



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE BIOTECNOLOGIA APLICADA À**  
**AGROPECUÁRIA**

**DEBORA SAYUMI DOAMI MELO**

**DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E EXPRESSÃO DOS GENES MIOGÊNICOS**  
**DE PÓS-LARVA DE *Colossoma macropomum* ALIMENTADOS COM**  
**NÁUPLIOS DE ARTÊMIA**

**BELÉM**

**2022**

**DEBORA SAYUMI DOAMI MELO**

**DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E EXPRESSÃO DOS GENES MIOGÊNICOS  
DE PÓS-LARVA DE *Colossoma macropomum* ALIMENTADOS COM  
NÁUPLIOS DE ARTÊMIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para obtenção de título de Mestre em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária.

Área de concentração: Biotecnologia animal.

Orientador: Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy.

**BELÉM**

**2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia  
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M528d Melo, Debora Sayumi Doami

DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E EXPRESSÃO DOS GENES MIOGÊNICOS DE PÓS-LARVA DE  
Colossoma macropomum ALIMENTADOS COM NÁUPLIOS DE ARTÊMIA / Debora Sayumi Doami  
Melo. - 2022.

59 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária  
(PPGBAA), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2022.  
Orientador: Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy

1. Larvicultura. 2. SRA. 3. Alimento vivo. 4. qPCR. I. Hamoy, Igor Guerreiro, *orient.* II. Título

---

CDD 639.31

DEBORA SAYUMI DOAMI MELO

**DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E EXPRESSÃO DOS GENES MIOGÊNICOS  
DE PÓS-LARVA DE *Colossoma macropomum* ALIMENTADOS COM  
NÁUPLIOS DE ARTÊMIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para obtenção de título de Mestre em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária.

Data da aprovação: 29/08/2022

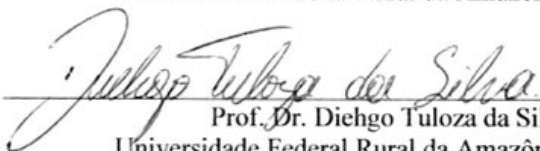
Banca Examinadora:



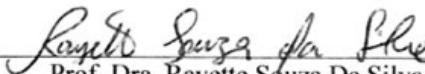
Prof. Dr. Igor Guerreiro Hamoy – Orientador/Presidente da banca  
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA



Prof. Dr. Ednaldo da Silva Filho  
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA



Prof. Dr. Diego Tuloza da Silva  
Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA



Prof. Dra. Rayette Souza Da Silva  
Instituto Federal do Pará – IFPA

Dedico à minha mãe Eulalia Doami,  
minhas irmãs, meus amigos e à toda  
equipe e professores do LGA e  
BIOAQUAM.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por guiar e iluminar os meus caminhos;

À minha mãe, Eulália Doami, por me incentivar, acreditar, apoiar e lutar comigo. E acima de tudo pelo seu amor imensurável às suas filhas;

Às minhas irmãs, Angela e Sami, pelo companheirismo, apoio, pela ajuda e pelos todos os momentos de alegria e felicidade;

Ao meu querido, Adler Alves, pelo seu amor, carinho e principalmente à paciência que tem por mim;

Aos meus queridos amigos desde a graduação, Mayumi Kato, Karcio Araujo, Nathalia Farias e Bruno Gomes, pela amizade calorosa e pelas comemorações para celebrar pequenas vitórias de cada um de nós;

Aos meus queridos amigos desde o ensino médio, Raphael e Leila, pela nossa amizade que continua o mesmo há anos;

Às minhas queridas amigas de infância, Patricia Arikuma e Akemi Umetsu, que mesmo longe uma da outra a nossa amizade permanece o mesmo. Obrigada pelos encontros virtuais que começamos a fazer no início da pandemia. Espero reencontrar vocês em breve para matar a nossa saudade;

À equipe Laboratório de Biosistemas Aquáticos Amazônicos (BIOAQUAM), principalmente aos professores Fabio Sterzelecki e Glauber Palheta, pela toda estrutura, orientação e apoio que foi fornecido para ocorrer o experimento da larvicultura;

Ao Prof. Dr. Ednaldo Filho e à toda equipe do Laboratório de Sorologia e Biologia Molecular (LSBM), por permitir a realizar a extração de RNA e pela toda ajuda e apoio que recebi. E agradeço principalmente à Ellen por me atender em todas as mensagens para realizar o agendamento;

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Genética Aplicada (LGA), onde pertenço desde a graduação. Principalmente ao Sávio Guerreiro e ao Dr. André Sá pelos ensinamentos, apoios, dedicação e amizade;

Aos todos professores do Programa de Pós-Graduação de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (PPGBAA), pela dedicação e paciência que tiveram em ensinar em sala virtual, a qual imagino que não deve ter sido fácil;

À Auricilene Moreira, secretária do PPGBAA, pela paciência em orientar e ajudar todos os alunos do programa. O seu carinho foi essencial para confortar os alunos;

Ao Prof. Nuno Filipe, coordenador do Programa de Pós-Graduação Em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais (PPGAqRAT), pelo apoio financeiro e estrutural para que o experimento acontecesse;

Ao Alexandre José da Silva Ferreira, secretário do PPGAqRAT, por ter me recebido com todo carinho durante o experimento e pelas ajudas que recebi quando precisei;

Ao Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro de projetos;

Ao meu orientador, Prof. Igor Guerreiro Hamoy, que me acolheu no seu laboratório desde a graduação e me orientou e apoiou em todas as minhas atividades realizadas. Obrigada pela sua paciência em me ensinar, me encorajar e ter me fornecido toda a estrutura necessária para que a pesquisa acontecesse, obrigada.

E a todos que direta ou indiretamente possibilitou a tornar-se de quem sou hoje. Meus sinceros agradecimentos.

Sayumi Doami

## RESUMO

*Colossoma macropomum*, tambaqui, é a espécie que apresenta maior produção no Brasil entre os peixes nativos. Na larvicultura, náuplios de *Artêmia* são comumente utilizados devido ao seu alto valor proteico, energético e de aminoácidos livres que facilitam a digestão pelas pós-larvas. Entretanto, por tratar de insumo de elevado custo é necessário evitar desperdício na larvicultura. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi determinar a quantidade ideal de náuplios de *Artêmia* por larvas de *C. macropomum* por meio da análise de desempenho zootécnico e expressão dos genes miogênicos: fator determinante de mioblasto (*myod*), miogenina (*myog*) e miostatina (*mstn*). Para isso, larvas de tambaqui, com idade de seis dias após eclosão (DAE) foram cultivadas em sistema de recirculação de água (SRA) em 15 tanques plásticos de 60 L, em densidade de 10 pós-larvas/L, durante 14 dias. Foram testadas cinco densidades de náuplios de artêmias (NA) (100, 250, 500, 750 e 1000 NA/pós-larva) em três repetições. Parâmetros da qualidade de água foram analisados diariamente. No 6º, 13º e 20º DAE, foram avaliados: comprimento total, peso, ganho de peso diário (mg.Dia<sup>-1</sup>), taxa de crescimento específico (%.dia<sup>-1</sup>) e sobrevivência (%). E em 20º DAE, 9 larvas foram coletadas para análise de expressão gênica. Após 14 dias experimentais, o valor médio do oxigênio dissolvido apresentou decréscimo significativo com o aumento da densidade do alimento vivo, mas sem efeito na sobrevivência entre os tratamentos testados. Na primeira semana, as larvas alimentadas com menos de 500 NA/pós-larva tiveram crescimento significativamente menor e na segunda semana as larvas alimentadas com 1000 NA/pós-larva foram as que apresentaram maior peso e comprimento total ( $p < 0,05$ ). Os níveis de expressão relativa dos genes miogênicos foram significativamente maiores nas larvas alimentadas com 100, 250 e 500 NA/pós-larva. Com base na análise de regressão segmentada e linear sobre o peso, respectivamente, na primeira semana a quantidade ideal calculada foi de 411 NA/pós-larva e na segunda semana de 1000 NA/pós-larva. Dessa forma, diferentes densidades de NA influenciaram no desempenho zootécnico, qualidade da água e na expressão dos genes miogênicos na pós-larva de *C. macropomum*. Mais estudos em diferentes genes e fases do desenvolvimento larval são necessários para associar o efeito do alimento vivo à performance zootécnica da pós-larva de *C. macropomum*.

**Palavras-chaves:** larvicultura; SRA; alimento vivo; qPCR.



## ABSTRACT

*Colossoma macropomum*, tambaqui, is the species with the highest production in Brazil among native fish. In larviculture, Artemia nauplii are commonly used due to their high protein, energy and free amino acid value that facilitate digestion by post-larvae. However, as it is a high-cost input, it is necessary to avoid waste in larviculture. Thus, the objective of the present study was to determine the ideal amount of Artemia nauplii per *C. macropomum* larvae through the analysis of zootechnical performance and expression of myogenic genes: myoblast-determining factor (*myod*), myogenin (*myog*) and myostatin (*mstn*). For this, tambaqui larvae, aged six days after hatching (DAE) were cultivated in a recirculating aquaculture system (RAS) in 15 plastic tanks of 60 L, at a density of 10 post-larvae/L, for 14 days. Five densities of Artemia nauplii (AN) (100, 250, 500, 750 and 1000 AN/post-larva) were tested in three replications. Water quality parameters were analyzed daily. On the 6th, 13th and 20th DAE, the following were evaluated: total length, weight, daily weight gain ( $\text{mg}\cdot\text{Day}^{-1}$ ), specific growth rate ( $\%\cdot\text{day}^{-1}$ ) and survival (%). And at 20th DAE, 9 larvae were collected for gene expression analysis. After 14 experimental days, the mean value of dissolved oxygen showed a significant decrease with increasing live food density, but with no effect on survival between the treatments tested. In the first week, larvae fed with less than 500 AN/post-larvae had significantly lower growth and in the second week, larvae fed with 1000 AN/post-larva had the highest weight and total length ( $p < 0.05$ ). Relative expression levels of myogenic genes were significantly higher in larvae fed with 100, 250 and 500 AN/post-larvae. Based on the analysis of segmented and linear regression on weight, respectively, in the first week the ideal amount calculated was 411 AN/post-larvae and in the second week it was 1000 AN/post-larvae. Thus, different AN density influenced the zootechnical performance, water quality and the expression of myogenic genes in the post-larvae of *C. macropomum*. More studies on different genes and stages of larval development are needed to associate the effect of live food with the zootechnical performance of *C. macropomum* post-larvae.

**Keywords:** larviculture; RAS; live food; qPCR.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO I

Figura 1 -	<i>Colossoma macropomum</i> Cuvier, 1816.....	15
Gráfico 2 -	Produção de <i>Colossoma macropomum</i> em quilogramas no Brasil e nas grandes regiões do país em ano de 2020.....	17
Figura 3 -	Princípio de Sistema de Recirculação de Água (SRA).....	18
Figura 4 -	Larva de <i>Colossoma macropomum</i> com aproximadamente 6 mm com idade 6 DAE.....	20
Figura 5 -	Náuplio de artêmia recém eclodida.....	21
Figura 6 -	Ciclo de vida de artêmia.....	22
Figura 7 -	Expressão sequencial e regulação realizada pelos fatores regulatórios miogênicos ( <i>MRFs</i> ) durante a miogênese do músculo esquelético.....	24

### CAPÍTULO II

Figura 1 -	Regressão segmentada e linear do peso da larva de <i>Colossoma macropomum</i> alimentado com 100, 250, 500, 750 e 1000 náuplios de Artêmia/pós-larva em 13° DAE (a) e 20° DAE $y = 2,832 \cdot 5x + 0,005842$ (b).....	42
Figura 2 -	Expressão relativa dos genes <i>myod</i> (a), <i>myog</i> (b) e <i>mstna</i> (c) da larva de <i>Colossoma macropomum</i> com 20° DAE alimentados com 100, 250, 500, 750 e 1000 náuplios de Artêmia/pós-larva durante 14 dia de cultivo.....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Sequência de oligonucleotídeo, tamanho de pares de base (pb), temperatura de anelamento (Ta °C) e o número de acesso no GenBank de cada gene.....	39
Tabela 2 -	Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros de qualidade de água durante 14 dias de larvicultura de <i>Colossoma macropomum</i> em SRA em diferentes densidades testadas de náuplios de Artêmia por pós-larva.....	40
Tabela 3 -	Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis biométricas da pós-larva de <i>Colossoma macropomum</i> alimentados com 100, 250, 500, 750 e 1000 náuplios de Artêmia/pós-larva após 14 dias de cultivo em SRA.....	41

## LISTA DE SIGLAS

bHLH	Hélice-volta hélice
BIOAQUAM	Laboratório de Biosistemas Aquáticos Amazônicos
DAE	Dia após a eclosão
<i>gapdh</i>	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GDF-8	Fator de crescimento e diferenciação-8
<i>gh</i>	Hormônio de crescimento
LGA	Laboratório de Genética Aplicada
LSGM	Laboratório de Genética e Biologia Molecular
MPC	Células progenitoras miogênicas
MRF's	Fatores reguladores miogênicos
<i>mrf4</i>	Fator miogênico 6
<i>mstn</i>	Miostatina
<i>myf5</i>	Fator miogênico 5
<i>myod</i>	Fator determinante de mioblastos
<i>myog</i>	Miogenina
NA	Náuplios de Artêmia
NTC	<i>No template control</i>
PPM	Partes por milhão
qPCR	Reação de cadeia polimerase em tempo real
SRA	Sistema de recirculação de água
TGFβ	Fator de crescimento transformador
UFRA	Universidade Federal Rural da Amazônia

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I</b> .....	12
1. <b>CONTEXTUALIZAÇÃO</b> .....	12
2. <b>OBJETIVO</b> .....	14
2.1. <b>Objetivo Geral</b> .....	14
2.2. <b>Objetivo Específico</b> .....	14
3. <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
3.1. <i>Collossoma macropomum</i> Cuvier, 1816.....	15
3.2. <b>Sistema de recirculação de água (SRA)</b> .....	17
3.3. <b>Larvicultura</b> .....	19
3.4. <i>Artemia sp.</i> .....	20
3.5. <b>Miogênese</b> .....	23
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26
<b>CAPÍTULO II</b> .....	33
<b>Resumo</b> .....	34
1. <b>Introdução</b> .....	35
2. <b>Materiais e métodos</b> .....	36
2.1. <b>Larvicultura de <i>C. macropomum</i> em SRA</b> .....	36
2.2. <b>Artêmia e manejo alimentar</b> .....	37
2.3. <b>Performance de crescimento</b> .....	38
2.4. <b>Análise de expressão gênica</b> .....	38
3. <b>Resultados</b> .....	40
3.1. <b>Qualidade de água</b> .....	40
3.2. <b>Performance da larva</b> .....	40
3.3. <b>Expressão relativa de <i>myod</i>, <i>myog</i> e <i>mstna</i></b> .....	42
4. <b>Discussão</b> .....	43
4.1. <b>Qualidade da água</b> .....	44
4.2. <b>Performance zootécnica</b> .....	44
4.3. <b>Expressão dos genes miogênicos</b> .....	46
5. <b>Conclusão</b> .....	47
<b>Referências</b> .....	48

## **ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO**

A dissertação está dividida em dois capítulos. Capítulo I, redigido segundo a norma da UFRA/2021, NBR 6027-2012/2013 e NBR 6022-2018, é composta de contextualização, objetivo geral e específico e revisão de literatura. Capítulo II é o artigo redigido segundo a norma da revista *Aquaculture*: ISSN: 0044-8486.

