

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA - IOFURG
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA – PPGAq

ONTOGENIA DOS FOLÍCULOS TIREOIDIANOS EM BIJUPIRÁ (*Rachycentron
canadum*)

ADRIANA PATRICIA SALGADO OTERO

RIO GRANDE, RS,

JULHO 26, 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA - IOFURG
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA – PPGAq

ONTOGENIA DOS FOLÍCULOS TIREOIDIANOS EM BIJUPIRÁ (*Rachycentron
canadum*)

ADRIANA PATRICIA SALGADO OTERO

Dissertação apresentada
como parte dos requisitos
para obtenção do grau de
mestre em Aquicultura no
Programa de Pós-Graduação
em Aquicultura da
Universidade Federal do Rio
Grande

ORIENTADOR: MARCELO BORGES TESSER

CO-ORIENTADOR: LUIS ALBERTO ROMANO

RIO GRANDE, RS

JULHO, 2012

Índice

Dedicatória	iv
Agradecimentos	v
Resumo	1
1. Introdução geral	2
1.1. O Bijupirá	2
1.1.1 Biologia de <i>Rachycentron canadum</i> (Bijupirá)	2
1.1.2 Aquicultura de Bijupirá	3
1.1.3 Condições de criação	4
1.1.3.1 Reprodução e larvicultura	5
1.1.3.2 Engorda	6
1.2. A glândula tireóide	7
1.2.1 A glândula tireóide nos vertebrados	7
1.2.2 Caracterização da ultraestrutura células foliculares	9
1.2.3 Síntese dos hormônios tireoidianos (HTs)	11
1.2.4 Os HTs em peixes	15
1.2.5 Ontogênia do tecido da tiróide	17

2 Objetivo	19
2.1- Geral	19
2.2- Objetivos específicos	19
3 Referências Bibliográficas	20
Artigo anexo	28
“Desenvolvimento ontogênico dos folículos tireoidianos nas larvas de bijupirá (<i>Rachycentron canadum</i>).”	
Resumo	29
Abstract	30
1. Introdução	31
2. Material e Métodos	33
3. Resultados	34
4. Discussão	36
5. Conclusões	40
Figuras	46

Agradeço a Deus por sempre guiar meus passos.

A minha mãe Emilce, meu pai Santiago e meus irmãos Kelly, Nora e David pelo amor e incentivo, embora eles estejam longe de mim, sei que de coração estão comigo.

Los quiero mucho.

Agradecimentos

Ao meu orientador prof. Marcelo Tesser, pela orientação e pelas puxadas de orelha.

A meu coorientador Prof. Luis romano, pelos ensinamentos, pelas caronas durante o inverno e por suas palavras de animo “fica tranquila, tudo vai dar certo”.

Ao curso de Pós-Graduação em Aquicultura e cada um dos professores, que contribuíram para meu crescimento profissional.

Ao grupo da piscicultura marinha, por todas as coisas novas que aprendi durante todo este tempo no laboratório. Ao prof. Dr. Sampaio e Ricardo pela disponibilidade do material biológico para a elaboração deste estudo.

Ao meus colegas da EMA: especialmente Dariano e Fabiane Fürh por sempre me dar apoio, a Marta e Emeline, minhas professoras na histologia. Ao Marcelo Okamoto por me fazer chorar na primeira vez que eu cheguei no RS, Janaina, Angélica, Cintia, Rafael, André, senhor Claudio, Bruna, Leo, Juancito, Michelle, Virginia, Joaquim e todos os colegas que me ajudaram passar por esta fase de minha vida.

Ao Alojamento por ter me dado um lar, e as pessoas especiais que nele moram (nenas). Não as nomeio porque em uma folha só, não dá para descrever todas as qualidades que cada uma apresenta.

À CAPES pelo apoio financeiro

À todos aqueles que contribuíram, para elaboração desse trabalho.

Resumo

O bijupirá, *Rachycentron canadum* é um peixe marinho de importância na aquicultura. As pesquisas sobre a ontogenia dos órgãos e sistemas são escassas, e informações sobre o tecido da tireóide do bijupirá são inexistentes. Estudos sobre o desenvolvimento do tecido da tireóide são importantes porque fornece informação sobre seu papel nas larvas e assim podem ser usadas para melhorar as técnicas de criação. Portanto, o objetivo deste estudo foi descrever a ontogenia dos folículos da tireóide em bijupirá. Foram coletados diariamente larvas de bijupirá desde a eclosão até 28 dae e uma nova amostragem foi coletada aos 53 dae. As amostras foram desidratadas em álcool, incluídas em Paraplast, feitos cortes histológicos de 3 μm , reidratados e submetidos à coloração de Hematoxilina- Eosina (H-E) e PAS. Nas larvas do 1º dia após a eclosão (dae), foi constatada a presença de um único folículo. Três folículos foram encontrados no 8º dae e estes foram aumentando com o crescimento da larva, observando até 18 folículos no 53 dae. O diâmetro dos folículos e altura das células foliculares foram menor no 1º dae ($6,83 \pm 1,00 \mu\text{m}$ e $4,6 \pm 0,01 \mu\text{m}$), mas aumentaram a partir do 8º dae ($24,03 \pm 0,46 \mu\text{m}$ e $6,43 \pm 0,46 \mu\text{m}$). A partir do 8º dae observo-se vesículas de reabsorção no colóide e desde o 19º e 23º dae verifico-se ausência de colóide em alguns folículos e, naqueles que apresentavam, também foram encontrados muitas vesículas na periferia, sendo estas indicativas de um tecido tireóide ativo. Os resultados deste estudo demonstram que o bijupirá é a única espécie pelágica com aparecimento do folículo no 1º dae, apresentando atividade aos 8º dae e sendo mais funcional a partir do 19º dae.

Palavras chave: Bijupirá, colóide, larvas, metamorfose e tecido da tireóide.

1. Introdução geral

1.1 O Bijupirá

1.1.1 Biologia de *Rachycentron canadum* (Bijupirá)

O bijupirá *Rachycentron canadum* (Linnaeus 1766) é a única espécie da família Rachycentridae. Trata-se de uma espécie marinha, pelágica, que apresenta hábito migratório, com ampla distribuição em águas tropicais e subtropicais de todo o mundo, com exceção do Mediterrâneo e da costa leste e central do Oceano Pacífico (Golani & Ben-Tuvia 1986, Shaffer & Nakamura 1989). No Brasil, essa espécie ocorre em alto mar, em regiões de coral e em estuários (Figueiredo & Menezes 1980).

Este peixe apresenta escamas pequenas, corpo alongado e subcilíndrico com cabeça grande e achatada. Sua coloração é marrom escura na região superior, marrom claro na parte inferior e nas laterais, com uma faixa preta lateral do focinho passando pelo olho, base da nadadeira caudal, limitada acima e abaixo por uma banda pálida (Shaffer & Nakamura 1989).

Apresenta hábito alimentar carnívoro, e no meio ambiente natural, alimenta-se de peixes, crustáceos e moluscos (Smith 1995). Os adultos são encontrados em salinidade de 22 a 44 ppm e em temperaturas entre 16-32 °C. Atingem 68 kg e até 2 m de comprimento, com uma expectativa de vida a de 15 anos (Shaffer & Nakamura 1989, Figueiredo & Menezes 2000). A primeira maturação ocorre próxima dos 52 cm aos dois anos de vida para machos e 69,6 cm aos três anos para fêmeas (Richards 1967, Franks *et al.* 1998). Em regiões subtropicais a reprodução ocorre nos meses de verão, enquanto

em latitudes mais baixas o período de desova pode ser mais estendido (Shaffer & Nakamura 1989).

1.1.2 Aquicultura do Bijupirá

O primeiro registro sobre a tentativa de criação do bijupirá em cativeiro ocorreu nos anos 1970, quando pesquisadores da Carolina do Norte, EUA, coletaram ovos na natureza e conseguiram manter as larvas e juvenis no laboratório por 131 dias (Hassler & Rainville 1975). No início dos 1990, em Taiwan foi realizada a primeira desova em cativeiro, e desde então as pesquisas continuaram explorando esta espécie, sendo que a partir do 1997 já se tinha desenvolvido uma base tecnológica da produção de larvas de Bijupirá (Yeh *et al.* 1998). Atualmente, em Taiwan, 90% dos estabelecimentos produtores de peixes marinhos que utilizam gaiolas no alto mar produzem esta espécie (Liao *et al.* 2004).

Consequentemente, com o desenvolvimento da atividade neste país, a produção de bijupirá despertou interesse em vários países como China, Vietnã e Filipinas (Benetti *et al.* 2010). Também as pesquisas e a sua produção foram iniciadas nos Estados Unidos, México, Porto Rico, Brasil, e no Caribe; contudo não se conhecem dados de produção de bijupirá em grande escala (Benetti *et al.* 2010, Holt *et al.* 2007, FAO 2011). Segundo a FAO (2011) a produção mundial de bijupirá foi estimada em 40 mil toneladas, destacando-se como principais produtores China e Taiwan.

O aumento do interesse da criação do bijupirá, deve-se principalmente ao seu rápido crescimento, podendo alcançar de 4 a 6 kg em um ano de criação (Arnold *et al.* 2002; Benetti *et al.* 2008) e entre 8 e 10 kg após 16 meses (Liao *et al.* 2004), a boa

qualidade da carne que apresenta uma alta demanda no mercado, especialmente na indústria do “sashimi” e por último sua boa adaptabilidade ao cativeiro tanto em viveiros escavados, em tanques redes, como em sistemas de recirculação (Arnold *et al.* 2002, Liao *et al.* 2004).

Outros aspectos biológicos desta espécie como, aceitar dietas comercialmente disponíveis (Chou *et al.* 2001), capacidade de reprodução em cativeiro com fecundidade elevada (Arnold *et al.* 2002, Franks *et al.* (2001), capacidade para resistir à mudanças de salinidade (Resley *et al.* 2006), boa resposta à vacinação, probióticos e imunostimulantes (Leaño *et al.* 2003, Lin *et al.* 2006, Benetti *et al.* 2008), além de suas características de peixe esportivo, fazem que também seja um peixe de grande potencial para aquicultura marinha.

No Brasil, a produção de bijupirá em escala comercial encontra-se ainda em fase de desenvolvimento, pois a produção de juvenis ainda é limitada. A busca de novas alternativas que ajudem a superar este problema é alvo de trabalhos de instituições privadas e de Universidades, pois o Brasil é um país que apresenta grande potencial para o desenvolvimento desta espécie, tendo em vista condições ambientais ótimas e sua ampla expansão de costa marinha para produção comercial de bijupirá (Cavalli *et al.* 2011, Sampaio *et al.* 2011). Entre as Universidades Federais, destaca-se a Universidade Federal do Rio Grande (FURG), pelo desenvolvimento de novas pesquisas para melhor e incrementar as técnicas de criação desta espécie.

1.1.3 Condições de criação

1.1.3.1 Reprodução e larvicultura

A reprodução de bijupirá em cativeiro pode ser realizada mediante captura de reprodutores do meio natural e indução com dose única de HCG (gonadotrofina coriônica humana) (Franks *et al.* 2001) ou com a reprodução natural em sistemas de recirculação, a qual tem sido realizada desde o ano de 2001 (Arnold *et al.* 2002).

