (1992). Effects of induced triploidy on aggressive display in the fighting fish, *Betta splendens* Regan. **Aquaculture and Fisheries Management**, 23: 281-290.

- Krom M.D., Porter C., Gordin H. (1985). Causes of fish mortalities in semi-intensively operated seawater ponds in Eilat, Israel. **Aquaculture**, 49: 159-177.
- Leary R.F., Allendorf F.W., Knudsen K.L., Thorgaard G.H. (1985). Heterozygosity and developmental stability in ginogenetic diploid and triploid rainbow trout. **Heredity**, 54: 219-225.
- Linhart O., Haffray P., Ozouf-Costaz C., Flajshans M., Vandeputte M. (2001). Comparison of methods for hatchery-scale triploidization of European catfish (*Silurus glanis* L.). **Journal of Applied Ichthyology**, 17: 247-255.
- Lopes J.M. (1998). **Influência do pH da Água na Sobrevivência e Crescimento de Larvas de Jundiá *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824, PISCES, PIMELODIDAE) em Duas Épocas de Desovas**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.
- Lutz C.G. (2001). **Practical Genetics for Aquaculture**. Fishing news books, Oxford.
- Maffezzolli G., Nuñez A.P.O. (2006). Crescimento de alevinos de jundiá, *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae), em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, 28(1): 41-45.
- Maistro E.L., Dias A.L., Foresti F., Oliveira C., Moreira O. (1994). Natural triploidy in *Astyanax scabripinnis* (pisces, characidae) and simultaneous occurrence of macro B-Chromosomes. **Caryologia**, 47: 233-239.
- Marchioro M.I., Baldisserotto B. (1999). Sobrevivência de alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard 1824) à variação de salinidade da água. **Ciência Rural**, 29: 315-318.
- Meurer S., Zaniboni-Filho E. (1997). **Hábito Alimentar do Jundiá, *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae), na Região do Alto Rio Uruguai**. In: Encontro brasileiro de ictiologia, 12. São Paulo. Anais...Sao Paulo: SBI, p.29.
- Meyer G., Fracalossi D.M. (2004). Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**, 240: 331-343.
- Miron D.S. (2004). **Efeito da Amônia em Diferentes Níveis de pH da Água na Sobrevivência e no Crescimento de Alevinos de Jundiá *Rhamdia quelen* (Heptateridae)**. Dissertação (Mestrado em zootecnia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- Moraes G., Choudhuri J.V., Souza R.H.S. (1997). Metabolic strategies of *Hypostomus regani* (Cascudo), a fresh water teleost fish under extreme environmental hypoxia. **Boletim Técnico do CEPTA**, 10: 35-44.
- Nam Y.K., Park I., Kim D.S. (2004). Triploid hybridization of fast-growing transgenic mud loach *Misgurnus mizolepis* male to cyprinid loach *Misgurnus anguillicaudatus* female: The first performance study on growth and reproduction of transgenic polyploid hybrid fish. **Aquaculture**, 231: 559-572.
- Orsi M.L., Agostinho A.A. (1999). Fish species introduction by accidental escape from aquaculture in the high Parana River Basin. **Revista Brasileira de Zoologia**, 16: 557-560.
- Person-Le Ruyet J., Galland R., Le Roux A., Charlotis H. (1997). Chronic ammonia toxicity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, 154: 155-171.
- Piaia R., Townsend C. R., Baldisserotto B. (1999). Growth and survival of fingerlings of silver catfish exposed to different photoperiods. **Aquaculture**, 7: 201-205.
- Rantin F.T., Marins M.A. (1984). **Como os Teleósteos Respondem à Hipoxia Ambiental – Uma Revisão**. In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura (3). São Carlos, Anais...p.673-692.

Serafini R.L. (2005). **Efeito do Oxigênio Dissolvido e da Amônia na Sobrevivência e Crescimento de Juvenis de Dourado (*Salminus brasiliensis*)**. (Dissertação de Mestrado em Aqüicultura) – Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

Silfvergrip A.M.C. (1996). **A Systematic Revision of the Neotropical Catfish Genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Tese de Doutorado - Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum Natural History, Stockholm, Sweden.

Skibinski D.O.F. (1998). **Genetical Aspects of Fisheries Enhancement**. In: Inland fishery enhancements, ed. Petr, T. FAO Fisheries Technical Paper No. 374, Rome, pp. 205-222.

Small S.A., Benfey T.J. (1987). Cell size in triploid salmon. **Journal of Experimental Zoology**, 241: 339-342.

Souza L.S., Pouey J.L.O.F., Camargo S.O., Vaz B.S. (2005). Crescimento e sobrevivência do catfish de canal (*Ictalurus punctatus*) e jundiá (*Rhamdia sp*) no outono–inverno do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, 35(4): 891-896.

Swarup H. (1959). Effect of triploidy on the body size, general organization and cellular structure in *Gasterosteus aculeatus* (L.). **Journal of Genetic**, 56: 143-155.

Teskeredzic E., Donaldson E.M., Teskeredzic Z., Solar I., McLean E. (1993). Comparison of hydrostatic pressure and thermal shocks to induce triploidy in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). **Aquaculture**, 117: 47-55.

Thorgaard G.H. (1986). Ploidy manipulation and performance. **Aquaculture**, 57: 57-64.

Thurston R.V., Russo R.C., Vinogradov G.A. (1981). Ammonia toxicity to fish. Effect of pH on the toxicity of the unionized ammonia species. **Environmental Sciences and Technology**, 15: 837-840.

Thurston R.V., Russo R.C., Meyn E., Zajdel R.K., Smith C.E. (1986). Chronic toxicity of ammonia to fathead minnows. **Transactions of the American Fisheries Society**, 115: 196-207.

Tiwary B.K., Kirubakaran R., Ray A.K. (2000). Gonadal development in triploid *Heteropneustes fossilis*. **Journal of Fish Biology**, 57: 1343-1348.

Townsend C.R., Silva L.V., Baldisserotto B. (2003). Growth and survival of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) larvae exposed to different levels of water hardness. **Aquaculture**. 215: 103-108.

Townsend C.R., Baldisserotto B. (2001). Survival of silver catfish fingerlings exposed to acute changes of water pH and hardness. **Aquaculture**, 9: 413-419.

Wajsbrot N., Gasith A., Krom M.D., Popper D.M. (1991). Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) under reduced oxygen levels. **Aquaculture**, 92: 277-288.

Wedemeyer G.A. (1996). **Physiology of Fish in Intensive Culture System**. Copyright by Chapman and Hall, New York, 232p.

Wilhelm Filho D., Torres M.A., Zaniboni-Filho E., Pedrosa R.C. (2005). Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847). **Aquaculture**, 244: 349-357.

Wolters W.R., Libey G.S., Chrisman C.L. (1981). Induction of triploidy in channel catfish. **Transactions of the American Fisheries Society**, 110: 310-312.

Wolters W.R., Chrisman C.L., Libey G. S. (1982). Erythrocyte nuclear measurements of diploid and triploid channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). **Journal of Fish Biology**, 20: 253-258

Wu R.S.S. (2002). Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. **Marine Pollution Bulletin**, 45: 35-45.