## CAPÍTULO I

### 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A aquicultura é a atividade de cultivo de organismos com ciclo de vida total ou parcial na água em qualquer um de seus estágios de desenvolvimento, apresentando finalidade econômica, desportiva, científica ou subsistência. Esta atividade é bastante favorável no Brasil devido à climas favoráveis e disponibilidade em quantidade e qualidade de recursos hídricos (ROCHA *et al.*, 2013).

Entre as espécies nativas do Brasil, o *Colossoma macropomum* (tambaqui) é a espécie com a maior produção no país (IBGE, 2021) por apresentar boa adaptabilidade ao cativeiro, alta performance zootécnica e ser de fácil manejo alimentar e reprodutivo (SILVA *et al.*, 2007; BALDISSEROTTO e GOMES, 2010). A reprodução em sistema de cultivo é realizada através da técnica de aplicação hormonal por ser peixe de piracema (STREIT JÚNIOR *et al.*, 2012).

Larvas recém eclodidas são consideradas como larvas até ocorrer a reabsorção do vitelo, e a partir do início de uma alimentação exógena o animal passa a ser chamado de pós-larva (HELFMAN *et al.*, 2000; FERNANDES e DIÓGENES, 2012). O bom manejo alimentar nessa transição é essencial para o bom desenvolvimento do animal no decorrer do tempo (DIEMER *et al.*, 2012; FERNANDES e DIÓGENES, 2012).

Na larvicultura, a alimentação de pós-larvas comumente utilizada são os náuplios de artêmia (RODRIGUES *et al.*, 2012; HAYASHI, 2014), por sua produção em laboratório ser fácil e menos trabalhosa (CONCEIÇÃO *et al.*, 2010). Elas apresentam alto valor proteico, energético e de aminoácidos livres que facilitam a digestão pelas pós-larvas que ainda não possuem trato digestório completo (DIEMER *et al.*, 2012).

Entretanto, os náuplios de artêmia apresentam alto custo de produção em razão dos recursos naturais baixos e alta demanda e por serem organismos de ambiente salino (DHONT *et al.*, 2013). A quantidade a ser ofertada em larvicultura de organismos de água doce requer atenção devido o tempo de vida limitado dos náuplios em água dulcícola (JOMORI *et al.*, 2013). Logo, se administrada em excesso, a artêmia não consumida morre, deposita-se no fundo do tanque, levando à deterioração da qualidade da água (SANTOS; CORREIA; LUZ, 2015).

Na larvicultura de tambaqui, os náuplios de artêmias já foram utilizadas em quantidade crescente de artêmias por larva nos primeiros dias de vida após eclosão (DAE) (SANTOS et al., 2021; 2022). Entretanto, para a espécie ainda não foi realizada pesquisa sobre a quantidade ideal ao longo da primeira alimentação, assim como sobre efeitos no organismo e crescimento da larva. Estudos com foco na performance zootécnica e análise de expressão de genes miogênicos podem fornecer informações úteis que levem a estratégias que beneficiem o desenvolvimento e crescimento muscular da espécie cultivada.

Um dos mecanismos de regulação de crescimento muscular são controladas pela expressão dos fatores regulatórios miogênicos (*Myogenic regulatory factors, MRFs*) que são responsáveis pelo crescimento hiperplásico e hipertrófico das fibras musculares, são eles: fator determinante de mioblastos (*myod*), fator miogênico 5 (*myf5*), miogenina (*myog*) e fator miogênico 6 (*myf6*). E miostatina (*mstn*) como regulador negativo no crescimento muscular (VÉLEZ et al., 2017). Para não comprometer o desenvolvimento posterior dos peixes, otimização no manejo alimentar nos primeiros dias de vida da larva é fundamental (ALAMI-DURANTE et al., 2014).

Para tal fim, a reação de cadeia polimerase em tempo real (qPCR) é a técnica quantitativa de alta sensibilidade e precisão capaz de analisar a expressão de genes específicos (BUSTIN *et al.*, 2009) selecionados para o estudo. Assim, o objetivo geral do presente estudo é determinar densidade ideal de náuplios de artêmia por larva de *C. macropomum* por meio da análise de performance zootécnica e expressão relativa dos genes relacionados a miogênese: *myod*, *myog* e *mstn*.



## 2. OBJETIVO

### 2.1. Objetivo Geral

Determinar densidade ideal de náuplios de artêmia por pós-larva de *C. macropomum* por meio da análise de performance zootécnica e expressão dos genes relacionados a miogênese.

### 2.2. Objetivo Específico

- Analisar o desenvolvimento larval de *C. macropomum* alimentado com densidades crescentes de náuplios de Artêmia por meio do peso, comprimento total, sobrevivência, taxa de crescimento específico e ganho de peso diário;
- Analisar a expressão relativa dos genes relacionados a miogênese: *myod*, *myog* e *mstn*;
- Identificar a melhor concentração de náuplios de artêmias semanal para larvicultura de *C. macropomum* cultivado em SRA.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. *Colossoma macropomum* Cuvier, 1816

O *Colossoma macropomum* Cuvier, 1816 (Figura 1) é conhecido popularmente no Brasil como tambaqui, e cachama, cachamanegra e gamitama em Venezuela, Colômbia e Peru, respectivamente. Esta espécie é neotropical de água doce e ocorre naturalmente em bacias dos rios Solimões, Amazonas e Orinoco, bem como em seus afluentes (GOMES *et al.*, 2010). E possui a seguinte classificação taxonômica:

Figura 1: *Colossoma macropomum* Cuvier, 1816



Fonte: SIMPEIXES, 2017.

REINO: Animalia

FILO: Chordata

CLASSE: Teleostei

SUPERORDEM: Ostariophysi

ORDEM: Characiformes

FAMÍLIA: Characidae

GENERO: *Colossoma* Eigenmann and Kennedy, 1903

ESPÉCIE: *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816)

Fonte: ITIS (2020).

A morfologia do seu corpo é arredondado e apresenta coloração parda na porção metade superior do corpo e outra metade inferior de preto. A espécie é considerada rustico, de crescimento rápido e de grande porte, podendo atingir 2 kg de peso médio em menos de um ano de cultivo (ARAÚJO-LIMA; GOULDING, 1998). Em sua boca possui fortes mandíbulas e dentes molariformes e incisivos que permite a quebra das sementes e frutos de seringueiras e palmeiras (ABELHA; AGOSTINHO; GOULART, 2001; GRAÇA; PAVANELLI, 2007).

A sua rusticidade se deve a alta resistência à hipóxia, tolerando valores abaixo de 1 mg/L de oxigênio dissolvido na água, e tolerância em altas taxas de amônia na água, de até 0,46 mg/L de amônia não ionizada (VAL, 1993; VAL; HONCZARYK, 1995; ISMIÑO-ORBE, 1997). E segundo Aride *et al.* (2004), o tambaqui apresenta melhor crescimento em águas ácidas, em torno de pH de 4 à 6.

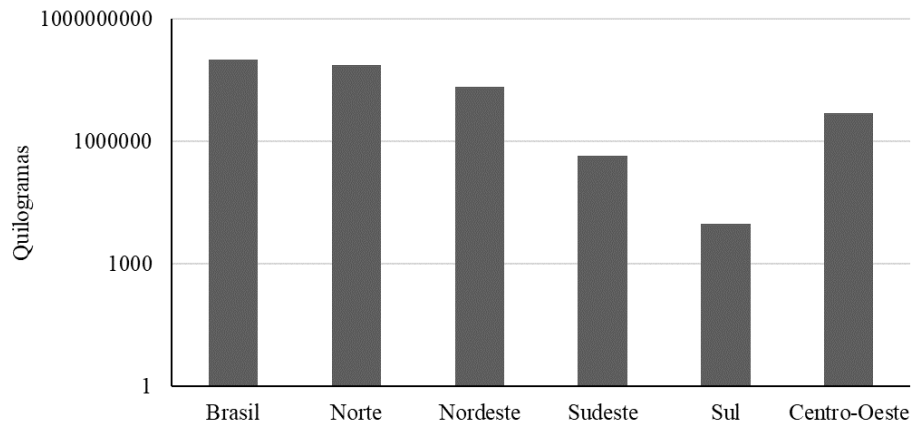
O trato gastrintestinal do tambaqui é dividido em esôfago, estômago, cecos pilóricos e intestino proximal e distal e a digestão de alimentos ocorre principalmente em cecos pilóricos, a espécie contendo em número de 43 a 45, e em intestino proximal. O seu intestino é relativamente longo e possui de 2 a 2,5 vezes o comprimento corporal da espécie (ROTTA, 2003; MORI, 2016).

O hábito alimentar do *C. macropomum* é definido como onívoro-oportunista em razão de ele consumir zooplâncton na época de vazante e seca, e em período de enchente se alimenta preferencialmente de sementes e frutas (RIBEIRO *et al.*, 2016) e em sistema de cultivo tem grande aceitação em rações comerciais e em alimentos alternativos, como farelo de babaçu, pupunha, mandioca e entre outros (DAIRIKI; DA SILVA, 2011).

A espécie é peixe de piracema que realiza migrações em período de cheia, entre novembro e março, para se reproduzir e a sua maturidade sexual entre o terceiro e o quarto ano de vida (BARTHEM; FERREIRA; GOULDING, 2016). A desova é total e a fecundação ocorre externamente, não tendo cuidado parental (VAZZOLER; MENEZES, 1992; MOREIRA *et al.*, 2001). E o manejo reprodutivo em sistema de cultivo é possível através da técnica de aplicação de hormônios, extrato de hipófise seco ou hormônios sintéticos, para induzir a maturação final dos gametas e, assim, liberação dos ovos e sêmens para fecundação (ARAÚJO-LIMA; GOMES, 2005; STREIT JÚNIOR *et al.*, 2012).

Devido às características de rusticidade do *C. macropomum*, boa adaptabilidade ao cativeiro, alta produtividade e de fácil manejo alimentar e reprodutivo, a espécie apresenta a maior produção do Brasil entre as espécies nativas (BALDISSEROTTO; GOMES, 2010). Em virtude de questões climáticas favoráveis, o Brasil produziu em 2020 cerca de 100 milhões de tambaqui em quilogramas, com maior produção em Norte, Nordeste e Centro-Oeste, respectivamente (Gráfico 2), (IBGE, 2021; VALENTI *et al.*, 2021).

Gráfico 2: Produção de *Colossoma macropomum* em quilogramas no Brasil e nas grandes regiões do país em ano de 2020.



Fonte: IBGE, 2021.

O cultivo da espécie é realizado popularmente em sistemas semi-intensivos (barragens, viveiros e tanques) e em sistemas intensivos (sistemas com aeração mecânica, tanques-rede, entre outros) (CORREA; SOUSA; MARTINS, 2018). E larvicultura de *C. macropomum* é realizada comumente de forma extensiva em viveiros (TAVARES-DIAS et al., 2013; LIMA et al., 2021) ou em tanques de forma semi-intensiva (PEDREIRA; SIBAÚBA-TAVARES, 2001; SANTOS et al., 2007). A larvicultura intensiva vem sendo desenvolvida recentemente em Sistema de Recirculação de Água (SRA) (Santos et al., 2021; 2022).

### 3.2. Sistema de recirculação de água (SRA)

Existem três categorias de sistema de produção: sistema aberto – cultivo em ambientes naturais como lagos, rios e estuários por exemplo, sem necessidade de bombeamento de água; sistema semifechado – água é direcionada até o local de produção e parcialmente recirculada através do bombeamento e descartado o efluente; e sistema fechado, onde a água é totalmente reutilizada após uma série de tratamento, como em SRA (LANDAU, 1992).

O SRA consiste num sistema que utiliza baixa ou nenhuma renovação de água a fim de praticar produção mais sustentável, visto que cultivos tradicionais exigem grande volume de água e por consequência volume significativo de efluentes que podem causar efeitos nocivos ao meio ambiente, como destruição de sítios naturais, disseminação de doenças, diminuição da biodiversidade e poluição das águas (BOYD, 2003; FERRI, ROCHA e BRAZ FILHO, 2018).

A incorporação adequada de tratamento de água no circuito de recirculação ou na saída do efluente pode contribuir significante na redução dos resíduos, e com a utilização dos filtros biológicos os elementos tóxicos como amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) pode ser removido. Desta forma, o SRA coopera na solução das problemáticas ambientais citadas acima, além disso viabiliza o cultivo em qualquer local, como em lugares com escassez hídrica, e também permite maiores densidades de estocagem (FERRI; ROCHA; BRAZ FILHO, 2018; VAN RIJN, 2013).

De acordo com Bregnballe *et al.* (2015), o princípio básico da recirculação compõe-se de filtro mecânico, em seguida filtro biológico e a água é devolvida aos tanques de cultivo depois da aeração e remoção de dióxido e carbono. Segundo mesmo autor, podem ser adicionados outros itens no circuito de SRA dependendo das necessidades de cada tipo de produção, como oxigenação, luz ultravioleta ou desinfecção por ozônio, regulação automática de pH, troca de calor, desnitrificação e entre outros (Figura 3).

Figura 3: Princípio de Sistema de Recirculação de Água (SRA).



Fonte: Adaptado de Bregnballe *et al.* (2015).

Já existem diversos estudos de cultivo de *C. macropomum* em SRA na fase juvenil, como densidade de estocagem, restrição alimentar, resistência ao estresse e cultivo em diferentes cores de tanque (ASSIS *et al.*, 2020; BOAVENTURA *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021). Também, as pesquisas vêm apresentando bons resultados em desempenho e sobrevivência das larvas desta espécie em SRA (SANTOS; JULIO; LUZ, 2020; SANTOS *et al.*, 2022).

### 3.3. Larvicultura

Posterior a reprodução artificial, através da técnica de indução hormonal, os ovos fertilizados são mantidos em incubadora até a eclosão dos mesmos (MORAIS; O'SULLIVAN, 2017), período chamado de fase embrionária (GODINHO, 2007). Durante esta fase, os ovos seguem os principais estádios de desenvolvimento embrionário: zigoto, clivagem, blástula, gástrula, segmentação e organogênese, larval e eclosão (NINHAUS-SILVEIRA *et al.*, 2006). E esse tempo de desenvolvimento até a eclosão é de 14 à 18 horas incubando em temperatura de água de 25 a 29 °C (MORAIS; O'SULLIVAN, 2017).

Após a eclosão o animal é considerado como larva até reabsorção do vitelo e início de uma alimentação exógena (HELFMAN *et al.*, 2000). Durante este período ocorre diversos eventos de desenvolvimento larval que incluem reabsorção constante do vitelo, formação do sistema digestório, abertura da boca, pigmentação dos olhos, flexão da notocorda, inflação da bexiga natatória, desenvolvimento das nadadeiras e entre outros (SANTOS; GODINHO, 2002; GODINHO, 2007). O período desse estágio depende das condições ambientais e da espécie, as bocas das larvas de tambaqui abrem cerca de 36 horas após a eclosão, quando inicia a alimentação exógena (FERNANDES; DIÓGENES, 2012; PEDREIRA *et al.*, 2015; MORAIS; O'SULLIVAN, 2017).