Os sistemas de criação para larvicultura de bijupirá dependem de cada região, pois estes podem ser criados em viveiros fertilizados, em tanques de fluxo contínuo ou em sistemas de recirculação. Por exemplo, em Taiwan os peixes são frequentemente criados desde a eclosão em viveiros com água verde, a baixa densidade de estocagem até 70 dias após a eclosão (dae), quando os juvenis atingem um peso médio de 30 g. A primeira alimentação ocorre aos 3° dae, alimentando-se principalmente de rotíferos e náuplios de copépodos. O período de substituição do alimento vivo pelo o inerte pode ocorrer completamente aos 25° dae. Com este método de criação, o bijupirá atinge aproximadamente 0,2 g aos 20 dias após eclosão, 2,5-5 g aos 45° dae e 30 g aos 75° dae, com uma taxa de sobrevivência de 5-10% durante os primeiros 20 dias de criação.

Nos Estados Unidos, as larvas recém-eclodidas são estocadas em tanques de recirculação de 12 ou em 50 toneladas de água (Benetti *et tal.* 2008b). Os protocolos de alimentação nestes sistemas intensivos consistem de rotíferos enriquecidos (*Brachionus plicatilis*), no qual são adicionado a partir do 3° até 7° dae, náuplios recém-eclodidos de *Artemia franciscana* (AF) do 6° até 9° dae , seguido de náuplios de artêmia enriquecidos (EG) até que as larvas tenham completado totalmente a substituição do alimento vivo pelo o inerte que se da por volta dos 24° -25° dae, em temperatura de 25-28.5 °C (Holt *et al.* 2007, Faulk & Holt 2005).

Para otimizar o crescimento e a eficiência alimentar na larvicultura de bijupirá, as larvas são criadas temperatura entre 28-32 °C, mantendo uma concentração de amônia total abaixo de 0,1 mg/L e o pH por volta de 7- 8. O fotoperíodo ao redor de 13 a 14 horas de luz por dia e a salinidade entre 32-35. A salinidade, após o período de duas semanas, pode ser reduzida para 15 sem prejuízo para o crescimento e a sobrevivência (Benetti *et al.* 2008a, Faulk & Holt 2006).

Independentemente dos sistemas utilizados para a criação das larvas de bijupirá, a larvicultura é ainda apontada como um gargalo para produção desta espécie em grande escala (Holt *et al.* 2007). Esse fato é decorrente de mortalidades durante a troca da alimentação endógena para exógena e durante o período de transição do alimento vivo para o inerte. Assim, mais pesquisas sobre alterações fisiológicas, bioquímicas, genéticas e nutricionais devem ser realizadas para melhorar as taxas de sobrevivência durante a larvicultura desta espécie.

1.1.3.2 Engorda

Embora os sistemas de criação das larvas variem de região em região, os métodos de engorda são similares, pois, utilizam tanques rede de diversos tamanhos perto da costa ou no alto mar até que o bijupirá atinja o tamanho comercial. Como, Taiwan é o principal produtor' desta espécie, as informações das técnicas de engorda estão melhores estabelecidas neste país (FAO 2011).

Existem dois tipos de métodos que os taiwaneses utilizam para a engorda de bijupirá em tanques redes: o familiar e o industrial. No método familiar, os juvenis passam primeiramente por dois tipos de tanques retangulares. O primeiro com 27m³.

onde os peixes são estocados a uma densidade de 2.500 peixes de 10g, durante um período de 2-3 meses e no segundo com 64 m³, com peixes de 100 g a uma densidade de 2000 peixes, durante 3-4 meses. Após este período, os peixes são estocados em tanques redes circulares de 350 m³ em uma densidade 3000 peixes (500g), durante 2-3 meses e finalmente são transferidos para tanques maiores de 1000 m³ a uma densidade de 2500 peixes (2 kg) até que os peixes atinjam o tamanho comercial de aproximadamente 6 kg em 4-6 meses. Já no sistema industrial os peixes são estocados só em tanques redes circulares de 190 m³ com peso inicial de 30 e a densidade de 2500 peixes durante 4-6 meses e em tanques de 1800 m³ na densidade de 4000 peixes (800 g) até que eles atingirem o peso comercial, entre os 6-8 meses. Durante a fase criação destes peixes foram observadas taxas de sobrevivência entre 50% a 70% nas técnicas familiares, enquanto no sistema comercial entre 30-40% (Liao *et al.* 2004).

A utilização de tanques-rede submersíveis no caribe no mar aberto também demonstrou ser eficiente para produção de bijupirá. Tanques de 25 m de diâmetro e 15 de profundidade tem sido utilizado para criar bijupirá desde 1,5 g até 6 kg durante aproximadamente 12 meses, com conversão alimentar de 2 e taxa de sobrevivência acima de 75% (Benetti *et al.* 2007).

Na Brasil, a criação de bijupirá em tanques redes perto da costa também tem mostrado resultados promissores. As pesquisas têm apontado que a criação desta espécie pode ser realizado em três diferentes fases de criação, durante 12 meses de produção. Na primeira fase, juvenis de 50 dias após eclosão e de 1.5 ± 1 g são estocados em gaiolas de 2x3x2 m (tamanho da malha de 3 mm), com volume útil de 10 m³, a uma densidade de 130 peixes por m³ ou 0.02 kg m³ durante um mês. Na fase intermediria, os

peixes são mantidos nas mesmas gaiolas da fase um, mas o tamanho da malha é incrementado para 12 mm e são estocado a uma densidade de 250 peixes ou 4,6 kg m³, e finalmente na fase três (crescimento final) os peixes são transferidos a tanques redes cilíndricos (2.3m de profundidade e 90 m³ de diâmetro), e mantidos a densidade de 1.8 kg m³ durante oito meses. Na fase de crescimento final foram obtidas sobrevivências de 90 % e peixes com peso de 4,2 kg (Sampaio *et al.* 2011).

1.2 A glândula tireóide

1.2.1 A glândula tireóide dos vertebrados

A glândula tireóide de aves, répteis e mamíferos é um órgão anatomicamente reconhecível. Em mamíferos e humanos está localizada na região anterior do pescoço com dois lóbulos bem definido e um istmo que os une, rodeados por uma fina cápsula de tecido conjuntivo de onde partem ramos que se introduzem no parênquima e os dividem em lóbulos (Decuypere 2005, Young 2006). Em peixes não existe um órgão tireóide visível macroscopicamente, em vez disso, os folículos que conformam o tecido da tireóide, encontram-se dispersos individualmente ou aglomerados ao lado da aorta ventral e perto do bulbo arterial (Delgado *et al.* 2006), difusa no tecido conjuntivo das zonas subfaríngea e parafaríngea (Gorbman 1969), como também nas segundas e terceiras artérias branquiais (Ashley 1975). Em espécies como *Cyprinus carpio* L. e *Carassius auratus* os folículos da tireóide, também podem ser detectados perto do coração, rim e no baço (Geven *et al.* 2007).

Embora exista uma grande variação na localização e distribuição dos folículos da tireóide entre as diferentes espécies de peixes, a unidade anatômica e funcional da

tireóide é o folículo, no qual é bastante conservada entre vertebrados (Paris & Laudet 2008). Ele é formado por um epitélio monoestratificado de células foliculares, que por sua vez, tem sua membrana apical em contato com um lúmen onde se acumula um fluido viscoso que recebe o nome de colóide. As células foliculares descansam sobre uma fina lamina basal, e estas podem variar em altura, de tal modo que podem ser cúbicas ou aplanadas dependendo da atividade da tireóide. O colóide se tingem tanto de corantes ácido como básicos e é PAS positivo (Delgado *et al.* 2006) (Figura 1).

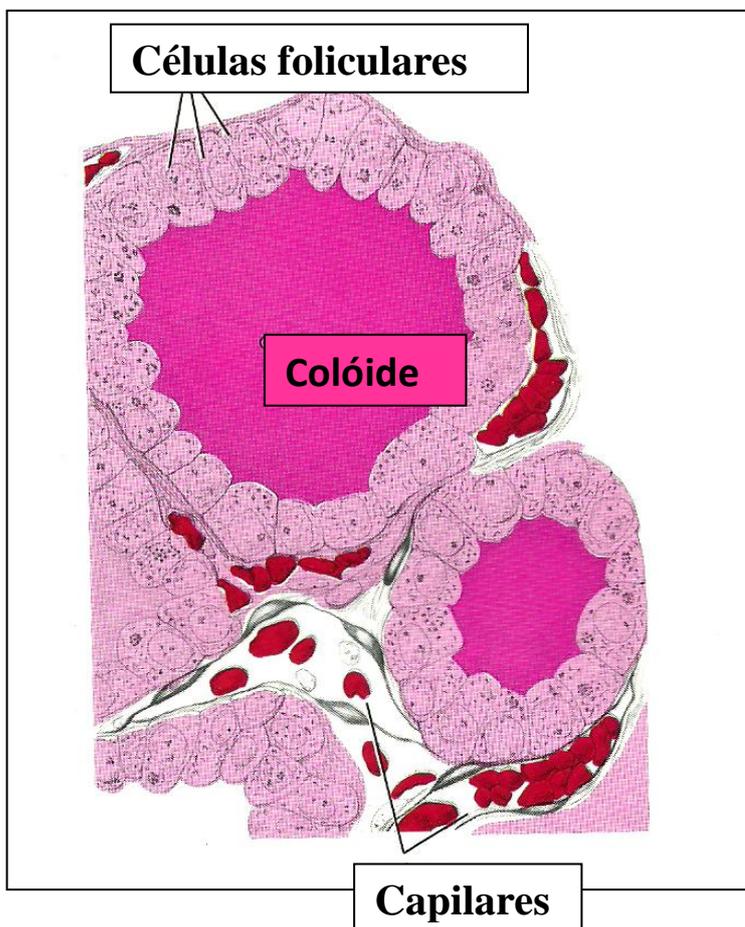


Figura 1: Representação clássica de folículos tireoidianos (Dickson 2003).

1.2.2 Caracterização da ultraestrutura das células foliculares

As células foliculares estão unidas por desmossomo no extremo apical da membrana plasmática lateral; apresentando microvilosidades curtas na superfície celular apical que se estendem para dentro do colóide para fagocitar gotas coloidais. Existe grande abundância de retículo endoplasmático rugoso na região basal e um sistema de Golgi supranuclear bem desenvolvido para a síntese da tireoglobulina (Tg), glicoproteína precursora dos hormônios tireoidianos. A Tg é carregada e liberada por pequenas vesículas do citoplasma para o colóide. As células foliculares, também apresentam abundantes lissomas que se fusionam com pequenas gotas de colóide para fagocitar os fragmentos da Tg e liberar os THs (Herzog 1984).