Com a reabsorção do vitelo e com a abertura da boca, inicia-se a próxima fase chamada pós-larva, com comprimento de 5 a 7 mm (Figura 4). Nesta fase, o animal inicia a alimentação exógena, com consumo de organismos vivos menores como zooplâncton e minúsculas larvas de insetos devido ao seu menor tamanho da boca e sistema digestório imaturo (DIEMER *et al.*, 2012; FERNANDES; DIÓGENES, 2012; MORAIS; O'SULLIVAN, 2017) e com decorrer do tempo pode fornecer a ração farelada com 50% de proteína, aproximadamente, para atender à exigência nutricional de pós-larva de tambaqui (TAVARES-DIAS *et al.*, 2013; PEDREIRA *et al.*, 2015).

Figura 4: Larva de *Colossoma macropomum* com aproximadamente 6 mm com idade 6 DAE.



Fonte: O autor.

O bom manejo alimentar, com fornecimento de alimentos e rações de qualidade, durante a fase de pós larva é fundamental para o desenvolvimento do animal no decorrer do tempo (DIÓGENES, 2012; ALAMI-DURANTE *et al.*, 2014). Quando este manejo é realizado inadequadamente, ou tardia, afeta na sobrevivência, no comportamento alimentar, crescimento, canibalismo e baixa resistência imunológica (DIEMER *et al.*, 2012; TAVARES-DIAS *et al.*, 2013; LUZ. PORTELLA, 2015).

Na larvicultura, a alimentação de pós-larvas comumente utilizada são os náuplios de artêmias (RODRIGUES *et al.*, 2012; HAYASHI, 2014). O fornecimento de alimento vivo nos primeiros dias de vida do animal é essencial para o organogênese e bom desenvolvimento larval (MENOSSI *et al.*, 2012). O movimento das presas na coluna d'água induz maior estímulo em larva para consumir as presas, portanto favorecendo a performance zootécnica (BENGTSON 2003; WEINGARTNER; ZANIBONI-FILHO, 2004).

### 3.4. *Artemia sp.*

As artêmias (Figura 5) são microcrustáceo da classe Branchiopoda, ordem Anostraca, devido à falta de uma carapaça verdadeira, e da família Artemidae. (CONCEIÇÃO *et al.*, 2010; ITIS, 2020). São documentadas na literatura oito espécies desse organismo: *Artemia franciscana*, *Artemia persimilis* e *Artemia monica* em Novo Mundo; e *Artemia salina*, *Artemia urmiana*, *Artemia sinica*, *Artemia sp.* e *Artemia tibetiana* em Velho Mundo (HOU *et al.*, 2006). Essas espécies podem diferir consideravelmente no diâmetro dos cistos, no comprimento dos náuplios nascidos, em eficiência de incubação, taxa de crescimento, e na composição

bioquímica (VAN STAPPEN, 1996), entretanto ainda há desacordos e controversas na taxonomia destas espécies (CONCEIÇÃO *et al.*, 2010).

Figura 5: Náuplio de artêmia recém eclodida.



Fonte: Mayorga, P. *et al.* (2010).

Esses organismos habitam em ambientes salinos, tolerando variações de salinidade entre 3 e 300‰ (TREECE, 2000), e são encontrados em lagos e lagoas salgadas e costeiras em todo o mundo, exceto na Antártica (CÂMARA, 1996). Em continente americano, as populações de artêmias habitam em todo o litoral salino, principalmente em Peru e no Estado do Rio Grande do Norte, em Brasil (VINATEA, 1994; CÂMARA, 2004).

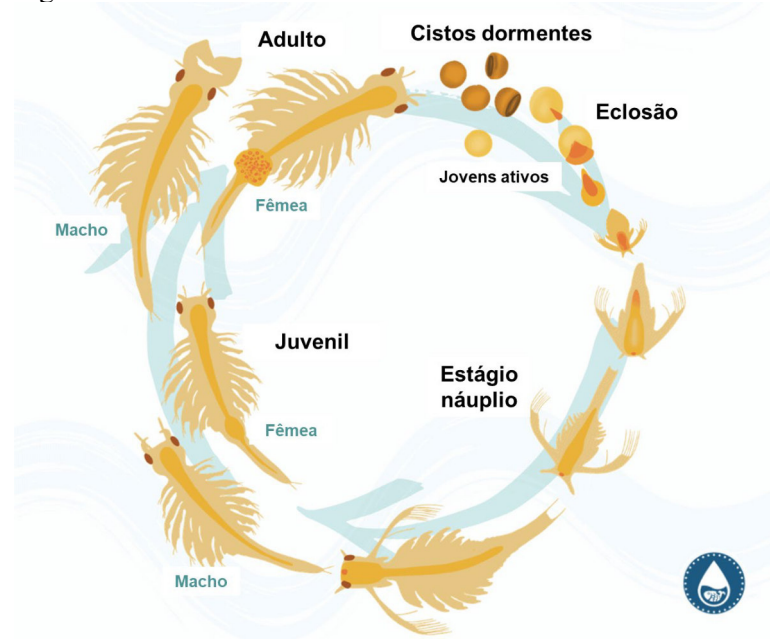
Segundo Van Stappen (1996), as artêmias toleram ambientes de baixos níveis de oxigênio dissolvidos em altas salinidades por possuírem um eficiente sistema de osmorregulação capazes de sintetizar pigmentos respiratórios. Além disso, esses animais são capazes de produzir cistos em diapausa (cistos inativos) quando estão em ambientes que comprometem a sobrevivência da espécie, podendo se manter dessa forma por cinco anos ou mais até encontrar ambiente agradável para continuidade do seu ciclo de vida (CORREA; PENAFORT, 2011).

Em ambiente natural, o ciclo de vida da *Artemia sp.* inicia com a produção de cistos inativos que são transportados pela ação de vento e das ondas. Quando esses cistos imergem em água salina, os cistos são ativados após a hidratação da mesma. Após as 20 hrs aproximadamente, a membrana externa do cisto é rompido e surge o embrião. Posterior a este evento, a *Artemia sp.* segue quatro estágios (Figura 5) de desenvolvimento morfológico:



náuplio (instar I), metanáuplio (instar II), pré-adulto e adulto, e esse período corresponde a oito dias de desenvolvimento (VAN STAPPEN, 1996; IGARASHI, 2008).

Figura 6: Ciclo de vida de artêmia.



Fonte: Adaptado de Page, A. (2021).

E os náuplios de artêmia são comumente utilizados na larvicultura para alimentação de pós-larvas de peixes (RODRIGUES *et al.*, 2012; HAYASHI, 2014) em razão de serem mais lentos e visíveis para pós-larvas capturarem e por apresentarem alto valor proteico, energético e de aminoácidos livres, comparada com a fase de metanáuplio, e com enzimas que facilitam a digestão pelas pós-larvas de peixes que ainda não possuem trato digestório completo (RONNESTAD *et al.*, 1999; SORGELOOS *et al.*, 2001; SILVA; MENDES, 2006).

Além disso, é de fácil produção laboratorial que torna este alimento vivo viável e menos trabalhoso para utilizar na aquicultura (DIEMER *et al.*, 2012). Visto que a eclosão de cistos de artêmias decorre apenas da incubação das mesmas por aproximadamente 20hrs em água salinizada em 25‰, temperatura da água entre 25 e 28 °C e manter em aeração constante para obter náuplios de artêmia, que se mantêm por oito horas após a eclosão (STAPPEN, 1996; BEUX; ZANIBONI FILHO, 2006; CONCEIÇÃO *et al.*, 2010).

Entretanto, como as artêmias se tratam de organismos de origem marinha, quando ela é inserida em água dulcícola, onde os peixes são cultivados, os microcrustáceos sobrevivem por breves períodos (STAPPEN, 1996; TREECE, 2000). Logo, quando administrados de forma

errônea, as artêmias mortas depositam no fundo dos tanques tornando-as indisponíveis para o consumo das larvas além de promover degradação da qualidade da água (WEINGARTNER; ZANIBONI-FILHO, 2004; BEUX; ZANIBONI-FILHO, 2006). E, mesmo que sejam ingeridos pelo animal, as artêmias mortas apresentam baixo teor nutritivo devido à oxidação dos ácidos graxos e degradação das proteínas (KERDCHUEN; LEGENDRE, 1994).

Dessa forma, o sucesso da larvicultura depende do alimento a ser ofertada, atendendo o alimento balanceado e refletir a melhor taxa de sobrevivência e juvenis de qualidade (CONCEIÇÃO *et al.*, 2009; FERNANDES; DIÓGENES, 2012). Pesquisas sobre efeitos do alimento no desenvolvimento muscular dos peixes nas fases iniciais de crescimento são essenciais para criar estratégias de produção (FAUSTINO *et al.*, 2010; TAVARES-DIAS *et al.*, 2013), dado que o pescado é um dos alimentos importantes para consumo humano (PEIXE BR, 2022).

### **3.5. Miogênese**

Cerca de 60% da massa corporal é constituída de músculo esquelético em maioria dos peixes, sendo a maior parte é a porção de filé, compreendendo a parte mais valiosa do peixe para a indústria da aquicultura (JOHNSTON, 2001; SILVA *et al.*, 2009). Esta musculatura está intimamente relacionada com a fisiologia do animal, a qual possibilita os movimentos natatórios e a adaptação ao meio aquático, também representando a principal reserva proteica aos peixes (JOHNSTON, 2001; SÄNGER; STOIBER, 2001).

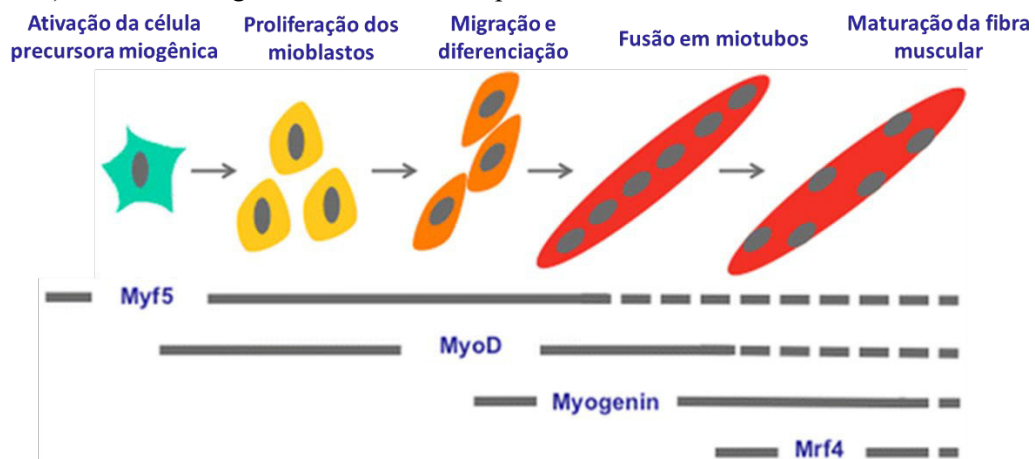
O crescimento muscular em peixes ocorre durante toda a sua vida, de forma ininterrupta, e envolve os mecanismos de hiperplasia, aumento do número de fibras musculares, e hipertrofia, aumento do volume das fibras musculares (RONCANCIO; SOUZA; VIGOYA, 2021). Durante fases iniciais do crescimento em maioria das espécies, é predominado a maior taxa de crescimento por hiperplasia e diminui com o avançar da idade, o qual esta contribuição não excede 50% do crescimento muscular (ALFEI *et al.*, 1994; MOMMSEN, 2001). E o crescimento hipertrófico das fibras musculares ocorre em todos os estágios de desenvolvimento, entretanto ocorre principalmente em fases juvenil e adulta (VEGETTI *et al.*, 1993; PATRUNO *et al.*, 1998).

A formação e diferenciação muscular (miogênese) durante a embriogênese ocorrem em três fases nos peixes: 1) Formação do miótomo originado do mesoderma paraxial do embrião,

os quais serão as fontes para o crescimento muscular; 2) Em estágio larval ocorre recrutamento e proliferação de mioblastos presentes na superfície dorsal e ventral do miótomo, processo denominado de crescimento hipertrófico estratificado, responsável pelo aumento dos compartimentos musculares em espessura; 3) Por fim, recrutamento e formação de novas fibras musculares entre as fibras já existentes, em posições dispersas no miótomo, dessa forma apresentando uma aparência de mosaico à musculatura quanto ao tamanho das fibras musculares. Esta etapa de crescimento ocorre nas fases juvenis e adultas dos peixes (OCHI; WESTERFIELD, 2007; STAINBACHER *et al.*, 2007; JOHNSTON; BOWER; MACQUEEN, 2011).

A miogênese envolve a especificação de célula tronco para formação de uma população de células progenitoras miogênicas (*Myogenic Progenitor Cell, MPC*). Para ocorrer a proliferação e diferenciação das MPC's, essas células envolve a expressão de alguns fatores regulatórios miogênicos (*Myogenic regulatory factors, MRFs*) já identificados e claramente entendidos em peixes, denominados: *myod*, (fator determinante de mioblastos), *myf5* (fator miogênico 5), *myog* (miogenina) e *mrf4* (fator miogênico 6), os quais compreendem um sub-grupo dentro da hélice-volta hélice (*bHLH*) superfamília de proteínas básicas (Figura 2) (JOHNSTON, 2006; ZANOU; GAILLY, 2013; VÉLEZ *et al.*, 2016).

Figura 7: Expressão sequencial e regulação realizada pelos fatores regulatórios miogênicos (MRFs) durante a miogênese do músculo esquelético.



Fonte: Adaptado de Zanou e Gailly (2013).

Os *myod* e *myf5*, conhecidos como fatores primários da *MRFs*, direcionam as células progenitoras miogênicas em proliferação para uma linhagem miogênica e determina a ativação

e proliferação de mioblastos (MEGENEY; RUDNICKI, 1995; ZANOUE; GAILLY, 2013). Os níveis das suas expressões estão altos durante os estágios iniciais de crescimento muscular interferindo diretamente na proliferação de mioblastos e hiperplasia celular (BANCROFT; STEVENS, 1990; JOHANSEN; OVERTURF, 2005; VÉLEZ *et al.*, 2016).

E as expressões dos fatores secundários da *MRFs*, o *myog* e *myf4*, determinam o processo de diferenciação e fusão dos mioblastos para formação dos miofibras (ZANOUE; GAILLY, 2013). A expressão desses *MRFs* secundários ocorre com mais intensidade em fase adulta dos animais, envolvendo na diferenciação de mioblastos e hipertrofia das fibras musculares (MEGENEY; RUDNICKI, 1995; RUDNICKI; JAENISCH, 1995; WATABE 2000).

Além dos *MRFs* a miostatina (*mstn*) também atua na regulação do crescimento muscular (SHAHI; MALLIK; SARMA, 2022). Conhecida também como fator de crescimento e diferenciação-8 (*GDF-8*), pertencente à superfamília beta do fator de crescimento transformador (*TGF $\beta$* ) e atua como regulador negativo do desenvolvimento e crescimento do músculo esqueléticos (SHARMA *et al.*, 1999; THOMAS *et al.*, 2000).