O colóide está composto por enzimas proteolíticas, muco proteínas e uma glicoproteína chamada tireoglobulina (Tg), que é a precursora da formação dos hormônios da tireóide. Cabe destacar que a tireóide é única entre as glândulas endócrinas, que tem capacidade de armazenar seu produto de secreção (Dickson 2003). Uma das características comparativas dos folículos da tireóide de mamíferos e humanos para com os peixes é que os primeiros apresentam células parafoliculares ou C, produtoras de calcitonina (Figura 2) (Withers 1992). Em peixes esta função é realizada pelos corpúsculos de Stannius, produzindo stanniocalcina, a qual regula a concentração do cálcio plasmático, quando este aumenta além dos níveis normais (Clark *et al.*, 2002).

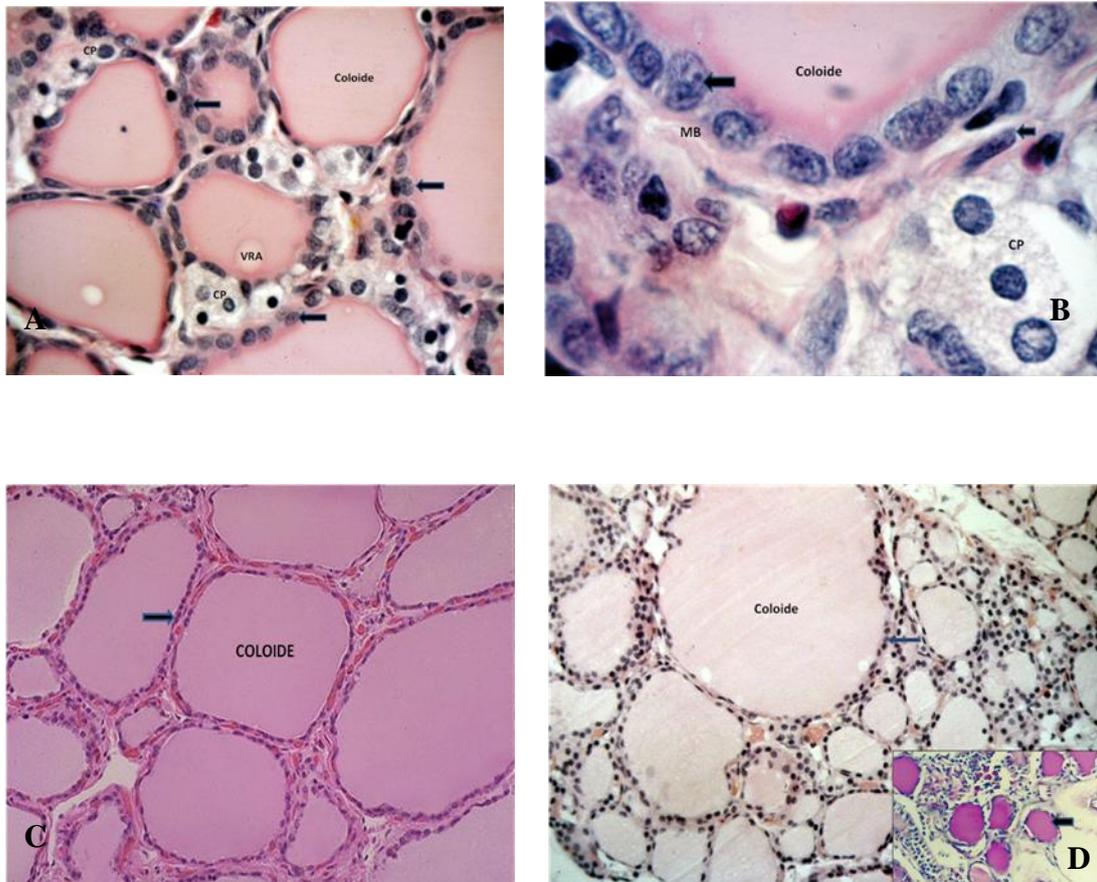


Figura 2: A: Glândula tireóide de humano com folículos revestidos por células foliculares (seta maior), cheios de colóide com vesículas de reabsorção (VRA) e envolta deles se observa as células parafoliculares produtores de cálcio (CP) H-E 20 X. B: Tireóide humana com células foliculares cubóides (seta maior) assentados sobre a membrana basal (MB) e se observa a presença de fibroblastos (seta menor) e varias células parafoliculares (CP) H-E 40 X. C: Tecido tireóideo de truta arco-íris, onde se observam folículos com colóide, células foliculares planas (seta) e não se observa a presença de células parafoliculares. Colóide homogêneo sem vacúolos de reabsorção (VRA) indicando pouca atividade glandular. H-E, 20 X. D: Tecido da tireóide de truta arco íris, presença de folículos com várias vesículas de reabsorção (VRA) e células foliculares mais altas (seta) indicando maior atividade do tecido H-E 20 X, inserto com PAS positivo (seta) 10 X. Imagens obtidas do arquivo pessoal do Prof. Dr. Luis Alberto Romano.

Existe uma íntima relação entre a morfologia do folículo e sua função: as células foliculares mostram alterações morfológicas segundo seu estado funcional, indicando que quando a tireóide está inativa apresenta células foliculares planas e quando se encontra em atividade estas células tornassem cúbicas ou cilíndricas; a presença de vesículas de reabsorção (VRA) no colóide é sinal de uma alta atividade e quando o colóide é homogêneo e sem VRA a atividade é pequena ou nula (Bruggeman 1997).

1.2.3 Síntese dos hormônios tireoidianos (HTs)

Os principais produtos secretados pela tireóide são os HTs, no qual são sintetizados no folículo da tireóide. A síntese destes hormônios depende principalmente da obtenção de iodo, a qual nos peixes é captado principalmente da água através das brânquias e em menor quantidade pela alimentação. Por exemplo, em espécies como truta arco íris o 80% do iodo é captado da água, 19% da dieta e menos do 1% de iodo é reciclado da procedência da degradação dos HTs. Aproximadamente o 5% do iodo consumido é utilizado para a produção HTs (Hunt & Eales, 1979).

A síntese destes hormônios se pode dividir em cinco fases como descrita abaixo e de forma representativa na Figura 3.

1) Captação do iodo no sangue: as células foliculares da tireóide captam o iodo do sangue por meio do transportador Na^+/I^- (NIS) onde é oxidado pela tireoperoxidase, e transportado na cavidade do folículo por meio de um transportador denominado Pendrina.

- 2) Síntese da Tg: ao mesmo tempo em que o iodo é oxidado, a Tg é sintetizada pelo retículo endoplasmático rugoso e no aparelho de Golgi nas células foliculares e esta Tg não iodada é liberada na luz do folículo.
- 3) Iodação da tirosina da Tg: pela ajuda também da tireoperoxidase ocorre a iodinação dos resíduos da tirosina da Tg para produzir as iodo-tirosinas hormonalmente inativa (moniodotirosinas-MIT e diiodotirosinas- DIT) (James *et al.* 2011). Após isto, novamente a tireoperoxidase na interfase célula colóide catalisa o acoplamento das MIT e DIT para formar iodo-tirosinas hormonalmente ativas, sendo duas DIT para formar tiroxina ou 3,5,3',5'-L-tetraiodotironina (T4) e de uma MIT e uma DIT para dar origem a 3,5,3'-L-triiodotironina (T3).
- 4) Armazenamento e endocitose da Tg iodada: a maior parte dos THs produzidos, se não for todos, permanecem na luz dos folículos, ao menos por um curto tempo, e quando as células foliculares são estimuladas pela tirotrófina (Hormônio estimulante da tireoide) captam o colóide pelo processo de endocitose.
- 5) Hidrólise da Tg: as enzimas lisossomais produzidas pelo aparelho de Golgi digerem o colóide, e as proteases lisossomais, rompem as ligações das iodotirosinas da Tg e liberam vários componentes entre eles T4 e T3. Estes hormônios atravessam a membrana plasmática basal e se introduzem nos capilares sanguíneos onde levados por proteínas carregadoras de HTs para as tecido alvos (Takashima & Hibiya 1995, James *et al.* 2011).

A produção dos HTs em peixes teleósteos está sob o controle do TSH (hormônio estimulante da tireoide), na qual é secretado pelas células basófilas tireotróficas da

adenohipófise e estimulado pelo hormônio liberador da tireotrofina (TRH) desde o hipotálamo, para sintetizar e liberar os HTs pelos folículos da tireóide (Chatterjee *et al.*, 2001; Han *et al.*, 2004). A atividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide é regulada por retro-alimentação negativa, que envolve as concentrações dos níveis dos HTs, assim quando os níveis dos HTs são baixos a atividade do hipotálamo-hipófise é incrementada para restabelecer os níveis normais destes hormônios e vice versa (James *et al.*, 2011).

Sabe se que em teleósteos, o principal produto liberado na circulação pelos folículos da tireóide (Brown *et al.*, 2004; Blanton and Specker, 2007) é hormônio T₄, a qual tem poucas ações diretas nas células alvo e por isso é convertido em T₃, que é a forma biologicamente mais ativa (Hadley 1992). A conversão de T₄ a T₃ ocorre nos tecidos periféricos, pela remoção enzimática de um átomo de iodo do anel externo do T₄ pela enzima desiodase D1 (Eales & Brown 1993). Três tipos de desiodase (DI, II e III) são descritas nos teleósteos, cada uma com estrutura e função muito semelhante ao que foi descrito em mamíferos e outros vertebrados (Orozco & Valverde 2005). Portanto, a monodesiodação ou ativação do T₄ a T₃ é regulada pela enzima desiodase (DI e DII), as quais regulam a distribuição local do T₃ para seus receptores nucleares (Yamano 2005). A inativação de T₄ e T₃ ocorre pela desiodação do anel interno catalisada por outro grupo de desiodase (DIII), as quais convertem o T₄ e T₃ em metabólitos inativos (rT₃ e T₂). Outra via para a inativação e excreção de T₄ e T₃ é por conjugação (glucuronidação e sulfatação) e eliminados na bile e urina (Brown *et al.* 2004).

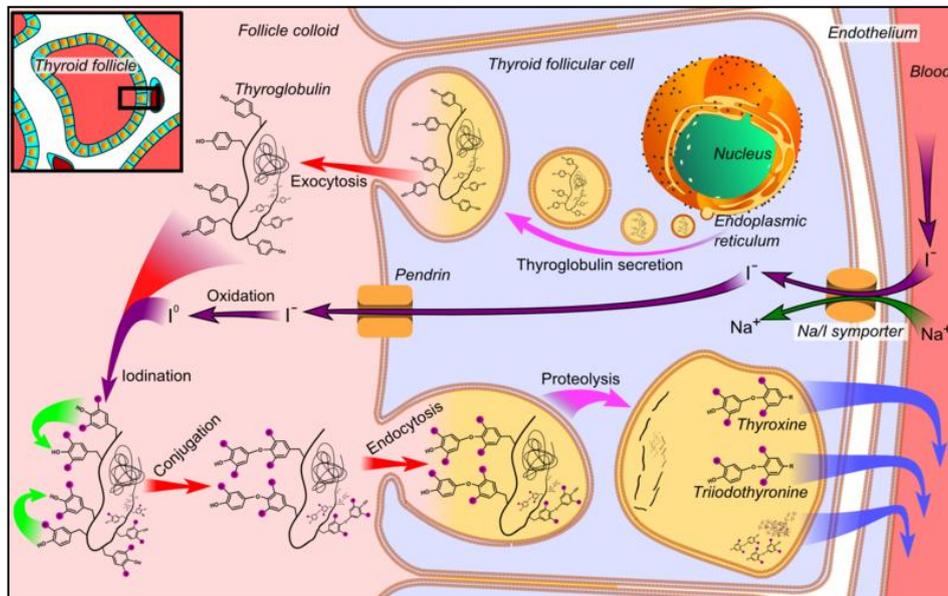


Fig 3: Síntese dos hormônios tireoidianos nos folículos da tireóide e sua liberação no sangue (Walter 2003).

1.2.4 Os HTs em peixes

Os HTs (tiroxina-T4 e triiodotironina-T3), são hormônios que desempenham um papel importante durante a embriogênese e organogênese em todos os vertebrados e estes são incapazes de crescer e atingir sua forma adulta normal em sua ausência. Em peixes teleósteos eles desempenham importante papel durante a embriogênese, desenvolvimento larval e metamorfose.

A presença dos HTs em ovos de peixes teleósteos, antes da eclosão e no vitelo, em várias espécies de peixes de água doce, marinhos ou diádromas tem sido estudada mediante a extração dos HTs dos ovos e larvas e quantificados por técnicas de radioimunoensaio. Esses estudos demonstraram que os HTs encontrados durante o desenvolvimento embrionário são de origem materna, e que esta concentração de hormônios garantirá o crescimento, desenvolvimento, osmorregulação e resposta ao

estresse até que elas tenham desenvolvido o tecido da tiróide para produzir seus próprios hormônios (Tagawa & Hiranot 1990, Yamano *et al.* 2005, Tagawa *et al.* 1990, Lam 1980).

Durante o desenvolvimento larval e metamorfose, os peixes passam por várias mudanças morfológicas para poder se adaptar a um novo habitat. Alguns estudos têm mostrado que estas mudanças fenotípicas observadas durante este tempo, estão influenciadas pelos HTs. A manifestação mais evidente disso é a metamorfose dos Pleuronectiformes, onde a transformação de uma larva pelágica simétrica para um juvenil assimétrico bentônico, migração do olho, alterações na pigmentação da pele, forma do corpo, são exemplos de transformações morfológicas e que estão sob o controle dos hormônios da tireóide (HTs) (Piñuela *et al.* 2004). Por outro lado, mesmo em larvas de peixes que não possuem a metamorfose tão marcante como a encontrada para Pleuronectiformes, os hormônios da tireóide possuem papel fundamental no crescimento, sobrevivência, e desenvolvimento larval (Lam 1980, Urbinati 2008).

Devido à importância dos HTs nos teleósteos, algumas pesquisas avaliaram os efeitos da administração exógena destes hormônios. Os resultados mostraram que aplicação destes HTs ou elevação do T4 induz a metamorfose precoce e incrementa a taxa de transformações (Inui *et al.* 1985). Além das mudanças morfológicas observadas na metamorfose de *Paralichthys olivaceus*, outros tecidos também são influenciados por este hormônio como: acelera o desenvolvimento das glândulas gástricas, eritrócitos e músculo (Power *et al.* 2001). Em outras espécies de peixes como tilápia, os hormônios da tiróide influenciam no crescimento, sobrevivência e absorção do saco do vitelo

(Geven *et al.* 2007). Assim, a inibição da produção dos HTs, retarda todos os processos em que estes influenciam.

1.2.5 Ontogênia do tecido da tireóide

Sabe-se que a unidade funcional da tireoide é o folículo e que este é encarregado de produzir os hormônios da tiroide (HTs). Por isso alguns estudos têm utilizados técnicas histológicas, histoquímica para avaliar o desenvolvimento da tiróide durante os primeiros estádios de vida das larvas.

Ortiz Delgado *et al.* (2006) estudaram o desenvolvimento morfológico do tecido da tireóide em *Solea senegalensis*. Estes autores reportaram que o primeiro folículo tireoidiano foi observado aos quatro dias após eclosão (dae), justo também quando as larvas começaram a primeira alimentação. Os folículos aumentaram tanto de número e tamanho durante o período de metamorfose (12-20 dae), na qual, foi observado a presença de vacúolos no colóide dos folículos, indicando que nesta fase a tiróide era capaz de secretar os HTs. Além disso, foi observado que o tecido da tiróide torna-se funcional por volta dos 6 dae, quando foi primeiramente detectado a imunomarcagem do folículo para T4.

O primeiro folículo tireoidiano em *Hippoglossus hippoglossus* aparece aos 27 dae. Depois, o número de folículos aumentaram durante primeira alimentação (52-70 dae) e durante o período de metamorfose (79-84 dae), assim como o tamanho dos mesmos. A atividade do tecido da tireóide foi avaliada pela ausência de colóide em alguns folículos e a presença de vesículas no colóide durante o período de metamorfose. Os HTs diminuíram durante absorção do vitelo e depois aumentaram durante o período

de metamorfose. Assim, o aumento dos HTs e a aparente atividade da tireóide junto antes e durante metamorfose sugerem que os THs desempenham um papel importante durante este processo (Einarsdóttir *et al.* 2005).

Tanaka *et al.* (1995) relatam que o aparecimento dos folículos depende da espécie, por exemplo, a primeira aparição dos folículos tireoidianos, em peixes com ovos demersais, ocorre antes da eclosão e nas espécies de ovos pelágicos aparecem no final da absorção do vitelo. O número, o tamanho dos folículos e a altura das células epiteliais aumentam com o processo de desenvolvimento da larva e este incremento é mais acentuado durante o período de metamorfose.

O aparecimento do folículo durante transição da alimentação endógena a exógena é essencial para a síntese de seus próprios HTs, pois estes hormônios utilizados durante o desenvolvimento embrionário e durante absorção do saco vitelínico são de origem materna. Além, disso a correlação do desenvolvimento do folículo está bem sincronizada com as mudanças dos níveis de HT no corpo, pois essas alterações morfológicas como o número dos folículos e o tamanho das células foliculares são mais acentuadas quando estes hormônios incrementam no começo da metamorfose (Delgado *et al.* 2006, Tanaka *et al.* 1995, Einarsdóttir *et al.* 2005).

A ontogenia do folículo da tireóide e sua correlação durante o desenvolvimento larval do bijupirá ainda não foi pesquisada, por isso o presente trabalho teve como objetivo estudar as mudanças ontogênicas dos folículos da tireóide em larvas de bijupirá.

2 Objetivo

2.1- Geral

Descrever e estabelecer a ontogenia dos folículos tireoideos nas larvas e juvenis de bijupirá *Rachycentron canadum*.

2.2- Objetivos específicos:

2.2.1- Descrever o desenvolvimento e determinar o número e tamanho dos folículos tireoidianos, e altura das células foliculares durante a ontogênese, em larvas de bijupirá por meio de técnicas histológicas.

3 Referências Bibliográficas

ARNOLD, CR, JB KAISER & GJ HOLT. 2002. Spawning of Cobia *Rachycentron canadum* in Captivity. *J. World Aquacult. Soc.*, 33:205-208.

ASHLEY, LM. 1975. Comparative Fish Histology. In: RIBELIN WE & G MIGAKI. The Pathology of Fishes. Editor: The University of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin, U.S.A. Cap.3:30p.

BENNETTI, CR & B O'HANLON. 2007. Aquaculture of Cobia *Rachycentron canadum* in the Americas and the Caribbean. In: Liao, IC, EM Leño. Cobia aquaculture: research development and commercial production. Manila: Asian Fisheries Society, 2007. 57-77P.

BENETTI, DD, MR ORHUN, GB SARDENBER, B O'HANLON B, A WELCH, R HOENING, I ZINK, JA RIVERA, B DENLINGER, D BACCOAT, K PALMER & F CAVALIN. 2008a. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). *Aquaculture*, 10:701-711.

BENETTI, DD, BO' HANLON, B SARDENBERG, A. WELCH, R. HOENING. 2008. Cultivo de cobia en las Américas y el Caribe. *Infopesca/infofish International*, 33:31-36.

BENETTI, DD, BO HANLON, JA RIVERA, AW WELCH, C MAXEY & MR ORHUN. 2010. Growth rates of cobia (*Rachycentron canadum*) cultured in open ocean submerged cages in the Caribbean. *Aquaculture*, 302:195-201.

BLANTON, ML, JL SPECKER. 2007. The hypothalamic–pituitary–thyroid (HPT) axis in fish and its role in fish development and reproduction. *Crit. Rev. Toxicol.*, 37:97–115.

BROWN, SB, RB EVANS, L VANDENBY, KW FINNISON, VP, KANE, AS YARECHEWSKI & AY MUIR. 2004. Altered thyroid status in lake trout (*Salvelinus namaycush*) exposed to coplanar 3,3', 4,4', 5-pentachlorobiphenil. *Aquat Toxicol.*, 67: 75–85.

CAVALLI, RO, EDC DOMINGUES & S HAMILTON. 2011. Desenvolvimento da produção de peixes em mar aberto no Brasil: Possibilidades e desafios. *R. Bras. Zootec.*, 40: 155-164.

CLARK, MS, L BENDELL, DM POWER, S WARNER, G ELGAR & P M INGLETON. 2002. Calcitonin: characterization and expression in a teleost fish, *Fugu rubripes*. *J M Endocrinol.*, 28: 111–123.

CHOU, RL, MS SU & HY CHEN. 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile 553 cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 193: 81–89.

DECUYPERE, E., VAN ASA, P., VAN DER GEYTEN, S., Y DARRAS, V. M. (2005). Thyroid hormone availability and activity in avian species: A review. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 29: 63-14.

DELGADO, JBO, NM RUANE, P POUSÃO-FERREIRA, MT DINIS & C SARASQUETE. 2006. Thyroid gland development in Senegalese sole (*Solea*

senegalensis Kaup 1858) during early life stages: A histochemical and immunohistochemical approach. *Aquaculture*, 206: 346-356.

DICKSON, W. M., FELDMAN, E. C., HEDGE, G. A., MARTIN, R., Y MCDONALD, L. E. (2003). Fisiología veterinaria cunningham. En Cunningham, J. G. (Ed.), Las glándulas endocrinas y su función (chapter 33, pp. 342-42). 3 ed. Madrid: Elsevier España S.A

EALLES, JG. & SB BROWN. 1993. Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. *Rev. Fish Bol. Fish*, 3: 299-347.

EINARSDÓTTIR, IE, SD NADIA, M POWER & SBTB HEIDDIS. 2005. Thyroid and pituitary gland development from hatching through metamorphosis of a teleost flatfish, the Atlantic halibut. *Anat Embryol*, 211: 47–60.

FAULK, CK & GJ HOLT. 2005. Advances in rearing cobia *Rachycentron canadum* larvae in recirculating aquaculture systems: live prey enrichment and green water culture. *Aquaculture*, 249: 231–243.

FAULK, CK & GJ HOLT. 2006. Reposes of cobia *Rachycentron canadum* larvae to abrupt or gradual changes in salinity. *Aquaculture*, 254: 275-283.