Este gene apresenta interação direta com o hormônio de crescimento (*GH*) nas fibras musculares e regula nas expressões dos *MRFs*, assim, controlam as proliferações e as diferenciações nos mioblastos e nas fibras musculares por meio da estimulação ou inibição dos fatores miogênicos (GARIKIPATI; RODGERS, 2012; LIU *et al.*, 2003).

Quando a *mstn* apresenta mutações, o animal pode apresentar “músculos duplos” como relatado em bovinos (MCPHERRON; LEE, 1997; SMITH *et al.*, 2000) e em camundongos (SZABÓ *et al.*, 1998; ZHU *et al.*, 2000). Em peixes também apresentam associações de desempenho zootécnico com os polimorfismos encontrados em *mstn* (CHENG; SUN, 2015; NAZARI *et al.*, 2016; YANHONG *et al.*, 2017).

## REFERÊNCIAS

- ABELHA, M. C. F.; AGOSTINHO, A. A.; GOULART, E. Plasticidade trófica em peixes de água doce. **Acta Scientiarum**, Maringá, n. 23, p. 425-434, 2001.
- ALAMI-DURANTE et al. Early decrease in dietary protein: energy ratio by fat addition and ontogenetic changes in muscle growth mechanisms of rainbow trout: short-and long-term effects. **British journal of nutrition**, v. 112, n. 5, p. 674-687, 2014.
- ALFEI, L. et al. PCNA/cyclin expression and BrdU uptake define proliferating myosatellite cells during hyperplastic muscle growth of fish (*Cyprinus carpio* L.). **European Journal of Histochemistry**, v. 38, p. 151-162, 1994.
- ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. C. **Tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, cap. 8, p. 175-202. 2005.
- ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOULDING, M. **Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 186 p, 1998.
- ARIDE, P. H. R.; R. E ROUBACH e A. L. VAL. Water pH in central Amazon and its importance for tambaqui (*Colossoma macropomum*) culture. **World Aquaculture**, 35: 24-27, 2004.
- ASSIS, Y. P. A. S. *et al.* Feed restriction as a feeding management strategy in *Colossoma macropomum* juveniles under recirculating aquaculture system (RAS). **Aquaculture**, v. 529, p. 735689, 2020.
- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. de C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. ver. e ampl. Santa Maria, Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 606p, 2010.
- BANCROFT, J. D. e STEVENS, A. **Theory and Practice of Histological Techniques**. **Churchill Livingstone**, Edinburg, UK, 3rd edition, 1990.
- BARTHEM, R.; FERREIRA, E.; GOULDING, M. As migrações do Jaraqui e do tambaqui no rio Tapajós e suas relações com as usinas hidrelétricas. **Fernandes Alarcon et al.**, note, v. 7, p. 479-510, 2016.
- BENGTSON, D. A. Status of marine aquaculture in relation to live prey: past, present and future. **Live feeds in marine aquaculture**, p. 1-16, 2003.
- BEUX, L. C. e ZANIBONI FILHO, E. influência da baixa salinidade na sobrevivência de náuplios de *Artemia* sp. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 32(1): 73-77, 2006.
- BOAVENTURA, T. P. *et al.* Cultivation of juvenile *Colossoma macropomum* in different colored tanks in recirculating aquaculture system (RAS): Effects on performance, metabolism and skin pigmentation. **Aquaculture**, v. 532, p. 736079, 2021.
- BOYD, C. E. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. **Aquaculture** 226, 101-112. 2003.
- BREGNBALLE, J. *et al.* **A guide to recirculation aquaculture**: an introduction to the new environmentally friendly and highly productive closed fish farming systems. FAO. EUROFISH. 2015. 100 p.

- BUSTIN, S. A. et al. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. **Clinical Chemistry**, 55:4, 2009.
- CÂMARA, M. R. Artemia no Brasil: em busca de um modelo autossustentável de produção. **Panorama da aquicultura**, Rio de Janeiro, v.10, n.62, p.16-19, 1996.
- CÂMARA, M. R. Cistos de Artemia: oscilações globais de produção, mistérios científicos e desafios tecnológicos. **Panorama da aquicultura**, Rio de Janeiro, v.14, n. 83, p.24-29, 2004.
- CHENG, L., SUN, Y. H. Polymorphisms in a myostatin gene and associations with growth in a hybrid of *Culter alburnus* and *Ancherythroculter nigrocauda*. **Genetics and Molecular Research**, 14 (2): 5615-5620, 2015.
- CONCEIÇÃO, L. E. C. et al. Avanços recentes em nutrição de larvas de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.38, no.spe. p. 26-35, 2009.
- CONCEIÇÃO, L. E. C. et al. Live feeds for early stages of fish rearing. **Aquaculture research**, v. 41, n. 5, p. 613-640, 2010.
- CORREA, J. M. e PENAFORT, J. M. Considerações sobre biologia e utilização de *Artemia* sp. (CRUSTACEA: BRANCHIOPODA: ANOSTRACA). REDVET. **Revista Electrónica de Veterinaria**, vol. 12, n. 12, pp. 1-11, dezembro, 2011.
- CORREA, R. O. e SOUSA, A. R. B.; MARTINS JUNIOR, H. **Criação de tambaquis**. Brasília, DF: Embrapa. 2018.
- DAIRIKI, J. K. e DA SILVA, T. B. A. **Revisão de literatura: exigências nutricionais do tambaqui** – compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. Manaus: Embrapa Amazonia Ocidental, Documento 91, 44 p. 2011.
- DHONT, J. et al. Rotifers, Artemia and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. In: **Advances in aquaculture hatchery technology**. Woodhead Publishing, 2013. p. 157-202.
- DIEMER, O. et al. Artemia sp. na alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 2, p. 175-179, 2012.
- FAUSTINO, F. et al. Structural and ultrastructural characterization of the embryonic development of *Pseudoplatystoma* spp. Hybrids. **International Journal of Developmental Biology**, Vizcaya, v. 54, p. 723-730, 2010.
- FERNANDES, J. B. e DIÓGENES, A. Larvicultura de peixes: Cresce a necessidade da obtenção de larvas de boa qualidade, que pode ser por extrativismo ou por produtores especializados. mar. 2012. Disponível em: <<http://diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=26258&secao=Agrotomas>>. Acesso em: 31 jul. 2020.
- FERRI, L. S.; SOUZA, W.; BRAZ FILHO, M. S. P. Tendências e tecnologias sustentáveis na aquicultura: recirculação, aquaponia e bioflocos. **Incap em Revista**, Vitória, v.9, p. 66-78, jan/dez 2018. ISSN 2179-5304. 2018.
- GARIKIPATI, D. K. e RODGERS, B. D. Myostatin inhibits myosatellite cell proliferation and consequently activates differentiation: evidence for endocrine-regulated transcript processing. **Journal of Endocrinology**. 215 (1), 177–187, 2012.
- GODINHO, H. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 351-360, 2007.

- GOMES, L.C.; SIMÕES, L.N.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M. **Tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. In: BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2ª ed. Santa Maria: Editora da UFSM. p.175-204. 2010.
- GRAÇA, W. J. e PAVANELLI, C. S. **Peixes da planície de inundação do Alto Rio Paraná e áreas adjacentes**. Maringá: EDUEM, 241 p. 2007
- HAYASHI, C. Desenvolvimento inicial das larvas de dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816); suplementados com plâncton, artêmia e rações, em cultivos experimentais. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 10, n. 3, 2014.
- HELFMAN, G. S.; COLLETTE, B. B.; FACEY, D. E. The diversity of fishes. **Blackwell Science**, Massachusetts, p. 117-134, 2000.
- HOU, L. et al. Molecular systematics of bisexual *Artemia* populations. **Aquaculture Research**, 37, 671-680, 2006.
- IBGE. **Pesquisa da pecuária municipal**: Tabela 3940 - Produção da aquicultura, por tipo de produto. 2021. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>>. Acesso em: 5 ago. 2022.
- IGARASHI, M. A. Potencial econômico das Artêmias produzidas em regiões salineiras do Rio Grande do Norte. **PUBVET**, Londrina, v.2, n.31, Art. 386, 2008.
- ITIS. ***Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816)**. 2020. Disponível em: <[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=639908#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=639908#null)>. Acesso em: 17 jul. 2020.
- JOHANSEN, K.A. e OVERTURF, K. Quantitative expression analysis of genes affecting muscle growth during development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Marine Biotechnology**, 7 (6), 576–587, 2005.
- JOHNSTON, I. A. Genetic and Environmental Determinants of Muscle Growth Patterns. In **Muscle development and growth**, p. 141–186. 2001.
- JOHNSTON, Ian A. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 12, p. 2249-2264, 2006.
- JOHNSTON, Ian A.; BOWER, Neil I.; MACQUEEN, Daniel J. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 214, n. 10, p. 1617-1628, 2011.
- JOMORI, R. K. et al. Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 809-815, 2013.
- KERDCHUEN, N. e LEGENDRE, M. Larvae rearing of the African catfish *Heterobranchus longifilis* (Teleostei, Clariidae): a comparison between natural and artificial diet. **Aquatic Living Resources**, Paris, 7: 247 – 253. 1994.
- KUBITZA, F. e ONO, E. A. Os caminhos da produção de peixes nativos no Brasil: Uma análise da produção e obstáculos da piscicultura. **Panorama da Aquicultura**, p. 14–23, 2007.
- LANDAU, M. **Culture systems**. In: Landau M. Introduction to aquaculture. New York: John Wiley, 1992. p.112 - 118.
- LIMA, J. C. et al. Post-larval *Colossoma macropomum* (Characiformes, Serrasalminidae) show better performance in excavated than concrete tanks under different feeding strategies. **Acta Scientiarum**. Biological Sciences, v. 43, p. e52054-e52054, 2021.

- LIU, W. et al. Myostatin is a skeletal muscle target of growth hormone anabolic action. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 88, 11, 5490–5496, 2003.
- LUZ, R. K. e PORTELLA, M. C. Effect of prey concentrations and feed training on production of *Hoplias lacerdae* juvenile. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, p. 1125-1132, 2015.
- MAYORGA, P. et al. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 897-903, 2010.
- MCPHERRON, A.C. e LEE, S.J. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. USA 94, 12457–12461, 1997.
- MEGENEY, L.A. e RUDNICKI, M.A. Determination versus differentiation and the MyoD family of transcription factors. **Biochemistry and Cell Biology**, 73, 723–732. 1995.
- MENOSSE, O. C. C. et al. Crescimento e estruturas do sistema digestório de larvas de pacu alimentadas com dieta microencapsulada produzida experimentalmente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 1-10, 2012.
- MOMMSEN, T.P. Paradigms of growth in fish. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.129, p.207-219, 2001.
- MORAIS, I. S. e O’SULLIVAN, F. L. A. Biologia, habitat e cultivo do tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1816). **Scientia Amazonia**, v. 6, n. 1, 81-93, 2017.
- MOREIRA, H. L. M. et al. **Fundamentos da moderna aquicultura**. Canoas: ULBRA, 200 p. 2001.
- MORI, R. H. **Análises morfológicas, histoquímicas e ultraestruturais do tubo digestivo de tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1816)**. Jaboticabal. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2016.
- NAZARI, S., et al. Association between myostatin gene (MSTN-1) Polymorphisms and growth traits in domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Agri Gene**, 1, pp. 109–115, 2016.
- NINHAUS-SILVEIRA, A.; FORESTI, F.; AZEVEDO, A. Structural and ultrastructural analysis of embryonic development of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Characiforme; Prochilodontidae). **Zygote**, v. 14, p. 217-229, 2006.
- OCHI, H. e WESTERFIELD, M. Signaling networks that regulate muscle development: Lessons from zebrafish. **Development Growth Different**, v.49, p.1-11, 2007.
- PATRINO, M. et al. Muscle growth in response to changing demands of functions in the teleost *Sparus aurata* (L.) during development from hatching to juvenile. **Anatomy Embryology**, v.198, p.487-504, 1998.
- PEDREIRA, M. M.; SCHORER, M.; FERREIRA, A. L. Use of different diets in first feeding of tambaqui larvae. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.16, n.2, p.440-448 abr./jun., 2015.
- PEDREIRA, M. M.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Effect of light green and dark brown colored tanks on survival rates and development of tambaqui larvae, *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, Serrasalmidae). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 521-525, 2001.



- PEGE, A. Brine Shrimp (*Artemia*) – Feeding, Life Cycle, And Care Guide. Tankarium. 2021. Disponível em: <https://www.tankarium.com/brine-shrimp/>. Acesso em: 3 ago. 2022.
- PEIXE BR. **Anuário Peixe BR DA Piscicultura 2022**. Associação Brasileira da Piscicultura, São Paulo. 2022. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>. Acesso em: 4 ago. 2022.
- RIBEIRO, F. M. et al. Food and nutrition Pirapitinga (*Piaractus brachypomums*) and Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Pubvet**, v. 10, n. 12, p. 873-882, 2016.
- ROCHA, C. M. C. et al. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 48, n. 8, p. iv-vi, 2013.
- RODRIGUES, R. V. et al. Crescimento e sobrevivência de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*: Efeitos do enriquecimento da *Artemia* sp. com N-3 HUFA. **Atlântica**, Rio Grande, 34(2) 121-127, 2012.
- RONCANCIO, C. O. S.; SILVA SOUZA, J. G.; VIGOYA, A. A. A. Influência de fatores abióticos sob miogênese de peixes teleósteos. **CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 15, n. 3, p. 41-50, 2021.
- RONNESTAD, I.; THORSEN, A. e FINN, R. N. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. **Aquaculture**, 177: 201-216. 1999.
- ROTTA, M.A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. Corumbá: Embrapa Pantanal. 48p. 2003.
- RUDNICKI, M. A. e JAENISCH, R. The MyoD family of transcription factors and skeletal myogenesis. **BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology**, Weinheim, v. 17, n. 3, p. 203–209, mar. 1995.
- SÄNGER, A. M. e STOIBER, W. Muscle fiber diversity and plasticity. In **Muscle development and growth** (ed. Johnston, I. A.), San Diego: Academic Press, p. 187–250. 2001.
- SANTOS, F. A. C. et al. Growth performance and physiological parameters of *Colossoma macropomum* in a recirculating aquaculture system (RAS): Importance of stocking density and classification. **Aquaculture**, v. 534, p. 736274, 2021.
- SANTOS, F. A. C.; COSTA, J. G. S.; LUZ, R. K. Stocking density in *Colossoma macropomum* larviculture, a freshwater fish, in recirculating aquaculture system. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 3, p. 1185-1191, 2021.
- SANTOS, F. A. C. et al. High stocking densities in the larviculture of *Colossoma macropomum* in a recirculating aquaculture system: Performance, survival and economic viability. **Aquaculture**, v. 552, p. 738016, 2022.
- SANTOS, J. E. e GODINHO, H. P. Ontogenic events and swimming behavior of larvae of the characid fish *Salminus brasiliensis* (Cuvier) (Characiformes, Characidae) under laboratory conditions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.19, n.1, p. 163-171, jan./fev. 2002.
- SANTOS, J. C. E.; SOUZA, C. E.; LUZ, R. K. Efeito da concentração diária de náuplios de *Artemia* na produção de juvenis de *Lophosilurus alexandri*. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, n. especial, p. 771-776, 2018.
- SANTOS, S. S. et al. Larvicultura do tambaqui em diferentes densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 2, n. 3, p. 18-25, 2007.

- SHARMA, M., et al. Myostatin, a transforming growth factor-beta superfamily member, is expressed in heart muscle and is up regulated in cardiomyocytes after infarct. **Journal of Cellular Physiology**. 180, 1–9, 1999.
- SILVA, A. P.; MENDES, P. P. Influência de duas dietas na qualidade de água dos tanque berçário, utilizados no cultivo de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 28, n. 1, p. 105-111, 2006.
- SILVA, C. R.; GOMES, L. C.; BRANDÃO, F. R. Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages. **Aquaculture**, v. 264, n. 1-4, p. 135-139, 2007.
- SILVA, P. et al. Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle in blackspot seabream *Pagellus bogaraveo* from hatching to juvenile. **Journal of fish biology**, Malden, v. 74, n. 1, p. 37–53, jan. 2009.
- SILVA, W. S. et al. Effects of stocking density on survival, growth and stress resistance of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) reared in a recirculating aquaculture system (RAS). **Aquaculture International**, v. 29, n. 2, p. 609-621, 2021.
- SMITH, J.A. et al. Genetic variation in the bovine myostatin gene in UK beef cattle: allele frequencies and haplotype analysis in the South Devon. **Animal Genetic**. 31, 306–309, 2000.
- SORGELOOS, P.; DHERT, P.; CANDREVA, P. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. **Aquaculture**, v. 200, n. 1-2, p. 147-159, 2001.
- STAINBACHER, P. et al. MyoD and miogenina expression during myogenic phases in brown trout: a precocious onset of mosaic hyperplasia is a prerequisite for fast somatic growth. **Development Dynamics**, v.236, p.1106-1114, 2007.
- STREIT JÚNIOR, D. P. et al. Recomendações técnicas para a reprodução do tambaqui. **Embrapa Meio-Norte-Documentos (INFOTECA-E)**, 2012.
- SZABÓ, G., et al. A deletion in the myostatin gene causes the compact (Cmpt) hypermuscular mutation in mice. **Mammalia Genome**, 9, 671–672, 1998.
- TAVARES-DIAS, M., et al. **Sanidade do Tambaqui *Colossoma macropomum* nas fases de larvicultura e alevinagem**. Embrapa Amapá-Documentos (INFOTECA-E). Macapá: Embrapa Amapá; Manaus: Universidade Nilton Lins, Instituto de Pesquisas da Amazônia, 42p., 2013.
- THOMAS, M., et al. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. **Journal of Biological Chemistry**. 275 (51), 40235–40243, 2000.
- TREECE, G.D. **Artemia production for marine larval fish culture**. SRAC: Southern Regional Aquaculture Center, Publication No 702. 2000.
- VAL, A e HONCZARYK, A. **A Criação de peixes na Amazônia: Um futuro promissor** In: Criando Peixes na Amazônia. Ed. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus. AM. p 1-5. 1995.
- VAL, A.L. Adaptations of fishes to extreme conditions in freshwater. In: Bicudo, J.E. (Ed). The vertebrate gas transport cascade: adaptation to environment and mode of life. **CRC Press**, Boca Raton, 43-53. 1993.
- VALENTI, W. C. et al. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, p. 100611, 2021.

- VAN RIJN, J. Waste treatment in recirculating aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v. 53, p. 49-56, 2013.
- VAN STAPPEN, G. **Introduction, biology and ecology of Artemia**. In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper (ed. By P. Lavens & P. Sorgeloos), pp.79-106. FAO, Rome, Italy. 1996a.
- VAN STAPPEN, G. **Use the cyst**. In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper (ed. By P. Lavens & P. Sorgeloos), pp.79-123. FAO, Rome, Italy. 1996b.
- VAZZOLER, A. E. A. e MENEZES, N. A. Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysi). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, n. 4, p. 627-640, 1992.
- VEGGETTI, A. et al. Muscle growth and myosin isoform transitions during development of a small teleost fish (*Poecilia reticulata*) (Atheriniformes, Poeciliidae): a histochemical, immunohistochemical, ultrastructural and morphometric study. **Anatotomy and Embryology**, v.187, p.353-361, 1993.
- VÉLEZ, E. J. et al. Understanding fish muscle growth regulation to optimize aquaculture production. **Aquaculture**, v. 467, p. 28-40, 2017.
- VÉLEZ, E. J. et al. Contribution of in vitro myocytes studies to understanding fish muscle physiology. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 199, p. 67-73, 2016.
- VINATEA, J.E. e VEGA, A.L. **Piscicultura tropical: peces nativos y exóticos**. Lima: Oficina General de Editorial, 338p, 1994.
- WATABE, S. Myogenic regulatory factors. **Fish Physiology - Muscle Development and Growth**, I. A. Johnston, Ed., vol. 18, pp. 19–41, Academic Press, San Diego, Calif, USA, 2000.
- WEINGARTNER, M. e ZANIBONI FILHO, E. The effect of abiotic factors on the larviculture of pintado amarelo *Pimelodus maculatus* (Lacépède 1803): salinity an tank color. **Acta Scientiarum-Animal Sciences**, v. 26, n. 2, p. 151-157, 2004.
- YANHONG, S., et al. Polymorphisms in the *Myostatin - 1* gene and their association with growth traits in *Ancherythro culternigrocauda*. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, Vol. 35 No. 3, P. 597-602, 2017.
- ZANOU, N. e GAILLY, P. Skeletal muscle hypertrophy and regeneration: interplay between the myogenic regulatory factors (MRFs) and insulin-like growth factors (IGFs) pathways. **Cellular and Molecular Life Sciences**. 70, 4117–1534 4130. 2013.
- ZHU, X., et al. Dominant negative myostatin produces hypertrophy without hyperplasia in muscle. **FEBS Letters**. 474, 71–75, 2000.

## CAPÍTULO II

### **Crescimento, sobrevivência e expressão dos genes miogênicos nas larvas de *Colossoma macropomum* alimentadas com densidades crescentes de náuplios de Artêmias**

Submissão a revista científica: *Aquaculture*.

ISSN: 0044-8486

1 **Crescimento, sobrevivência e expressão dos genes miogênicos nas pós-larvas**  
2 **de *Colossoma macropomum* alimentadas com náuplios de Artêmia**

3

4 **Resumo**

5

6 O náuplio de Artêmia é o alimento comumente utilizado na larvicultura de peixes devido ao  
7 seu alto valor proteico, energético, de aminoácidos livres e com enzimas que facilitam a  
8 digestão e desenvolvimento das pós-larvas. Entretanto, por tratar de um insumo com elevado  
9 preço é necessário evitar desperdício na larvicultura. Nesse contexto, foram avaliados os efeitos  
10 de cinco densidades de náuplios de Artêmia (NA) (100, 250, 500, 750 e 1000 NA/pós-larva),  
11 em triplicata, no crescimento, sobrevivência, qualidade da água e expressão dos genes  
12 miogênicos *myod*, *myog* e *mstn* do tambaqui, *Colossoma macropomum*. O experimento foi  
13 realizado em um sistema de recirculação com larvas com 6º dia após a eclosão (DAE) por duas  
14 semanas, período em que é realizada a primeira alimentação de larvas de tambaqui. Não houve  
15 diferença significativa na sobrevivência entre os tratamentos testados após 14 dias  
16 experimentais. Na primeira semana, as larvas alimentadas com menos de 500 NA/pós-larva  
17 tiveram crescimento significativamente menor e na segunda semana as larvas alimentadas com  
18 1000 NA/pós-larva foram os que apresentaram maior peso e comprimento final ( $p < 0,05$ ). Os  
19 níveis de expressão relativa dos genes relacionado a miogênese foram significativamente  
20 maiores nas larvas alimentadas com 100, 250 e 500 NA/pós-larva. Com base na análise de  
21 regressão segmentada e linear sobre o peso, respectivamente, na primeira semana a quantidade  
22 ideal de náuplios de Artêmia é de 411 NA/pós-larva e na segunda semana é de 1000 NA/pós-  
23 larva. Mais estudos serão necessários para associar o efeito do alimento vivo ao desempenho  
24 zootécnico e expressão dos genes miogênicos na fase inicial das pós-larvas de tambaqui.

25 Palavra – chave: Larvicultura, tambaqui, alimento vivo, qPCR.

## 26 1. Introdução

27

28 *Colossoma macropomum*, tambaqui, é a espécie nativa de maior produção no Brasil,  
29 ficando atrás apenas da tilápia (Ibge, 2021). A larvicultura desta espécie é realizada comumente  
30 de forma extensiva em viveiros (Tavares-Dias et al., 2013; Lima et al., 2021) ou em tanques de  
31 forma semi-intensiva (Pedreira; Sibaúba-Tavares, 2001; Santos et al., 2007). Larvicultura  
32 intensiva vem sendo desenvolvida recentemente em sistema de recirculação de água (SRA)  
33 (Santos et al., 2021; 2022), sendo assim importante utilizar alimento vivo compatível com o  
34 sistema de produção. Dentre as alternativas disponíveis, a utilização de náuplios de *Artêmia*  
35 apresenta custos elevados (Conceição et al., 2010; Diemer et al., 2012), porém, seu alto valor  
36 proteico, energético, aminoácidos livres e composição de fácil digestão (Ronnestad et al., 1999;  
37 Sorgeloos et al., 2001), além de sua resistência à variações ambientais, transporte e  
38 armazenamento, tornam este um dos alimentos vivos mais utilizados na larvicultura de diversos  
39 organismos aquáticos (Rodrigues et al., 2012; Hayashi, 2014).

40 O fornecimento de alimento vivo nos primeiros dias de vida da larva é fundamental para  
41 o desenvolvimento posterior dos peixes, uma vez que crescimento muscular ocorre de forma  
42 ininterrupta durante toda a sua vida (Silva et al., 2009; Alami-Durante et al., 2014). Tais  
43 fenômenos são regulados pela expressão dos fatores regulatórios miogênicos (MRFs) que  
44 incluem: fator determinante de mioblastos (*myod*) e miogenina (*myog*) (Johnston, 2006). O gene  
45 *myod* regula a taxa de crescimento por hiperplasia predominantemente nos estágios iniciais; e  
46 o gene *myog* atua no crescimento hipertrófico das fibras musculares em todos os estágios de  
47 desenvolvimento, principalmente em fases juvenil e adulta (Veggetti et al., 1993; Alfei et al.,  
48 1994; Patruno et al., 1998; Mommsen, 2001). Já a miostatina (*mstn*) atua como regulador  
49 negativo no crescimento do músculo esquelético inibindo a proliferação dos mioblastos  
50 (Sharma et al., 1999; Thomas et al., 2000).

51 Uma vez que as Artêmias são organismos de ambiente salino (Treece, 2000), sua  
52 utilização na larvicultura de organismos de água doce requer atenção à quantidade ofertada,  
53 devido aos microcrustáceos terem tempo de vida limitado em água dulcícola (Van Stappen,  
54 1996; Treece, 2000). Logo, se administradas em excesso, as Artêmias não consumidas morrem,  
55 apresentando baixo teor nutritivo, devido à oxidação dos ácidos graxos e degradação das  
56 proteínas (Kerdchuen; Legendre, 1994; Beux; Zaniboni-Filho, 2006), levando à deterioração  
57 da qualidade da água e ao aumento de custo de produção. Artêmias já foram utilizadas na  
58 larvicultura de *C. macropomum*, sendo fornecida quantidade crescente de náuplios de Artêmia  
59 por pós-larva nos primeiros dias de vida após eclosão (DAE) (Santos et al., 2021; 2022).  
60 Entretanto, ainda não foi realizada pesquisa sobre a quantidade ideal de náuplios de Artêmia ao  
61 longo da primeira alimentação para essa espécie, assim como sobre efeitos no organismo e  
62 crescimento larval.

63 Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi determinar densidade ideal de náuplios  
64 de Artêmias por larva de *C. macropomum* cultivado em SRA. Para isso os animais foram  
65 submetidos a densidades crescentes de náuplios de Artêmias (NA) entre o 6º e o 20º DAE e  
66 foram avaliadas crescimento, sobrevivência, qualidade da água e expressão relativa dos genes  
67 relacionados a miogênese *myod*, *myog* e *mstn*.

68

## 69 **2. Materiais e métodos**

70

71 O projeto do presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais  
72 da Universidade Federal Rural da Amazônia, nº 7509070720.

73

### 74 **2.1. Larvicultura de *C. macropomum* em SRA**

75

76 O cultivo de larva de *C. macropomum* foi realizado no Laboratório de Biosistemas  
77 Aquáticos Amazônicos (BIOAQUAM) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA).  
78 O SRA consistiu em 16 tanques plásticos de 60 L, sendo 15 tanques para cultivo e um de reserva,  
79 equipados com aeradores e escoamento de água de 1L/min. A renovação de 10% do volume  
80 total de água do sistema ocorreu diariamente, a partir do décimo dia de experimento. O sistema  
81 de tratamento consistiu de dois decantadores de 50 L e um biofiltro de 400 L, onde estavam 40  
82 L de tampas de garrafa pet, 40 litros de semente de *Eutерpe oleracea* (Sterzelecki et al., 2022)  
83 e uma bomba de 3000L/h. Os tanques foram sifonados diariamente antes da última alimentação.

84 Os animais ( $0,08 \pm 0,05$  mg de peso,  $6,19 \pm 0,43$  mm de comprimento total), com idade  
85 de 6° DAE, adquiridos de um laboratório de reprodução em Estado de Rondônia, Brasil  
86 (Biofish), foram distribuídos aleatoriamente em 15 tanques plásticos de 60 L com a densidade  
87 de 10 pós-larvas/L, totalizando 600 animais/tanque. Foram verificados diariamente temperatura  
88 (°C) e oxigênio dissolvido (OD, mg. L<sup>-1</sup>), com auxílio de ProODO-YSI, e pH e condutividade  
89 ( $\mu\text{S. cm}^{-1}$ ) através da sonda multiparâmetro Aquaread AP-800. Semanalmente, uma amostra de  
90 água de cada tanque foi coletada para análise de amônia tóxica, nitrito e nitrato, com auxílio do  
91 kit comercial LabconTest, e analisado em duplicata com espectrofotômetro de comprimento de  
92 onda de 630 nm e 540 nm, respectivamente, e o nitrato em 220 nm e 270 nm.

93

## 94 2.2. Artêmia e manejo alimentar

95

96 Cistos de Artêmia (Artêmia Salina do Rio Grande do Norte, Brasil) foram cultivados  
97 diariamente em tanque plástico de 15 L, com a condição de água contendo 1 g. L<sup>-1</sup> de  
98 bicarbonato de sódio e 33,33 g. L<sup>-1</sup> de cloreto de sódio, em constante aeração e iluminação. Os  
99 náuplios de Artêmia foram obtidos após 24hrs de incubação. Foram testadas cinco densidades  
100 de náuplios de Artêmia para alimentação das larvas de *C. macropomum* durante 14 dias de



101 experimento: 100, 250, 500, 750 e 1000 NA/pós-larva. Essas concentrações diárias foram  
102 divididas e fornecidas em horários diurnos fixos: 8, 12 e 16 horas (Santos et al., 2021).