FAO. 2009. Fishstat plus Vers. 2.3.2000: Universal software for fishery statistical time series: Aquaculture production 1950–2007; Capture production 1950–2007. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit.

FAO. 2011. FISHSTAT PLUS: Universal software for fishery statistical time series. Version 2.3.2000. Rome: Fisheries Department Fishery Information, Data and Statistics Unit.

FIGUEIREDO, JL & NA MENEZES. 1980. Manual de peixes marinhos do Sudoeste do Brasil. III Teleostei (2). São Paulo: USP. 90 p.

FIGUEIREDO, JL & NA MENEZES. 2000. Manual de peixes marinhos do Sudoeste do Brasil. São Paulo: Museu de Zoologia /USP. 116 p.

FRANKS, JS, JR WARREN & MV BUCHANAN. 1998. Age and growth of cobia, *Rachycentron canadum*, from the northeastern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin.*, 97: 459-471.

FRANKS, JS, JT OGL, JM LOTZ, LC NICHOLSON, DN BARNES & KM LARSON. 2001. Spontaneous spawning of cobia, *Rachycentron canadum*, induced by human chorionic gonadotropin (HCG), with comments on fertilization, hatching, and larval development. *Proc. Carribb. Fish. Int.*, 52: 598–609.

FRASER, TWK & SJ DAVIES. 2009. Nutritional requirements of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus): a review. *Aquaculture*, 40: 1219-1234.

GEVEN, EJW, NK NGUYEN, MVD BOOGAART, FAT SPANINGS, G FLIK & PHM KLAREN. 2007. Comparative thyroidology: thyroid gland location and iodothyronine dynamics in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) and common carp (*Cyprinus carpio* L.). *The J Exp Biol.*, 210: 4005-4015.

- GORBMAN, A. 1969. Thyroid function and its control in fishes. In: Hoar, WS & Randall (ed). Fish Physiology. Academic Press, New York, U.S.A., 241-274p.
- GOLANI, D & A BEN-TUVIA. 1986. New records of fishes from the Mediterranean coast of Israel including Red Sea immigrants. *Cybiu.*, 10(3):285-291.
- HADLEY, ME. 1992. Endocrinology, 3rd ed. Prentice-Hall International, London.
- HASSLER, WW & RP RAINVILLE. 1975. Techniques for hatching and rearing coibia, *Rachycentron canadum*, through larval and juvenile stages. Univ. N.C. Sea Grant Coll.Prog., Raleigh. 26p.
- HOLT, GJ, CK FAULK & MH SCHWARZ. 2007. A review of the larviculture of coibia *Rachycentron canadum*, a warm water marine fish. *Aquaculture*, 268: 181–187.
- HUNT, DW C & JG EALES. 1979. Iodine balance in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) and effects of testosterone propionate. *J. Fish. Res*, 36: 282.
- INUI, Y & S MIWA. 1985. Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 60: 450-454.
- JAMES A, A CARR & PB REYNALDO. 2011. The hypothalamus–pituitary–thyroid axis in teleosts and amphibians: Endocrine disruption and its consequences to natural populations. *Gen Comp Endocrinol.*, 170: 299–312.
- LAM, T J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (Tilapia) *mossambicus* Ruppel. *Aquaculture*, 21: 287–291.

- LEAÑO, EM, JJ GUO, SL CHANG & IC LIAO. 2003. Levamisole enhances non-specific immune response of cobia, *Rachycentron canadum*, fingerlings. *J Fish Soc Taiwan.*, 30: 321-330.
- LIN, JHY, TY CHEN, MS CHEN, HE CHEN, RL CHOU, TI CHEN, MS SU & HL YANG. 2006. Vaccination with three inactivated pathogens of cobia (*Rachycentron canadum*) stimulates protective immunity. *Aquaculture*, 255, 125-132.
- LIAO, IC, MS HUEI & YC EMILY. 2001. Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture*, 1–31.
- LIAO, IC, TS HUANG, WS TSAI, CM HSUEH, SL CHANG & EM LEAÑO. 2004. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. *Aquaculture*, 237: 155–165.
- OROZCO, A & CR VALVERDE. 2005. Thyroid Hormone Deiodination. In: LIEBERT, M A. Thyroid. Inc. Volume 15, Number 8.
- PARIS, M & V LAUDET. 2008. The history of a developmental stage: Metamorphosis in chordates. *Genesis*, 46: 657–672.
- PIÑUELA, C, NC RENDO, ML GONZALES DE CANALES & C SARASQUETE. 2004. Development of the Senegal sole, *Solea senegalensis* forebrain. *Eur. J. Histochem.*, 48: 377–384.
- POWER, DM, L LLEWELLYN, M FAUSTINO, MA NOWELL, BTH BJÖRNSSON, IE EINARSDOTTIR, AVM CANARIO & GE SWEENEY. 2001. Thyroid hormones in growth and development of fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130: 447–459.

- RESLEY, MJ, KA WEBB & GJ HOLT. 2006. Growth and survival of juvenile coibia, *Rachycentron canadum*, at different salinities in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture*, 253: 398–407.
- RICHARDS, CE. 1967. Age, growth, and fecundity of the coibia, *Rachycentron canadum*, from Chesapeake Bay and adjacent mid-Atlantic waters. *T. Am. Fish. Soc.*, 96(3):343-350.
- SAMPAIO, LA, CB MOREIRA, KC MIRANDA-FILHO & NA ROMBENSO. 2011. Culture of coibia *Rachycentron canadum* (L) in near-shore cages off the Brazilian coast. *Aquacult. Res.*, 42: 832-834
- SHAFFER, RV & EL NAKAMURA. 1989. Synopsis of biological data on the Cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae). NOAA Technical Report NMFS 82. U.S. Department of Commerce, Washington, DC.
- SMITH, JW. 1995. Life history of coibia, *Rachycentron canadum*, (Osteichthyes: Rachycentridae). *North Carolina Waters: Brimleyana*, 23 (1): 1-23.
- TAGAWA, M & M HIRANOT. 1990. Changes in tissue and blood concentrations of thyroid hormones in developing chum salmon. *Gen Comp Endocr.*, 76: 437-443.
- TAGAWA, MM, S TANAKA, MATSUMOTO & T HIRANO. 1990. Thyroid hormones in eggs of various freshwater, marine and diadromous teleosts and their changes during egg development. *Fish Physiol Biochem.*, 8:515–20.
- TAKASHIMA, F & T HIBIYA. 1995. An atlas of fish histologia: Normal and pathological features. Second edition. Japan. Kodansha LTD. 166p.

TANAKA, M, JB TANANGONAN, M TAGAWA, EG DE JESUS, H NISHIDA, M ISAKA, R KIMURA & T HIRANO. 1995. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and application of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture*, 135, 111–126.

URBINATI, EL, LH VASQUES, JA SENHORINI, VL SOUZA & FD GONÇALVES. 2008. Larval performance of matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz 1829), after maternal triiodothyronine injection or egg immersion. *Aquacult. Res.*, 39: 1355-1359.

YAMANO, K. 2005. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. *Jpn Agr Res Q.*, 39:161-168.

YEH, SP, T YANG & TW CHU. 1998. Marine fish seed industry in Taiwan. Workshop on offshore technologies for aquaculture. Haifa.

WALTER, F. 2003. Synthesis of Thyroid Hormones. In: Walter F. A Cellular and Molecular Approach, Elsevier/Saunders (ed.). Cap 48: 1.300.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG

INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA - IOFURG

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA – PPGAQ

CAPITULO ÚNICO

Ontogenia dos Folículos Tireoidianos em de Bijupirá *Rachycentron canadum*

Adriana Patricia Salgado Otero

Orientador: Marcelo Borges Tesser

Co-orientador: Luis Alberto Romano

Resumo

A tireóide através dos hormônios da tireóide (tiroxina e triiodotironina), influenciam principalmente sobre o crescimento, o metabolismo e a metamorfose de peixes. A tireóide é formada por vários folículos tireoidianos que são os encarregados de sintetizar os hormônios tireoidianos que dependendo da atividade do tecido os folículos podem variar de tamanho e de número. Estudos sobre o desenvolvimento da tireóide no bijupirá ainda não foram realizados. Portanto, o objetivo deste estudo foi descrever a ontogenia dos folículos da tireóide em bijupirá. Foram coletados diariamente larvas de bijupirá desde a eclosão até 28 dae e uma nova amostragem foi coletada aos 53 dae. As amostras foram desidratadas em álcool, incluídas em Paraplast, feitos cortes histológicos de 3 μm , reidratados e submetidos à coloração de Hematoxilina- Eosina (H-E) e PAS. Nas larvas do 1º dia após a eclosão (dae), foi constatada a presença de um único folículo. Três folículos foram encontrados no 8º dae e estes foram aumentando com o crescimento da larva, observando-se até 18 folículos no 53 dae. O diâmetro dos folículos e altura das células foliculares foram menores no 1º dae ($6,83 \pm 1,00 \mu\text{m}$ e $4,6 \pm 0,01 \mu\text{m}$), mas aumentaram a partir do 8º dae ($24,03 \pm 0,46 \mu\text{m}$ e $6,43 \pm 0,46 \mu\text{m}$). A partir do 8º dae foi observada vesículas de reabsorção no colóide e desde o 19º e 23º dae, verificou-se ausência de colóide em alguns folículos e, naqueles que apresentavam, também foram encontrados muitas vesículas na periferia, sendo estes indicativos de um tecido da tireóide ativo. Os resultados deste estudo demonstram que o bijupirá é a única espécie pelágica com aparecimento do folículo no 1º dae, apresentando atividade aos 8º dae e é mais funcional a partir do 19º dae.

Palavras chave: Bijupirá, colóide, larvas, metamorfose e tecido da tireóide.

Abstract

The thyroid by means of thyroid hormones (thyroxine and triiodothyronine), mainly influence on growth, metabolism and metamorphosis of fish. The thyroid is composed of several thyroid follicles that depending on the tissue activity can vary in size and number. Studies on the development of the thyroid in cobia have not been performed yet, therefore, the aim of this study was to describe the ontogeny of thyroid follicles in cobia. Were collected daily cobia larvae from hatching until 28 dph and a new sample was collected at 53 dph. The samples were dehydrated in alcohol, embedded in Paraplast, made histological sections of 3 μm , rehydrated and stained by hematoxylin-eosin (HE) and PAS. On the 1st day-post-hatch (dph) we found the presence of a single follicle. Three follicles were found on the 8 dph day and these were increasing with the growth of the larva, observing up to 18 follicles in 53 dph. The diameter of follicles and follicular cell height were lower in the 1 dph ($6.83 \pm 1.00 \pm 4.6 \mu\text{m}$ and $001 \mu\text{m}$), but increased from 8 dph ($24,03 \pm 0,46 \mu\text{m}$ e $6,43 \pm 0,46 \mu\text{m}$). From 8 dph the presence of resorption vesicles was observed in the colloid and since 19 dph and 20 dph, are found where colloid is absent in some follicles, and for the ones that showed colloids, also many peripheral vacuoles were found, these being indicative of an active thyroid tissue. The results of this study demonstrate that the cobia is the only species with the appearance of the follicle in the 1 dph, showing activity at 8 dph and is more functional from 19 dph.

Keywords: Cobia, colloid, larvae, metamorphosis, thyroid tissue and thyroid hormones.

1 Introdução

O bijupirá *Rachycentron canadum* (Linnaeus 1766) é uma espécie marinha, pelágica, que apresenta hábito migratório, com ampla distribuição em águas tropicais e subtropicais do mundo inteiro, com exceção do Mediterrâneo e da costa leste e central do Oceano Pacífico. Características como o rápido crescimento, podendo alcançar de 4 a 6 kg em um ano de cativeiro (Arnold *et al.* 2002, Benetti *et al.* 2008), boa qualidade da carne e adaptabilidade ao cativeiro (Arnold *et al.* 2002), tornam o bijupirá uma espécie promissora para piscicultura marinha. Desta forma, várias pesquisas foram realizadas com o objetivo de se melhorar as técnicas de criação: como exigências nutricionais (Fraser & Davies 2009), reprodução e larvicultura (Liao *et al.* 2004, Faulk & Holt 2005), efeitos dos parâmetros ambientais (Rodrigues *et al.* 2007, Resley *et al.* 2006) e a utilização de imunoestimulantes e vacinas (Leaño *et al.* 2003, Lin *et al.* 2006).

O tecido da tiróide em peixes, por meio de seus produtos hormonais iodados, a tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), influenciam principalmente no crescimento, o metabolismo e a metamorfose (Brown & Bern 1989). Um exemplo bem marcante da influência dos hormônios tireoidianos (HTs) é observado durante a metamorfose dos linguados, onde a transformação de uma larva pelágica simétrica para um juvenil assimétrico bentônico, migração do olho, forma do corpo e o desenvolvimento do sistema digestório são exemplos de alterações morfológicas que estão sob o controle dos HTs (Piñuela *et al.* 2004). Por outro lado, mesmo em larvas de peixes que não possuem a metamorfose marcante os hormônios da tireóide possuem papel fundamental no crescimento, sobrevivência, e desenvolvimento larval (Lam 1980, Urbinati 2008).

A síntese dos HTs está sob o controle do hormônio estimulante da tireoide (TSH), que desde a hipófise estimula a produção destes hormônios nos folículos da tireoide (Yamano 2005, Eales & Brown 1993). Estes folículos são a unidade funcional da tireoide e são formados por uma única camada de células foliculares, que por sua vez, produzem e circundam um lúmen coloidal rico em tireoglobulina (Tg) (BI). A Tg é absorvida e digerida pelas células foliculares para a formação dos HTs (Takashima & Hibiya 1995).

Existe uma íntima relação entre a morfologia do folículo e sua ativação. Em espécies como *Paralichthys olivaceus*, e *Solea senegalensis* observo-se que o número e tamanho dos folículos aumentam quando está ativo ao igual que a altura das células foliculares tornasse de ovoide a células cúbicas ou cilíndricas; também a presença de vesículas de reabsorção (VRA) no colóide é sinal de uma alta atividade e quando o colóide é homogêneo e sem VRA a atividade é pequena ou nula. Estas características são observadas durante o período de metamorfoses, coincidindo com os níveis mais altos de HTs (Einarsdóttir *et al.* 2006, Delgado *et al.* 2006).

Desta forma, o conhecimento das mudanças ontogênicas do tecido da tireoide permite entender melhor, o papel deste tecido sob o desenvolvimento e da metamorfose em larvas. Estudos que descrevam as modificações ontogênicas dos órgãos e sistemas que ocorrem durante o desenvolvimento larval em bijupirá são escassos, e até o presente momento informações sobre tecido da tireoide nesta espécie são inexistentes. Por isso, objetivo de este estudo é estudar o desenvolvimento ontogênico dos folículos da tireoide em larvas e juvenis de bijupirá, e correlacionar este com a metamorfose.

2. Material e Métodos

2. 1. Obtenção das larvas e juvenis e manutenção em laboratório

Larvas de bijupirá (*R. canadum*) foram produzidas no Laboratório da Empresa Aqualider Ltda., Pernambuco, Brasil. Para a produção das larvas, foi utilizado o protocolo de larvicultura descrito por Benetti *et al.* (2008) com modificações.

As larvas recém eclodidas foram estocadas em um tanque de fibra de vidro de 12.000L na densidade de 15 larvas/L. Os tanques eram mantidos em fluxo contínuo com uma taxa de renovação mínima de 500% ao dia. A temperatura da água foi mantida em $29,5 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ e a salinidade em 35 ppt. Os valores de oxigênio dissolvido e o pH foram 6,5 mg/L e $8,09 \pm 0,1$, respectivamente, mantidos desde a desova.

A primeira alimentação foi fornecida ao 2º dia após a eclosão (dae), e até o 6º dae as larvas receberam apenas rotíferos (*Brachionus plicatilis* a 5 mL^{-1}) enriquecidos. No 7º e 8º dae, as larvas foram alimentadas com rotíferos enriquecidos e náuplios de artêmia (*Artemia franciscana* a $0.1-1.0 \text{ mL}^{-1}$) recém eclodidos. Durante todo o período de utilização do rotífero foi também utilizada a microalga *Nannochloropsis oculatta* na densidade de 15×10^4 células/mL. A partir do 9º e 10º dae, os animais foram alimentados apenas com náuplios de artêmia; do 11º até o 15º dae a alimentação foi exclusivamente com artêmia enriquecida, e as larvas foram alimentadas a cada 4h. Do 16º até o 27º dae, foi realizado um período de co-alimentação com artêmia enriquecida e ração (Ração NRD - Inve, EUA - 59% de proteína, 16% lipídeo). A partir do 28º dae, os indivíduos foram alimentados somente com ração 6 vezes ao dia. O enriquecimento dos rotíferos e

artêmias foram realizados com 85% Algamac, 10% Algamac ARA, 5% Algamac Astaxantina.

2.2. Análise histológica

Diariamente, 15 a 20 larvas de bijupirá foram coletadas e sacrificadas em benzocaína e fixadas em formol tamponado 20% até o 15 dae. Depois deste período, um número igual de larvas foi coletado a cada dois dias, até 28 dae. Uma nova amostragem foi realizada com juvenis com 53 dae.

Previamente ao processamento histológico, o comprimento padrão foi medido por meio de estereó microscópio com ocular micrométrica. Larvas acima de 12 mm foram medidas com auxílio de paquímetro digital. As amostras foram desidratadas no processador automático de tecidos LUPE PT 05 com gradiente alcoólico crescente, diafanizadas em xilol e incluídas em Paraplast P3558 (SIGMA). Após o emblocamento, foram obtidos cortes histológicos de 3 µm por meio de micrótomo LUPETEC MRPO3 e desparafinados e reidratados segundo métodos histológicos de rotina e submetidos à coloração de Hematoxilina- Eosina (H-E) e PAS. As lâminas foram fotografadas com uma câmera digital Olympus DP72 conectada a um microscópio óptico Olympus BX45, e foram utilizadas para observar o desenvolvimento, o número e medir o diâmetro dos folículos tireoidianos, assim como também altura das células foliculares. As medidas morfométricas foram tomadas por meio de uma ocular de integração com intervalos de 0,01 micrômetros em 400x (Weibel 1980)

3 Resultados

3.2 Desenvolvimentos dos folículos da tireóide

A análise histológica das larvas e juvenis de bijupirá mostrou que os folículos da tireóide encontravam-se disperso individualmente embaixo da faringe, adjacente à aorta ventral e próxima à inserção dos arcos branquiais (Fig 4,5 e 7).

A primeira evidência da formação do tecido da tireóide nas larvas de bijupirá, foi observada no 1º dia após a eclosão (dae) (comprimento total – CT de $3,8 \pm 0,04$ mm), antes da primeira alimentação (2 dae). Era composto por um único folículo tireoidiano, formado por uma camada de células epiteliais planas, na qual circundavam um lúmen coloidal (Fig. 3). Este folículo foi observado até o 7ºdae (CT. $5,4 \pm 0,2$ mm), e após este período o número de folículos aumentou progressivamente com a idade da larva: encontrando se: três folículos no 8º dae (CT $6,5 \pm 1,7$ mm), seis no 10º (CT $7,6 \pm 0,1$) dae, sete no 14º (CT $16,1 \pm 0,6$ mm) dae, onze no 19º (CT $24, \pm 1,00$ mm) dae e dezoito folículos foram constado até a 53º dae (CT $154,0 \pm 4,6$ mm).

Ao 8ºdae (CT $6,5 \pm 1,7$ mm), foi observado a diferenciação de células epiteliais cubóides, e a presença de pequenas vesículas de reabsorção no colóide, que com transcorrer dos dias estes eram mais evidentes aos 23º dae (CT $34,7 \pm 1,19$) (Fig. 4, 6). Por volta do 19º (CT $24,9 \pm 1,00$ mm) e 23º dae, verificou-se ausência de colóide em alguns folículos da tireóide, tornando-se mais evidente nesta última idade (Fig. 5). Além disso, aos 23º dae em diante, o número de folículos permaneceu constante, verificando-se até 18 folículos por larvas.

O diâmetro dos folículos e a altura das células foliculares aumentaram com o crescimento da larva. Com 1 dae (CT de $3,8 \pm 0,04$ mm) o folículo da tireóide apresentou um diâmetro inicial de $6,83 \pm 1,0$ µm, com um aumento progressivo a partir

do 8 dae (CT $6,5 \pm 1,7$ mm) com $24,0 \pm 0,4$ μm e atingindo o máximo aos 53 dae (CT $154,0 \pm 4,6$ mm) com uma média de $80,57 \pm 0,9$ μm (Fig. 1).

A alturas das células foliculares no 1 dae (CT de $3,8 \pm 0,1$ mm) apresentaram média de $4,6 \pm 0,01$ μm , no 8 dae estavam com $6,43 \pm 0,46$ μm e no 23° dae (CT $34,7 \pm 1,1$ mm) a altura das células foliculares apresentavam $9,8 \pm 0,2$ μm (Fig. 2).

Ao 53° (CT $154,0 \pm 4,63$ mm) dae, os folículos da tireóide apresentavam as mesmas características morfológicas observadas nas larvas de 23° (CT $45,2$ mm) dae (evidenciada de numerosas vesículas e ausência de colóide em alguns folículos) (Fig. 7).

4. Discussão

Anatomicamente o tecido da tireóide em peixes teleósteos é reconhecido por apresentar vários folículos, podendo ser encontrado na aorta ventral, perto do bulbo arterial (Delgado *et al.* 2006, Santamaría *et al.* 2004) e na inserção dos arcos brânquias (Einarsdóttier *et al.* 2006) como também é observado em bijupirá.