103

### 104 2.3. Performance de crescimento

105

106 Trinta indivíduos por tratamento experimental foram selecionados aleatoriamente no 6º,  
107 13º e 20º DAE. Os animais foram anestesiados com eugenol a 50 ppm e posteriormente o peso  
108 foi mensurado com auxílio da balança analítica e para medição do comprimento total, cada  
109 indivíduo foi fotografada com auxílio de microscope camera 3MP (Moticam) por meio do  
110 software Motic Images Plus 3.0 (x64). Ao final do experimento, os animais de todos os tanques  
111 foram contabilizados para calcular o percentual de sobrevivência.

112 Ganho de peso diário (GPD) foi calculado usando a formula  $GPD (mg.dia^{-1}) = (Pf -$   
113  $Pi).t^{-1}$ , onde Pf é peso final, Pi peso inicial e t tempo. E taxa de crescimento específico (TCE)  
114 foi calculado a partir de  $TCE (\%.dia^{-1}) = [(ln Pf - ln Pi).100]. t^{-1}$ .

115

### 116 2.4. Análise de expressão gênica

117

118 Nove larvas inteiras de cada tratamento no 20º DAE foram armazenadas em  
119 *RNAlater™ Stabilization Solution* (Invitrogen) e estocadas imediatamente em ultrafreezer (-  
120 80°C) até a extração de RNA. O RNA foi isolado através do reagente TRIZOL® (Invitrogen)  
121 de acordo com a instrução do fabricante. Isolamento de RNA foi realizado em Laboratório de  
122 Sorologia e Biologia Molecular (LSBM, UFRA) e procedimento posterior em Laboratório de  
123 Genética Aplicada (LGA, UFRA). A quantificação e análise de pureza do RNA total foi  
124 verificado no espectrofotômetro Biodrop Duo UV/Vis. Foram utilizadas para qPCR amostras  
125 que apresentaram concentração mínima de 50 ng/μL e a razão de pureza próxima de 1,8 em

126 absorvância A260/280. As amostras foram diluídas, padronizadas em 50 ng/μL e tratadas com  
127 *DNase I, Rnase-free* (Thermo Scientific) de acordo com o protocolo do fabricante.

128 A análise da expressão gênica foi feita pelo método one-step em volume final de 10 μL,  
129 contendo 1x *HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Mix Plus*, 4 U *MMLV Transcriptase Reversa*,  
130 250 nM de primer forward e reverse, água ultra pura e 50 ng de RNA. A condições de  
131 amplificação foram 42 °C por 30 min, 95 °C por 12 minutos; 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos,  
132 60 °C por 30 segundos; finalizando a corrida com a curva de *melting* de 95 °C por 15 segundos,  
133 60 °C por 1 minuto e 95 °C por 1 segundo. As reações foram feitas em triplicata no  
134 *QuantStudio™ 3* (Thermo Fisher Scientific), para os genes *myod*, *myog*, *msnta* e *gapdh* (Tabela  
135 1). A expressão relativa dos genes avaliados foi feita pelo método  $2^{-\Delta\Delta CT}$  e gene *gapdh* foi usado  
136 como gene de referencia para normalizar a quantificação do gene alvo.

137

#### Tabela 1

Sequência de oligonucleotídeo, tamanho de pares de base (pb), temperatura de anelamento (Ta °C) e o número de acesso no GenBank de cada gene. Temperatura de anelamento foi 60°C em todos os casos.

Gene	Sequência	Tamanho (pb)	Número de acesso GenBank
<i>myod</i>	F ACGCCATCAGCTACATCGAG	125	XM_036575841.1
	R ATCGGAGCAGTTGGATCTGG		
<i>myog</i>	F AGACCAGAGGTTTTACGAAGGG	89	XM_036560097.1
	R TCCTGTCTTGGTATCCTGCTTG		
<i>mstna</i>	F TCAACCACCAGGAGCAAATC	118	XM_036562065.1
	R TTCAGCTAAGCACGCACTAC		
<i>gapdh</i>	F GCCGTGGTGCCAGCCAGAA	73	XM_036584568.1
	R TCAGGAATGACTTTTCCCACA		

F: Forward; R: Reverse; *myod*: Determinação de mioblastos; *myog*: miogenina; *mstna*: miostatina a; *gapdh*: Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase.

138

#### 139 2.5. Análises estatísticas

140

141 Os dados de qualidade de água, performance de crescimento e de expressão gênica  
142 foram submetidos primeiramente à análise de normalidade por meio do teste de Kolmogorov

143 e posteriormente foi avaliado a igualdade de variâncias pelo teste de Barlett e Brown-forsythe.  
 144 Para comparação das médias de dados paramétricos, foi utilizado a ANOVA de uma via  
 145 seguida de teste de comparação múltipla de Tukey. E para dados não paramétricos foi utilizado  
 146 teste Kruskal-Wallis seguida de teste post-hoc Dunn's. Os níveis de significâncias em todos os  
 147 testes foram em  $p < 0,05$ .

148

### 149 3. Resultados

150

#### 151 3.1. Qualidade de água

152

153 Os parâmetros de qualidade água analisados durante o experimento não apresentaram  
 154 diferença significativa entre os tratamentos. Exceto OD que apresentou valor médio decrescente  
 155 com o aumento da densidade do alimento vivo fornecido.

156

#### Tabela 2

Valores médios  $\pm$  desvio padrão dos parâmetros de qualidade de água durante 14 dias de larvicultura de *Colossoma macropomum* em SRA em diferentes densidades testadas de náuplios de *Artêmia* por pós-larva.

Parâmetros	Tratamentos				
	100	250	500	750	1000
T	27,41 $\pm$ 0,80	27,42 $\pm$ 0,83	27,39 $\pm$ 0,85	27,45 $\pm$ 0,78	27,37 $\pm$ 0,88
OD	7,24 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	7,18 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	6,97 $\pm$ 0,43 <sup>b</sup>	6,89 $\pm$ 0,58 <sup>bc</sup>	6,72 $\pm$ 0,53 <sup>c</sup>
pH	6,55 $\pm$ 0,23	6,79 $\pm$ 0,36	6,80 $\pm$ 0,35	6,69 $\pm$ 0,27	6,68 $\pm$ 0,43
CD	273,19 $\pm$ 67,98	273,46 $\pm$ 64,38	270,79 $\pm$ 64,44	277,26 $\pm$ 61,98	285,13 $\pm$ 62,44
NH <sub>3</sub>	1,68 $\pm$ 0,19	1,75 $\pm$ 0,19	1,83 $\pm$ 0,17	1,92 $\pm$ 0,23	2,11 $\pm$ 0,26
NO <sub>2</sub>	1,29 $\pm$ 0,49	1,09 $\pm$ 0,31	1,11 $\pm$ 0,36	1,24 $\pm$ 0,39	1,25 $\pm$ 0,38
NO <sub>3</sub>	5,62 $\pm$ 1,11	5,68 $\pm$ 1,14	5,85 $\pm$ 1,09	5,81 $\pm$ 1,16	5,75 $\pm$ 1,08

T: temperatura ( $^{\circ}$ C); OD: Oxigênio dissolvido ( $\text{mg. L}^{-1}$ ); CD: condutividade ( $\mu\text{S. cm}^{-1}$ ); NH<sub>3</sub>: amônia ( $\text{mg. L}^{-1}$ ); NO<sub>2</sub>: nitrito ( $\text{mg. L}^{-1}$ ); NO<sub>3</sub>: nitrato ( $\text{mg. L}^{-1}$ ).

Médias seguidas por letras diferentes, nas linhas, diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

157

#### 158 3.2. Performance da larva

159

160 Ao final dos 14 dias de experimento, as larvas de *C. macropomum* alimentadas com  
 161 1000 náuplios de Artêmias/larva apresentaram maior peso, comprimento, GPD e TCE (Tabela  
 162 3,  $p < 0,05$ ), enquanto os grupos de 100 e 250 NA/pós-larva apresentaram os menores índices,  
 163 de modo geral.

164

**Tabela 3**

Valores médios  $\pm$  desvio padrão das variáveis biométricas da larva de *Colossoma macropomum* alimentados com 100, 250, 500, 750 e 1000 náuplios de Artêmia/larva após 14 dias de cultivo em SRA.

VARIÁVEL	TRATAMENTOS				
	100	250	500	750	1000
Pf	0.74 $\pm$ 0.28 <sup>e</sup>	1.38 $\pm$ 0.65 <sup>d</sup>	2.03 $\pm$ 0.55 <sup>c</sup>	2.73 $\pm$ 1.10 <sup>b</sup>	3.36 $\pm$ 0.91 <sup>a</sup>
CTf	9.40 $\pm$ 0.98 <sup>e</sup>	11.28 $\pm$ 1.47 <sup>d</sup>	12.30 $\pm$ 1.40 <sup>c</sup>	13.69 $\pm$ 1.36 <sup>b</sup>	14.78 $\pm$ 1.25 <sup>a</sup>
GPD	0.04 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.08 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	0.12 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>	0.16 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.20 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
TCE	9.93 $\pm$ 5,42 <sup>b</sup>	12.56 $\pm$ 1.93 <sup>ab</sup>	14.23 $\pm$ 2.95 <sup>b</sup>	13.67 $\pm$ 1.90 <sup>ab</sup>	15.25 $\pm$ 2.20 <sup>a</sup>
SV	70.72 $\pm$ 8.53	78.22 $\pm$ 11.79	88.33 $\pm$ 3.06	73.44 $\pm$ 14.89	79.11 $\pm$ 5.55

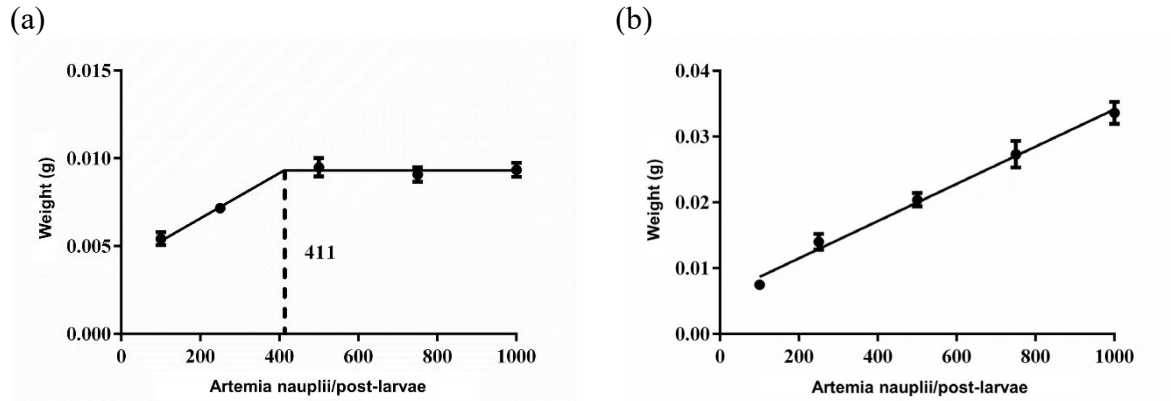
Pf, peso final (mg); CTf, comprimento total final (mm); GPD, ganho de peso diário (mg/Dia); TCE, taxa de crescimento específico (%/dia); SV, sobrevivência (%).

Médias seguiu por letras diferentes, nas linhas, diferem entre si ( $P < 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

165

166 A sobrevivência dos animais foi de 70.72 % para 100 NA/pós-larva e 79.11 % para 1000  
 167 NA/pós-larva, entretanto não houve diferença significativas entre os cinco tratamentos testados.

168 Para encontrar a concentração ideal de náuplios de Artêmias para cada fase da pós-larva,  
 169 a variável peso de cada tratamento foi submetida à análise de regressão (Figura 1). Com a idade  
 170 de 13 DAE, a concentração ideal de náuplios de Artêmias calculada foi de 411 NA/pós-larva  
 171 (Figura 1a). Já com 20 DAE, o peso do *C. macropomum* foi diretamente proporcional com os  
 172 tratamentos testados (Figura 1b).



**Figura 1:** Regressão segmentada e linear do peso da pós-larva de *Colossoma macropomum* alimentado com 100, 250, 500, 750 e 1000 náuplios de Artêmia/pós-larva em 13° DAE (a) e 20° DAE  $y = 2,832^{-5} x + 0,005842$ ,  $R^2 = 0,99$  (b).

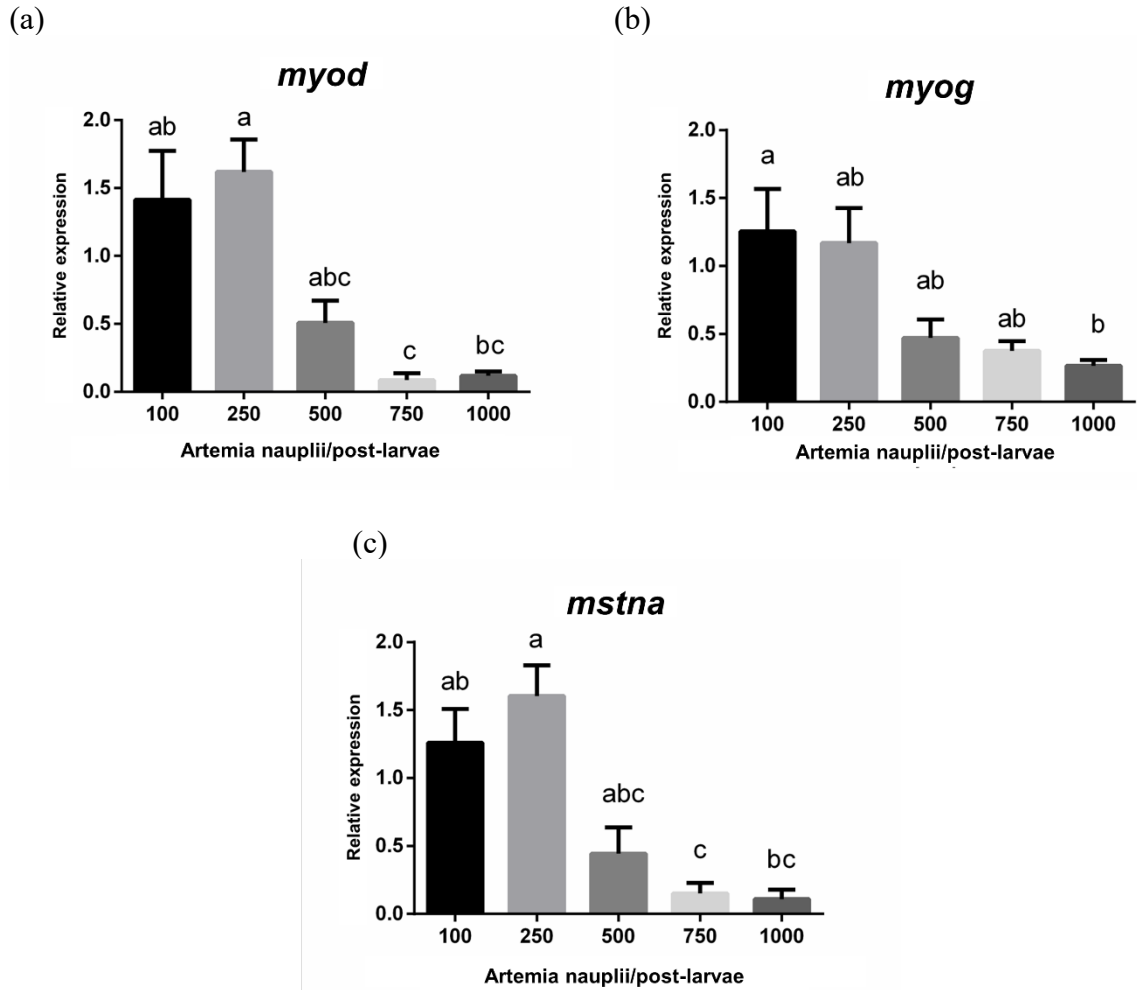
173

### 174 3.3. Expressão relativa de *myod*, *myog* e *mstna*

175

176 Após 20 DAE, a expressão dos genes miogênicos *myod*, *myog* e *mstna* foram  
 177 significativamente menores nas larvas de *C. macropomum* com maiores densidades de náuplios  
 178 de Artêmias (Figura 2). Enquanto o nível de expressão do gene *myod* e *mstna* foi  
 179 significativamente menor quando as larvas foram alimentadas acima de 500 NA/pós-larva, a  
 180 expressão do gene *myog* foi significativamente menor quando foram alimentadas acima de 750  
 181 NA/pós-larva ( $p < 0,05$ ).

182



**Figura 2:** Expressão relativa dos genes *myod* (a), *myog* (b) e *mstna* (c) da pós-larva de *Colossoma macropomum* em 20° DAE alimentados com 100, 250, 500, 750 e 1000 náuplios de Artêmia/pós-larva durante 14 dia de cultivo. Médias seguidas por letras diferentes, em colunas, diferem entre si ( $P < 0.05$ ) testadas por Kruskal-Wallis seguidas do teste post-hoc de Dunn's.

183

#### 184 4. Discussão

185

186 A investigação sobre a densidade do alimento vivo é fundamental para otimização da  
 187 produção, dado que a quantidade ideal de náuplios de Artêmia varia de acordo com a espécie  
 188 (Luz et al., 2011; Abe et al., 2016; Jomori et al., 2013; Reis et al., 2020). No presente estudo,  
 189 concentrações crescentes de náuplios de Artêmiãs afetaram significativamente a qualidade da  
 190 água, o crescimento e a expressão dos genes miogênicos das larvas de *C. macropomum*, embora  
 191 não tenham afetado a sobrevivência.

192

#### 193 4.1. Qualidade da água

194

195 Os parâmetros físico-químico da água dos tratamentos apresentaram níveis aceitáveis  
196 para espécie *C. macropomum* (Araújo-Lima; Gomes, 2005; Aride *et al.*, 2007; Silva *et al.*,  
197 2013). Santos *et al.* (2021; 2022) observou em larvicultura de *C. macropomum* em SRA  
198 condições de qualidade de água similares com o presente trabalho em temperatura, oxigênio  
199 dissolvido e pH.

200 Neste estudo, foi observado diminuição significativa no OD conforme o aumento da  
201 densidade de náuplios de Artêmias (Tabela 2), que pode estar relacionada à ação dos  
202 microrganismos decompositores (Jha *et al.*, 2004) sobre os náuplios mortos depositados no  
203 fundo dos tanques. Embora não tenha sido mensurada a quantidade residual de náuplios de  
204 Artêmia, visivelmente ocorreu maior acúmulo em tanques nos tratamentos acima de 500  
205 NA/pós-larva. Entretanto, os tanques eram sifonados diariamente, assim menor OD pode estar  
206 relacionado ao maior consumo de oxigênio pelas larvas maiores, que apresentam maior ingesta  
207 e conseqüentemente maior taxa metabólica (Jobling 1981; 1993).

208

#### 209 4.2. Performance zootécnica

210

211 A quantidade de náuplios de Artêmias a ser ofertada diariamente é um dos fatores  
212 essenciais para o sucesso da larvicultura. A falha deste manejo pode interferir no  
213 desenvolvimento larval e na sobrevivência (Balon, 1984; Rabe; Brown, 2000) como foi relatado  
214 baixa taxa de sobrevivência (39,3%) em *Pimelodus maculatus* alimentado com 9 NA/pós-larva  
215 (Luz; Zaniboni-Filho, 2001). Neste estudo, foi observado boas taxas de sobrevivência em todas  
216 as densidades testadas. Taxa de sobrevivência similar, aproximadamente 80 % e 74,5 %  
217 respectivamente, foi observada para a mesma espécie alimentado com 500 a 1000 NA/pós-larva

218 e para *Lophiosilurus alexandri* com 1300 a 2600 NA/pós-larva (Luz et al., 2011; Santos et al.,  
219 2021). Taxa de sobrevivência superior a 90 % foi relatado em *Hoplias lacerdae* e *Piaractus*  
220 *mesopotamicus* alimentados com 900 a 1800 NA/pós-larva e 250 a 1250 NA/pós-larva,  
221 respectivamente (Luz; Portella, 2005; Jomori et al., 2012). Mesmo em quantidades mínimas de  
222 náuplios de Artêmias a sobrevivência não foi afetada no presente estudo. Resultados similares  
223 foram registrados em larvas de *Prochilodus costatus* (Santos; Luz, 2009) e *Lophiosilurus*  
224 *alexandri* (Santos et al., 2015), que apresentaram altas taxas de sobrevivência em densidade  
225 300 e 100 NA/pós-larva, respectivamente. No entanto, em ambos casos foram registrados  
226 crescimento retardado com essa alimentação.

227 Embora não tenha afetado a sobrevivência, as menores densidades afetaram a  
228 performance de crescimento de pós-larvas de *C. macropomum*, assim de *Lophiosilurus*  
229 *alexandri* (Santos; Luz, 2009), *Rhinelepis aspera* (Santos et al., 2012) e *Rhamdia quelen*  
230 (Fabregat *et al.*, 2015) quando alimentados com quantidade inferior a 400 NA/pós-larva. Uma  
231 razão para o menor crescimento seria insuficiência de energia e nutrientes necessários ou maior  
232 custo energético para a captura de alimento (Puvanendran; Brown, 1999; Chen et al., 2020).  
233 Através da análise de regressão sobre o peso das larvas de *C. macropomum* no 13º DAE, o  
234 resultado indicou que 411 NA/pós-larva seria o valor mínimo que resultaria em crescimento  
235 máximo na primeira semana (Figura 1a).

236 Já na segunda semana, entre 14º e 20º DAE, o tratamento com 1000 NA/pós-larva foi o  
237 que resultou em maiores peso e comprimento (Tabela 3,  $p < 0,05$ ). O consumo é proporcional  
238 ao tamanho das larvas e aumenta com o crescimento larval (Luz et al., 2011; Ma et al., 2013).  
239 Quantidades próximas a essas concentrações também foram favoráveis para o crescimento de  
240 *Brycon amazonicus*, *Astronotus ocellatus* (Jomori et al., 2013) e *Hoplias lacerda* (Luz; Portella,  
241 2015). O aumento da densidade de presas proporcionou aumento proporcional de ganho de peso



242 em *C. macropomum* (Figura 1b), como foram observados resultados similares em outras  
243 espécies dulcícolas (Santos et al., 2012; 2015; Jomori et al., 2013).

244

#### 245 4.3. Expressão dos genes miogênicos

246

247 O crescimento hiperplásico e hipertrófico nos peixes teleósteos ocorre principalmente  
248 em duas ondas, a primeira na miogênese embrionária e a segunda durante a fase juvenil  
249 (Rowlerson; Veggetti, 2001). Este processo é controlado pelos MRF's que é altamente  
250 conservada em todos os vertebrados (Zhu et al., 2016). Gene *myod* é expresso no início da  
251 miogênese para proliferação da linhagem miogênica e ativação e proliferação de mioblastos  
252 (Megenev; Rudnicki, 1995; Rudnicki; Jaenisch, 1995). E a expressão de *myog* determina o  
253 processo de diferenciação e fusão dos mioblastos para formação das miofibras. (Megenev;  
254 Rudnicki, 1995; Rudnicki; Jaenisch, 1995; Watabe 1999). Neste estudo a expressão relativa de  
255 *myod* e *myog* em pós-larva de *C. macropomum* em 20° DAE foi inversamente proporcional com  
256 a densidade de náuplios testada (Figura 3ab) apesar do maior crescimento larval em densidades  
257 maiores. Em larva de *Ctenopharyngodon idellus* e *Oncorhynchus mykiss*, alimentado com ração  
258 artificial e dieta rica em gordura respectivamente, também apresentaram menor expressão de  
259 *myod* e *myog* mesmo com pesos maiores (Alami-Durante et al., 2014; Zhao et al., 2018). Já em  
260 larva de *Solea senegalensis* com menor crescimento apresentou menor nível de expressão de  
261 *myog* (Canada et al., 2016). Contudo níveis de expressão de *myod* e *myog* demonstraram ser  
262 similar entre grupos de larvas de tamanhos diferentes em *Piaractus mesopotamicus* e *Gadus*  
263 *morhua* (Leitão et al., 2011; Lanes et al., 2012). Conforme esses relatos, é pouco elucidado  
264 sobre a relação entre crescimento, dieta e regulação de níveis de expressão de MRF's nos  
265 primeiros dias de vida da larva. Para cada espécie pode existir expressões específicas dos genes  
266 envolvidos no crescimento muscular devido à complexidade dos eventos miogênicos, além de

267 ocorrer prováveis alterações induzidas por meio dos efeitos dos nutrientes e pela idade larval  
268 (Lanes et al., 2012). Após busca minuciosa, verificou-se que este estudo é o primeiro relato de  
269 análise de expressão dos genes miogênicos em pós-larvas de *C. macropomum* alimentadas com  
270 diferentes concentrações de náuplios de Artêmia.

271 Enquanto os genes *myod* e *myog* muitas vezes estão relacionados como estimuladores  
272 no crescimento dos peixes, o gene *mstn* desempenha papel fundamental no crescimento  
273 muscular como regulador negativo e sua expressão inibe a determinação e diferenciação de  
274 células musculares (Zheng et al., 2015; Song et al., 2022). Neste estudo, expressão da *mstna* foi  
275 maior em animais alimentados com densidade inferior a 500 NA/pós-larva (Figura 2c), que por  
276 sua vez foram os que apresentaram menor crescimento. Sugere que a deficiência alimentar nos  
277 primeiros dias de vida contribuiu com o menor crescimento muscular por meio da regulação da  
278 *mstn*, como foi observado em *Ctenopharyngodon idellus* e *Sparus aurata* (Zhao et al., 2018;  
279 Sáez-Arteaga et al., 2022). Já a regulação negativa deste gene induz hiperplasia e hipertrofia  
280 em peixes, como foi relatado em *Danio rerio* (Amali et al., 2004; Fuentes et al., 2013). Portanto,  
281 a menor expressão deste gene em pós-larvas alimentadas com maiores densidades de náuplios  
282 de Artêmia pode ter favorecido o crescimento.

283

## 284 5. Conclusão

285

286 Diferentes densidades de náuplios de Artêmia por pós-larva influenciaram no  
287 desempenho zootécnico, na qualidade da água e na expressão dos genes miogênicos na pós-  
288 larva de *C. macropomum*. A densidade ideal de náuplios de Artêmia para esta espécie na  
289 primeira semana de alimentação é de 411 NA/pós-larva e na segunda semana 1000 NA/pós-  
290 larva. Apesar dos genes miogênicos *myod* e *myog* estarem hiper-regulados nas pós-larvas com  
291 menor crescimento, o gene *mstna* pode ter um papel inibitório significativo no crescimento das

292 pós-larvas de *C. macropomum*. Mais estudos precisam ser realizados sobre o papel dos genes  
293 reguladores no crescimento das larvas de *C. macropomum*.

294

## 295 **Referências**

296

297 Abe, H. A., Dias, J. A. R., Reis, R. G. A., Sousa, N. D. C., Ramos, F. M., & Fujimoto, R. Y.  
298 (2016). Stocking density and feed management on larval rearing of Amazonian ornamental fish  
299 *Heros severus*. Boletim do Instituto de Pesca, 42(3), 514-522.

300 Alami-Durante, H., Cluzeaud, M., Duval, C., Maunas, P., Girod-David, V., & Médale, F. (2014).  
301 Early decrease in dietary protein: energy ratio by fat addition and ontogenetic changes in muscle  
302 growth mechanisms of rainbow trout: short-and long-term effects. British journal of nutrition,  
303 112(5), 674-687.

304 Alfei, L., Onali, A., Spano, L., Colombari, P. T., Altavista, P. L., & De Vita, R. (1994).  
305 PCNA/cyclin expression and BrdU uptake define proliferating myosatellite cells during  
306 hyperplastic muscle growth of fish (*Cyprinus carpio* L.). European journal of histochemistry:  
307 EJH, 38(2), 151-162.

308 Amali, A. A., Lin, C. J. F., Chen, Y. H., Wang, W. L., Gong, H. Y., Lee, C. Y., ... & Wu, J. L.  
309 (2004). Up-regulation of muscle-specific transcription factors during embryonic somitogenesis  
310 of zebrafish (*Danio rerio*) by knock-down of myostatin-1. Developmental dynamics: an official  
311 publication of the American Association of Anatomists, 229(4), 847-856.

312 Araújo-Lima, C. A. R. M. & Gomes, L. C. (2005). Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In  
313 Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. (Org.). cap. 8. p.  
314 175-202. Santa Maria. UFSM.

315 Aride, P. H. R., Roubach, R., & Val, A. L. (2007). Tolerance response of tambaqui *Colossoma*  
316 *macropomum* (Cuvier) to water pH. Aquaculture Research, 38(6), 588-594.

- 317 Balon, E. K. (1984). Reflections on some decisive events in the early life of fishes. Transactions  
318 of the American Fisheries Society, 113(2), 178-185.
- 319 Beux, L. F., & Zaniboni Filho, E. (2006). Influência da baixa salinidade na sobrevivência de  
320 náuplios de *Artemia* sp. Boletim do Instituto de Pesca, 32(1), 73-77.
- 321 Bulow, F. J. (1970). RNA–DNA ratios as indicators of recent growth rates of a fish. Journal of  
322 the Fisheries Board of Canada, 27(12), 2343-2349.
- 323 Canada, P., Engrola, S., Mira, S., Teodosio, R., Fernandes, J. M., Sousa, V., ... & Valente, L.  
324 M. (2016). The supplementation of a microdiet with crystalline indispensable amino-acids  
325 affects muscle growth and the expression pattern of related genes in Senegalese sole (*Solea*  
326 *senegalensis*) larvae. Aquaculture, 458, 158-169.
- 327 Chen, J.Y., Zeng, C., Jerry, D.R., Cobcroft, J.M., 2020. Recent advances of marine ornamental  
328 fish larviculture: broodstock reproduction, live prey and feeding regimes, and comparison  
329 between demersal and pelagic spawners. Rev. Aquac. 12 (3), 1518–1541.
- 330 Conceição, L. E., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S., & Dinis, M. T. (2010). Live feeds for  
331 early stages of fish rearing. Aquaculture research, 41(5), 613-640.
- 332 Daltro, A. D. C., Macedo, C. F., Serafim-Júnior, M., Brandão, L. L. L., & Gauthier, N. B. (2021).  
333 The effect of fairy shrimp “branchoneta”(Dendrocephalus brasiliensis) as the initial diet of  
334 tambaqui postlarvae. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 43.
- 335 Diemer, O., Neu, D. H., Sary, C., Finkler, J. K., Boscolo, W. R., & Feiden, A. (2012). *Artemia*  
336 sp. na alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). Ciência Animal Brasileira, 13(2),  
337 175-179.
- 338 Fabregat, T. E. H. P., Damian, J., Fialho, N. S., Costa, D., Broggi, J. A., Pereira, R. G., & Takata,  
339 R. (2015). Toxicidade aguda ao sal comum e larvicultura intensiva do jundiá *Rhamdia quelen*  
340 em água salobra. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 67, 547-554.