Geralmente em peixes marinhos, o primeiro folículo da tireóide é observado durante o desenvolvimento larval, embora o momento para seu surgimento varie entre as espécies. Por exemplo, em *Dentex dentex*, o primeiro folículo foi detectado antes da abertura da boca (3° dae) (Santamaría *et al.* 2004), em *Sciaenops ocellatus*, ocorre antes da absorção completa do vitelo (3° dae) (Domínguez & Holt 2006 e em *Solea senegalensis* ocorre no momento da primeira alimentação (4° dae) (Delgado *et al.*, 2006). No bijupirá, o primeiro folículo da tireóide, foi observado antes da primeira

alimentação (1º dae), sendo a única espécie pelágica estudada até a data, que apresenta folículo da tireóide mais cedo.

O aparecimento do folículo durante transição da alimentação endógena a exógena é essencial para a síntese de seus próprios THs, visto que estes hormônios utilizados durante o desenvolvimento embrionário e durante absorção do saco vitelínico são de origem materna (Delgado *et al.* 2006, Tanaka *et al.* 1995, Tagawa & Hiranot 1990, Yamano *et al.* 2005)

Einarsdóttir *et al.* (2006) observaram em *Hippoglossus hippoglossus* que a medida que a larva vai se desenvolvendo o número de folículos aumenta enquanto o volume de colóide diminui e que este é um indicativo da atividade do tecido da tireóide. Além disso, segundo Delgado *et al.* (2006) em larvas de *Solea senegalensis*, reportaram a presença de vacúolos na periferia do colóide dos folículos, sugerindo um indicativo de que o tecido da tireóide está funcional e apto a secretar os THs. Nesse trabalho, foi observado que o tecido da tireóide em larvas de bijupirá de 8º dae está ativo devido a presença de vacúolos no colóide. No entanto, o folículo apresenta maior atividade a partir do 19º dae, visto que foi neste período de desenvolvimento que se observou o maior número de folículos, menor volume de colóide e maior concentração de vesículas periféricas.

Considerando a influencia do tecido da tireóide sobre o metabolismo e crescimento dos peixes, podemos dizer que alta atividade desta observada pela ausência de colóide nos folículos e presença de muitas vesículas de colóide ainda observada

mesmo após a metamorfose em juvenis de 53° dae poderia ser uns dos fatores que está relacionado com rápido crescimento do bijupirá (Liao & Leão 2007).

O aumento da altura das células foliculares e o tamanho dos folículos são características que tem sido utilizada para correlaciona o desenvolvimento da tireóide com o processo de metamorfose. Por exemplo, Klaren *et al.* (2008) observou que larvas de *Solea senegalensis*, um aumento da altura das células foliculares no estágio da pré-metamorfoses (12° dae), enquanto Delgado *et al.* (2006), trabalhando com a mesma espécie, evidenciou um aumento do tamanho dos folículos, no início da metamorfose. Apesar do bijupirá ser uma espécie que não passa por uma metamorfose abrupta como é observado nos Pleuronectiformes, esta espécie passa pequenas mudanças morfológicas (i.e. formação da primeira lamela branquial e mudanças da cor da nadadeira) por volta do 9° e 10° dae (Benetti *et al.* 2008, Liao *et al.* 2001). O mesmo padrão observado para *Solea senegalensis* ocorreu na espécie alvo deste estudo, pois o aumento do diâmetro dos folículos e a altura das células foliculares também ocorreu na fase de pré metamorfose (8° dae). O incremento do desenvolvimento do tecido da tireóide antes de começar a fase transição nós permite sugerem que este é importante para ajudar a desencadear este processo.

Por outro lado, Delgado *et al.* (2006) e Klaren *et al.* (2008) verificaram que o número de folículos e a altura das células foliculares em *Solea senegalensis* permaneceu constante e decresceram, respectivamente, após o período de metamorfose. Estas mesmas características foram observadas nos juvenis de bijupirá a partir do 23° dae, podendo ser este um indicativo de que esta espécie teria completado sua metamorfose nesta idade. Até o presente momento não foi realizado estudos descritivos sobre a este

período, mas estudos devem ser feitos para determinação do início, meio e fim deste processo, pois é complexo utilizar um único evento para constatar este momento de transição.

Durante o processo de metamorfose é bem conhecido que o epitélio glandular do estômago é geralmente formado em peixes teleósteos (Tanaka 1971). Durante esta fase, parece que os HTs estão envolvidos na diferenciação e aumento destas estruturas. Estudos realizados com *Paralichthys olivaceus*, têm mostrado que utilização exógena do HT (Tiroxina -T4) acelera a formação do epitélio glandular gástrico e aparecimento do pepsinogênio, indicando que este hormônio está envolvido na maturação do estômago destas espécies (Miwa & Inui 1992). No bijupirá o aparecimento do epitélio glandular do estomago se dá por volta dos 8°-10° dae (Faulk *et al.* 2007, Salze *et al.* 2011), justo também quando ocorre um aumento do número de folículos, na altura das células foliculares e a presença vesículas de reabsorção. Portanto, é possível que tecido da tireóide possa estar produzindo os HTs para o desenvolvimento das glândulas gástricas no bijupirá.

5 Conclusão

Este estudo proporcionou informação da descrição morfológica dos folículos da tireóide em larvas e juvenis de bijupirá. Verificou-se que bijupirá é a única espécie pelágica estudada até o presente que apresentou folículo da tireóide ao 1º dae. Também foi verificado que o tecido da tireóide encontrava-se ativo a partir do 8º dae, pela presença de vesículas no cóloide nos folículos. Observou-se que há um incremento de sua atividade a partir do 19º DAE, pela ausência de colóide em alguns folículos, muitas vesículas na periferia do colóide e maior número de folículos. Também foi constatado que aumento do tamanho e número folículos incrementam antes do período de metamorfose, como é observado em alguns peixes planos.

6 Referências Bibliográficas

ARNOLD, CR, JB KAISER & GJ HOLT. 2002. Spawning of Cobia *Rachycentron canadum* in Captivity. *J. World Aquacult. Soc.*, 33: 205-208.

BENETTI, DD, MR ORHUN, GB SARDENBER, B O'HANLON B, A WELCH, R HOENING, I ZINK, JA RIVERA, B DENLINGER, D BACCOAT, K PALMER & F CAVALIN. 2008. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). *Aquaculture.*, 39: 701-711.

BROWN, CL & HA BERN. 1989. Thyroid hormones in early development, with special reference to teleost fish. In: Schreibman, MP & CG Scanes,. (Eds.). Hormones in development, maturation and senescence of neuroendocrine systems. A comparative approach. Academic Press, New York, 289-306.

BRUGGEMAN, V VANMONTFORT, D RENAUVILLE, RD PORTETELLE, E & DECUYPERE, E. 1997. The effect of food intake from two weeks of age to sexual maturity on plasma growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-binding proteins, and thyroid hormones in female broiler breeder chickens. *Gen. Comparat. Endocrinol.*, 107: 212-8.

CHOU, RL, MS SU & HY CHEN. 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 193: 81-89.

DELGADO, JBO, NM RUANE, P POUSSÃO-FERREIRA, MT DINIS & C SARASQUETE. 2006. Thyroid gland development in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) during early life stages: A histochemical and immunohistochemical approach. *Aquaculture*, 206: 346-356.

- DOMÍNGUEZ, RP & GJ HOLT. 2006. Interrenal and thyroid development in red drum (*Sciaenops ocellatus*): Effects of nursery environment on larval growth and cortisol concentration during settlement. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 14: 108–118.
- EALES, JG. & SB BROWN. 1993. Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 3: 299-347.
- EINARSDÓTTIR, IE, SD NADIA, M POWER & SBTB HEIDDIS. 2006. Thyroid and pituitary gland development from hatching through metamorphosis of a teleost flatfish, the *Atlantic halibut*. *Anat. Embryol.*, 211: 47–60.
- FAULK, CK, AD BENNINGHOFF & GJ HOLT. 2007. Ontogeny of the gastrointestinal tract and selected digestive enzymes in cobia *Rachycentron canadum* (L.). *J. Fish Biol.*, 70: 567–583.
- FAULK, CK & GJ HOLT. 2005. Advances in rearing cobia *Rachycentron canadum* larvae in 576 recirculating aquaculture systems: live prey enrichment and green water culture. *577 Aquaculture.*, 249: 231–243.
- FRASER, TWK & SJ DAVIES. 2009. Nutritional requirements of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus): A review. *Aquacult. Res.*, 40: 1219-1234.
- GAVLIK, S, M ALBINO & JL SPECKER. 2002. Metamorphosis in summer flounder: Manipulation of thyroid status to synchronize settling behavior, growth, and development. *Aquaculture*, 203: 359–373.

- GUNDERSEN, HJ & EB JENSEN. 1985. Stereological estimation of the volume weighted mean volume of arbitrary particles observed on random sections. *J. Microsc.*, 138:127–142.
- HIRATA, Y, H KUROKURA. & S KASAHARA. 1989. Effects of thyroxine and thiourea on the development of larval red sea bream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55: 1189–1195.
- KLAREN, PHM, YS WUNDERINK, M YÚFERA, JM MANCERA & G FLIK. 2008. The thyroid gland and thyroid hormones in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) during early development and metamorphosis. *Gen. Comp. Endocr.*, 155: 686–694.
- LAM, T J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambica* Ruppel. *Aquaculture*, 21: 287–291.
- LEAÑO, EM, JJ GUO, SL CHANG & IC LIAO. 2003. Levamisole enhances non-specific immune response of cobia, *Rachycentron canadum*, fingerlings. *J. Fish. Soc.*, 30: 321-330.
- LIN, JHY, TY CHEN, MS CHEN, HE CHEN, RL CHOU, TI CHEN, MS SU & HL YANG. 2006. Vaccination with three inactivated pathogens of cobia (*Rachycentron canadum*) stimulates protective immunity. *Aquaculture*, 255: 125-132.
- LIAO, IC, MS HUEI & YC EMILY. 2001. Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture*, 1–31.
- LIAO, IC, TS HUANG, WS TSAI, CM HSUEH, SL CHANG & EM LEAÑO. 2004. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. *Aquaculture*, 237: 155–165.

- MIWA, S, K YAMANO & Y INUI. 1992. Thyroid hormone stimulates gastric development in flounder larvae during metamorphosis. *J. Exp. Zool.*, 261: 424-430.
- PIÑUELA, C, NC RENDO, ML GONZALES DE CANALES & C SARASQUETE. 2004. Development of the Senegal sole, *Solea senegalensis* forebrain. *Eur. J. Histochem.*, 48: 377–384.
- RESLEY, MJ, KA WEBB & GJ HOLT. 2006. Growth and survival of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*, at different salinities in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture*, 253: 398–407.
- RODRIGUES, RV, MH SCHWARZ, BC DELBOS, LA SAMPAIO. 2007. Acute toxicity and sub lethal effects of ammonia and nitrite for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, 271: 553–557.
- SANTAMARÍA, CA, M MARÍN DE MATEO, R TRAVESET, R SALA, A GRAU, E PASTOR, C SARASQUETE & S CRESPO. 2004. Larval organogenesis in common dentex *Dentex dentex* L. (Sparidae): Histological and Histochemical Aspects. *Aquaculture*, 237: 207–228.
- SALZE, G, M EWEN, RC STEVEN. 2011. Pepsin ontogeny and stomach development in larval cobia. *Aquaculture*, 324: 315-318.
- TANAKA, M. 1971. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae-III. Development of the digestive system during postlarval stage. *Japn. J. Ichthyol.*, 18: 164-174.

TAKASHIMA, F & T HIBIYA. 1995. An atlas of fish histology: Normal and pathological features. Second edition. Japan. Kodansha LTD,166p.

TANAKA, M, JB TANANGONAN, M TAGAWA, EG DE JESUS, H NISHIDA, M ISAKA, R KIMURA, T HIRANO. 1995. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and application of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture*, 135: 111–126.

URBINATI, EL, LH VASQUES, JA SENHORINI, VL SOUZA & FD GONÇALVES. 2008. Larval performance of matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz 1829), after maternal triiodothyronine injection or egg immersion. *Aquacult. Res.*, 39: 1355-1359.

WEIBEL, ER. 1980. Stereological Methods. London: Academic, 2:253–257. YAMANO, K. 2005. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. *Jpn Agr Res Q.*, 39: 161-168.

Figuras

Figura 1. Relação entre o diâmetro dos folículos tireóides de larvas e juvenis de bijupirá *Rachycentrum canadum* com a idade.

Figura 2. Relação entre a altura das células foliculares de larvas e juvenis de bijupirá *Rachycentrum canadum*.

Figura 3. Folículo tireóide em larvas de bijupirá *Rachycentron canadum* no 1º dae, formado por células foliculares (CF), e cheios de colóide (C). HE (Barra = 20 µm)

Figura 4. Folículos tireoidianos em larva do bijupirá *Rachycentron canadum* com 8º dae, cheios de colóide com vesículas de reabsorção (VAR). PAS (Barra = 20 µm).

Figura 5. Folículos tireoidianos em larvas do bijupirá *Rachycentron canadum* no 23º dae, observados próximo à inserção dos arcos branquiais e na aorta ventral. Verificando se alguns folículos sem colóide (FSC). (Barra = 200 µm).

Figura 6. Folículos tireoidianos em larvas do bijupirá *Rachycentron canadum* no 23º dae, com colóide (C) e muitas vesículas de reabsorção (VRA) no mesmo. HE (Barra = 20 µm).

Figura 7. Desenvolvimento do tecido da tireóide em larvas do bijupirá *Rachycentron canadum* no 53º dae. A: Encontra-se folículos sem colóide perto da aorta ventral (AV). HE (Barra = 200 µm) B: folículos com vesículas de reabsorção (VAR) e com muito colóide (C). HE (Barra = 20 µm).

Figura 1.

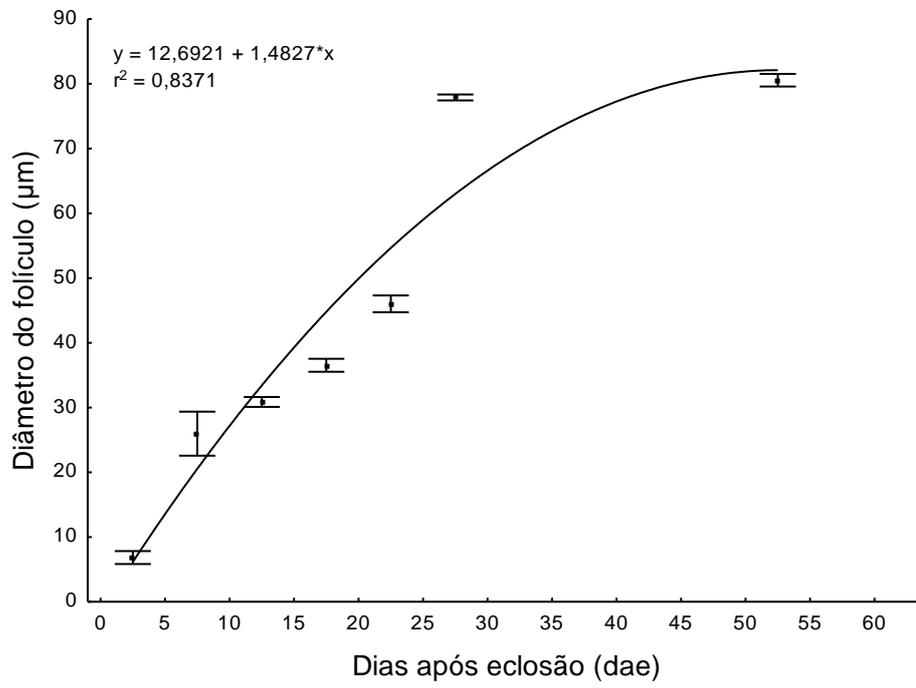


Figura 2.

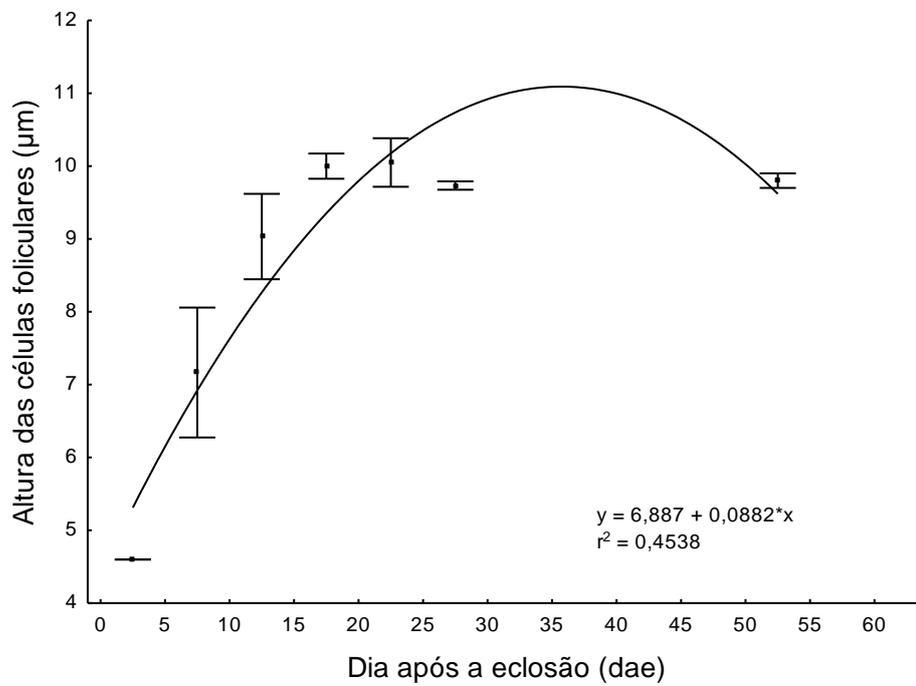


Figura 3

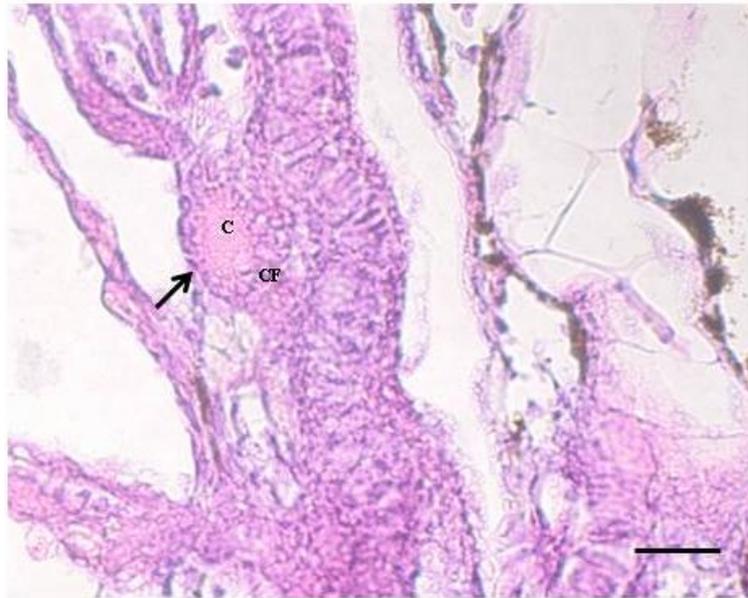


Figura 4

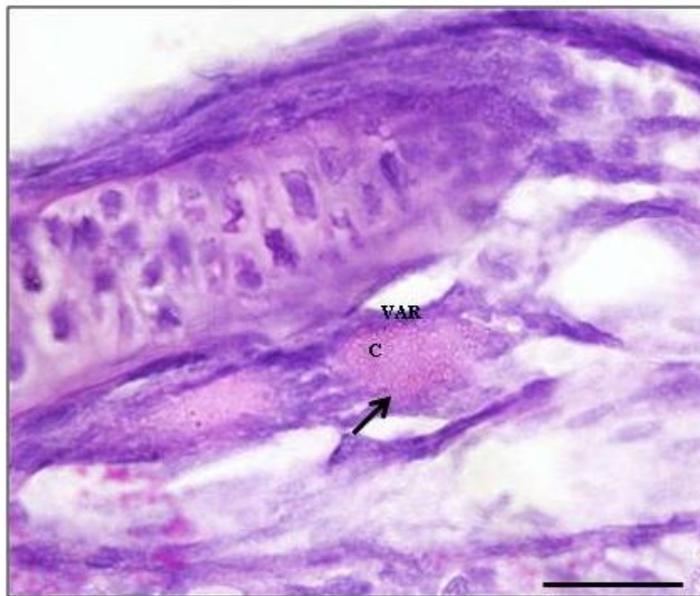


Figura 5



Figura 6.

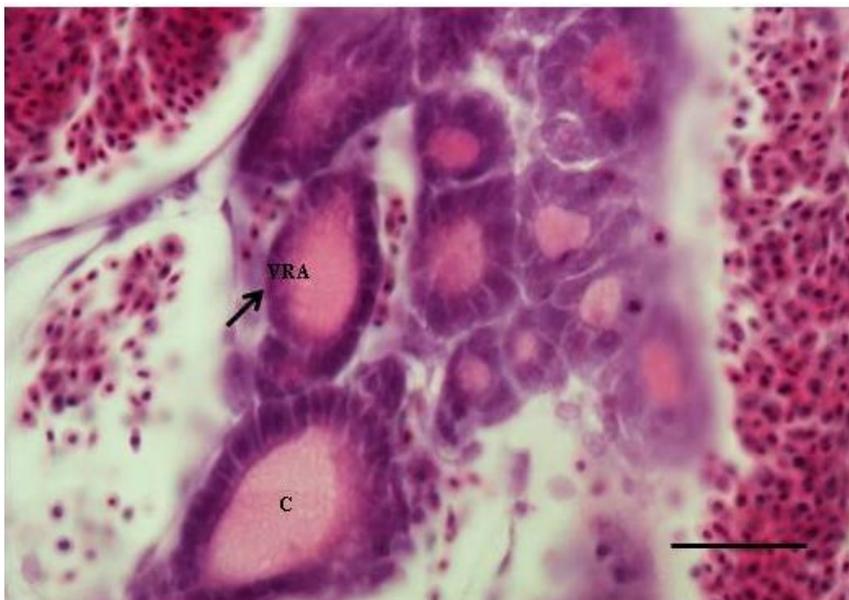


Figura 7