- 341 Fuentes, E. N., Pino, K., Navarro, C., Delgado, I., Valdés, J. A., & Molina, A. (2013). Transient  
342 inactivation of myostatin induces muscle hypertrophy and overcompensatory growth in  
343 zebrafish via inactivation of the SMAD signaling pathway. *Journal of biotechnology*, 168(4),  
344 295-302.
- 345 Galo, J. M., Carvalho, A. L., de Souza, E. F., da Silva Carvalho, R. L., de Oliveira, D. F., da  
346 Silva, T. D. P., & Milan, G. R. (2017). Utilização de diferentes alimentos na primeira  
347 alimentação de pós-larvas de tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818). *Revista*  
348 *Eduotec*, 2(1).
- 349 Hayashi, C. (2014). Desenvolvimento inicial das larvas de dourado *Salminus brasiliensis*  
350 (Cuvier, 1816); suplementados com plâncton, artêmia e rações, em cultivos experimentais.  
351 *Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista*, 10(3).
- 352 IBGE. Pesquisa da pecuária municipal: Tabela 3940 - Produção da aquicultura, por tipo de  
353 produto. 2020. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>>. Acesso em: 5 ago. 2022.
- 354 Jha, P., Sarkar, K., & Barat, S. (2004). Effect of different application rates of cowdung and  
355 poultry excreta on water quality and growth of ornamental carp, *Cyprinus carpio* vr. koi, in  
356 concrete tanks. *Turkish Journal of fisheries and aquatic Sciences*, 4(1), 17-22.
- 357 Jobling, M. (1981). The influences of feeding on the metabolic rate offishes: a shortreview.  
358 *Journal of Fish Biology* 16, 629–638.
- 359 Jobling, M. (1993) Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. In: *Fish Ecophysiology*  
360 (ed. by J.C. Rankin & F.B. Jensen), pp. 1– 44. Chapman & Hall, London, UK.
- 361 Johnston, I. A. (2006). Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. *Journal of*  
362 *Experimental Biology*, 209(12), 2249-2264.
- 363 Jomori, R. K., Luz, R. K., & Célia Portella, M. (2012). Effect of salinity on larval rearing of  
364 pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a freshwater species. *Journal of the World Aquaculture Society*,  
365 43(3), 423-432.

- 366 Jomori, R. K., Luz, R. K., Takata, R., Fabregat, T. E. H. P., & Portella, M. C. (2013). Água  
367 levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes neotropicais. Pesquisa  
368 Agropecuária Brasileira, 48, 809-815.
- 369 Kerdchuen, N., & Legendre, M. (1994). Larval rearing of an African catfish, *Heterobranchus*  
370 *longifilis*, (Teleostei, Clariidae): a comparison between natural and artificial diet. Aquatic  
371 Living Resources, 7(4), 247-253.
- 372 Lanes, C. F. C., Bolla, S., Fernandes, J. M., Nicolaisen, O., Kiron, V., & Babiak, I. (2012).  
373 Nucleotide enrichment of live feed: a promising protocol for rearing of Atlantic cod *Gadus*  
374 *morhua* larvae. Marine biotechnology, 14(5), 544-558.
- 375 Leitão, N. J., Dal Pai-Silva, M., de Almeida, F. L. A., & Portella, M. C. (2011). The influence  
376 of initial feeding on muscle development and growth in pacu *Piaractus mesopotamicus* larvae.  
377 Aquaculture, 315(1-2), 78-85.
- 378 Lima, C. J., Lansac-Tôha, F. A., Mantovano, T., da Silva, N. J., & Junior, M. S. (2021). Post-  
379 larval *Colossoma macropomum* (Characiformes, Serrasalminidae) show better performance in  
380 excavated than concrete tanks under different feeding strategies. Acta Scientiarum. Biological  
381 Sciences, 43, e52054-e52054.
- 382 Luz, R. K., & Portella, M. C. (2005). Frequência alimentar na larvicultura do trairão (*Hoplias*  
383 *lacerdae*). Revista brasileira de Zootecnia, 34, 1442-1448.
- 384 Luz, R. K., & Portella, M. C. (2015). Effect of prey concentrations and feed training on  
385 production of *Hoplias lacerdae* juvenile. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 87, 1125-  
386 1132.
- 387 Luz, R. K., & Zaniboni-Filho, E. (2001). Utilização de diferentes dietas na primeira alimentação  
388 do mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*, Lacépède). Acta Scientiarum. Biological Sciences,  
389 23, 483-489.

- 390 Luz, R. K., Santos, J. C. E., Pedreira, M. M., & Teixeira, E. A. (2011). Effect of water flow rate  
391 and feed training on "pacamã" (Siluriforme: Pseudopimelodidae) juvenile production. *Arquivo*  
392 *Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63, 973-979.
- 393 Ma, Z., Qin, J. G., Hutchinson, W., & Chen, B. N. (2013). Food consumption and selectivity  
394 by larval yellowtail kingfish *Seriola lalandi* cultured at different live feed densities. *Aquaculture*  
395 *Nutrition*, 19(4), 523-534.
- 396 Megeney, L. A., & Rudnicki, M. A. (1995). Determination versus differentiation and the MyoD  
397 family of transcription factors. *Biochemistry and Cell Biology*, 73(9-10), 723-732.
- 398 Mommsen, T. P. (2001). Paradigms of growth in fish. *Comparative biochemistry and*  
399 *physiology part B: Biochemistry and molecular biology*, 129(2-3), 207-219.
- 400 Patruno, M., Radaelli, G., Mascarello, F., & Carnevali, C. (1998). Muscle growth in response  
401 to changing demands of functions in the teleost *Sparus aurata* (L.) during development from  
402 hatching to juvenile. *Anatomy and embryology*, 198(6), 487-504.
- 403 Pedreira, M. M., & Sipaúba-Tavares, L. H. (2001). Effect of light green and dark brown colored  
404 tanks on survival rates and development of tambaqui larvae, *Colossoma macropomum*  
405 (Osteichthyes, Serrasalminidae). *Acta Scientiarum*, 23(2), 521-525.
- 406 Puvanendran, V., & Brown, J. A. (1999). Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae  
407 reared in different prey concentrations. *Aquaculture*, 175(1-2), 77-92.
- 408 Rabe, J., & Brown, J. A. (2000). A pulse feeding strategy for rearing larval fish: an experiment  
409 with yellowtail flounder. *Aquaculture*, 191(4), 289-302.
- 410 Reis, R. G. A., Alves, P. C. J., Abe, H. A., da Costa Sousa, N., Paixão, P. E. G., Palheta, G. D.  
411 A., ... & Takata, R. (2021). Feed management and stocking density for larviculture of the  
412 Amazon ornamental fish L333 king tiger pleco *Hypancistrus* sp. (Siluriformes: Loricariidae).  
413 *Aquaculture Research*, 52(5), 1995-2003.

- 414 Rodrigues, R. V., Freitas, L. S., Robaldo, R. B., & Sampaio, L. A. N. D. (2012). Crescimento  
415 e sobrevivência de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*: efeitos do enriquecimento da  
416 *Artemia* SP. Com N-3 HUFA.
- 417 Rønnestad, I., Thorsen, A., & Finn, R. N. (1999). Fish larval nutrition: a review of recent  
418 advances in the roles of amino acids. *Aquaculture*, 177(1-4), 201-216.
- 419 Rowlerson, A., & Veggetti, A. (2001). Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth  
420 in aquaculture species. In *Muscle development and growth*. (pp. 103-140). Academic Press.
- 421 Rudnicki, M. A., & Jaenisch, R. (1995). The MyoD family of transcription factors and skeletal  
422 myogenesis. *Bioessays*, 17(3), 203-209.
- 423 Sáez-Arteaga, A., Wu, Y., Silva-Marrero, J. I., Rashidpour, A., Almajano, M. P., Fernández,  
424 F., ... & Metón, I. (2022). Gene markers of dietary macronutrient composition and growth in  
425 the skeletal muscle of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 555, 738221.
- 426 Santos, F. A. C., da Costa Julio, G. S., Batista, F. S., Miranda, L. N. L., Pedras, P. P. C., & Luz,  
427 R. K. (2022). High stocking densities in the larviculture of *Colossoma macropomum* in a  
428 recirculating aquaculture system: Performance, survival and economic viability. *Aquaculture*,  
429 552, 738016.
- 430 Santos, F. A., da Costa Julio, G. S., & Luz, R. K. (2021). Stocking density in *Colossoma*  
431 *macropomum* larviculture, a freshwater fish, in recirculating aquaculture system. *Aquaculture*  
432 *Research*, 52(3), 1185-1191.
- 433 Santos, J. C. E. D., Pedreira, M. M., & Luz, R. K. (2012). The effects of stocking density, prey  
434 concentration and feeding on *Rhinelepis aspera* (Spix & Agassiz, 1829) (Pisces: Loricariidae)  
435 larviculture. *Acta sci., Biol. sci.*, 133-139.
- 436 Santos, J. C. E., & Luz, R. K. (2009). Effect of salinity and prey concentrations on  
437 *Pseudoplatystoma corruscans*, *Prochilodus costatus* and *Lophiosilurus alexandri* larviculture.  
438 *Aquaculture*, 287(3-4), 324-328.



- 439 SANTOS, J. C. E., de Souza CORREIA, E., & LUZ, R. K. (2015). Efeito da concentração diária  
440 de náuplios de *Artemia* na produção de juvenis de *Lophiosilurus alexandri*. Boletim do Instituto  
441 de Pesca, 41(especial), 771-776.
- 442 Santos, S. S., Lopes, J. P., Santos-Neto, M. A., & Santos, L. S. (2007). Larvicultura do tambaqui  
443 em diferentes densidades de estocagem. Revista Brasileira de Engenharia de Pesca, 2(3), 18-  
444 25.
- 445 Sharma, M., Kambadur, R., Matthews, K. G., Somers, W. G., Devlin, G. P., Conaglen, J. V., ...  
446 & Bass, J. J. (1999). Myostatin, a transforming growth factor- $\beta$  superfamily member, is  
447 expressed in heart muscle and is upregulated in cardiomyocytes after infarct. Journal of cellular  
448 physiology, 180(1), 1-9.
- 449 Silva, A. D. R. D., Santos, R. B. D., Bruno, A. M. D. S. S., & Soares, E. C. (2013). Cultivo de  
450 tambaqui em canais de abastecimento sob diferentes densidades de peixes. Acta Amazonica,  
451 43, 517-523.
- 452 Silva, P., Valente, L. M. P., Olmedo, M., Galante, M. H., Monteiro, R. A. F., & Rocha, E.  
453 (2009). Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle in blackspot seabream *Pagellus*  
454 *bogaraveo* from hatching to juvenile. Journal of Fish Biology, 74(1), 37-53.
- 455 Song, F., Ye, H., Shi, L., Ouyang, D., Sun, J., & Luo, J. (2022). Characterization and functional  
456 analysis of myostatin and myogenin genes involved in temperature variation and starvation  
457 stress in Golden pompano, *Trachinotus blochii*. Comparative Biochemistry and Physiology Part  
458 A: Molecular & Integrative Physiology, 267, 111183.
- 459 Sorgeloos, P., Dhert, P., & Candreva, P. (2001). Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in  
460 marine fish larviculture. Aquaculture, 200(1-2), 147-159.
- 461 Souza, R. A. L. (2000). Apostila de manejo e qualidade da água na piscicultura. Brasília, DF:  
462 Eletronorte.

- 463 Sterzelecki, F. C., de Jesus, A. M., Jorge, J. L. C., Tavares, C. M., de Souza, A. J. N., Santos,  
464 M. D. L. S., ... & Palheta, G. D. A. (2022). Açai palm, *Euterpe oleracea*, seed for aquaponic  
465 media and seedling production. *Aquacultural Engineering*, 102270.
- 466 Stone, N. M., Shelton, J. L., Haggard, B. E., & Thomforde, H. K. (2013). Interpretation of water  
467 analysis reports for fish culture. Stoneville, Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center.
- 468 Tavares-Dias, M., Araújo, C. S. O., Porto, S. M. A., Viana, G. M., & Monteiro, P. C. (2013).  
469 Sanidade do tambaqui *Colossoma macropomum* nas fases de larvicultura e alevinagem.
- 470 Thomas, M., Langley, B., Berry, C., Sharma, M., Kirk, S., Bass, J., & Kambadur, R. (2000).  
471 Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast  
472 proliferation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(51), 40235-40243.
- 473 Tomalá, D., Chavarría, J., & Escobar, B. E. (2014). Evaluación de la tasa de consumo de  
474 oxígeno de *Colossoma macropomum* en relación al peso corporal y temperatura del agua. *Latin  
475 american journal of aquatic research*, 42(5), 971-979.
- 476 Tran-Duy, A., van Dam, A. A., & Schrama, J. W. (2012). Feed intake, growth and metabolism  
477 of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in relation to dissolved oxygen concentration.  
478 *Aquaculture Research*, 43(5), 730-744.
- 479 Treece, G. D. (2000). *Artemia production for marine larval fish culture* (Vol. 702). Stoneville,  
480 Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center.
- 481 Van Stappen, G. (1996). 4.1. Introduction, biology and ecology of *Artemia*. *Manual on the  
482 production and use of live food for aquaculture*.
- 483 Veggetti, A., Mascarello, F., Scapolo, P. A., Rowlerson, A., & Carnevali, M. D. (1993). Muscle  
484 growth and myosin isoform transitions during development of a small teleost fish, *Poecilia  
485 reticulata* (Peters)(Atheriniformes, Poeciliidae): a histochemical, immunohistochemical,  
486 ultrastructural and morphometric study. *Anatomy and embryology*, 187(4), 353-361.

- 487 Watabe, S. (1999). Myogenic regulatory factors and muscle differentiation during ontogeny in  
488 fish. *Journal of Fish Biology*, 55, 1-18.
- 489 Zhao, H., Xia, J., Zhang, X., He, X., Li, L., Tang, R., ... & Li, D. (2018). Diet affects muscle  
490 quality and growth traits of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*): a comparison between grass  
491 and artificial feed. *Frontiers in Physiology*, 9, 283.
- 492 Zheng, G. D., Sun, C. F., Pu, J. W., Chen, J., Jiang, X. Y., and Zou, S. M. (2015). Two myostatin  
493 genes exhibit divergent and conserved functions in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Gen.  
494 Comp. Endocrinol.* 214, 68–76. doi: 10.1016/j.ygcen.2015.03.008
- 495 Zhu, X., Li, Y. L., Liu, L., Wang, J. H., Li, H. H., Wu, P., ... & Zhang, J. S. (2016). Molecular  
496 characterization of Myf5 and comparative expression patterns of myogenic regulatory factors  
497 in *Siniperca chuatsi*. *Gene Expression Patterns*, 20(1), 1-10.