



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

**Efeito da triiodotironina (T_3) no desenvolvimento larval do
neon gobi *Elacatinus figaro***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientadora: Mônica Yumi Tsuzuki

Renata Maria De Camargo Eugênio

Florianópolis/SC
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Eugênio, Renata Maria de Camargo

Efeito na triiodotironina (T3) no desenvolvimento larval do neon gobi *Elacatinus figaro* / Renata Maria de Camargo Eugênio ; orientadora, Mônica Yumi Tsuzuki - Florianópolis, SC, 2015.

44 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Hormônios da tireoide. 3. Peixe ornamental. 4. Metamorfose. 5. Larvicultura. I. Tsuzuki, Mônica Yumi. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

**Efeito da triiodotironina (T₃) no desenvolvimento larval do neon
gobi *Elacatinus figaro*.**

Por

RENATA MARIA DE CAMARGO EUGÊNIO

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

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

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

Dra. Mônica Yumi Tsuzuki – *Orientadora*

Dra. Ana Silvia Pedrazzani

Dr. Evoy Zaniboni Filho

Dr. Ricardo Vieira Rodrigues

Dedico este trabalho à minha família, Carla, Asshaías e Yasmin, mas principalmente aos meus pais que sempre me apoiaram em todas as decisões.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos a todos que me auxiliaram direta e indiretamente para a realização desse trabalho:

À minha orientadora, Professora Mônica, pela oportunidade, ensinamentos e por acreditar no meu desempenho durante esse período.

Ao pessoal do LAPOM, Cris e Maik, Yuri, Wesley, Dani, Cris Carvalho, Ana Silvia, Rao pelas dicas, sugestões e críticas relacionadas ao mestrado. À Mari, Morgana, Sara, Paulinha, Amanda, Lucas, Giovanni e Eduardo pelos momentos de descontração e trabalho em conjunto.

Aos meus queridos amigos Higor, Mary e Re (técnica) que estavam sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins.

Ao Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos (EMA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), principalmente ao Professor Luis Romano e ao Doutor Ricardo, que cederam espaço para as análises histológicas, auxiliando-me de diversas maneiras com seus conhecimentos e enriquecendo o trabalho. Agradeço também a Marta, que me ensinou todo o processo da histologia convencional. Além disso, o Cassino me proporcionou conhecer pessoas maravilhosas durante meus curtos intervalos como o Mário, Mexicano, Jéssica, Gabriel, Denis, como também os doidos do alojamento, Edu, Paulo, Ivanildo, Boi, Mário, João e minha parceira Bruna.

À toda minha família, que mesmo distante, fizeram-se presentes durante o Mestrado.

Ao meu companheiro, marido e amigo Lucas pela paciência, por escutar meus desabafos, angústias e entender meus acessos de ansiedade como ninguém. Agradeço a sua compreensão e conselhos durante esse período conturbado e por me acompanhar nesse processo.

E, finalmente, agradeço ao Programa de Pós Graduação em Aquicultura da UFSC, ao Carlito que resolveu todas as questões burocráticas com a eficiência de sempre, e ao CNPq pelo auxílio financeiro concedido durante esse período.

RESUMO

O neon gobi *Elacatinus figaro* é um peixe endêmico do Brasil com grande importância no mercado da aquariorfilia. Um dos gargalos para o seu cultivo é o estágio inicial de desenvolvimento larval caracterizado por elevada mortalidade, tanto na primeira semana após a eclosão como também no período que antecede a metamorfose. O experimento avaliou o efeito do hormônio triiodotironina (T_3) na larvicultura do neon gobi em relação a taxa de sobrevivência, ao crescimento e a metamorfose larval. Larvas com 14DAE foram imersas em 3 doses de T_3 : TC (controle) - 0; T01 - 0,01; T025 - 0,025 e T05 - 0,05 mg/L. Uma réplica adicional de cada tratamento foi realizada para análise histológica dos folículos tireoidianos em larvas com 24DAE. As taxas de sobrevivência em TC, T01, T025 e T05 foram de 24, 54, 36 e 37%, respectivamente, sem diferença estatística entre os tratamentos ($P>0,05$). Quanto ao crescimento, os maiores comprimentos foram encontrados no TC. Nos T025 e T05, a metamorfose foi antecipada em até 11 dias em relação ao TC e T01. Em larvas do T01, os folículos eram numerosos com a presença de vesículas de reabsorção na periferia dos coloides, indicando aumento da produção de hormônios da tireoide (HTs), associado ao processo de metamorfose larval. Já no T05, foi observada a diminuição dos folículos em número e tamanho, caracterizando o fim da metamorfose. A utilização das doses de 0,025 e 0,05mg/L de T_3 antecipou a metamorfose do neon gobi, refletindo na diminuição do tempo de larvicultura dessa espécie.

Palavras-chave: 1. Aquicultura. 2. Hormônios da tireoide. 3. Peixe ornamental. 4. Metamorfose. 5. Larvicultura.

ABSTRACT

The barber goby *Elacatinus figaro* is an endemic fish from Brazil of great importance to the aquarium trade. One of the bottlenecks for its cultivation is the initial stage of larval development characterized by high mortality, especially in the first week after hatching, but also in the period prior to metamorphosis. The experiment evaluated the triiodothyronine hormone (T_3) in larvae of the barber goby and its effect on survival, growth and metamorphosis. Larvae with 14 DAH (days after hatch) were immersed in 3 doses of T_3 : TC (control) – 0; T01 – 0.01; T025 – 0.025 and T05 – 0.05 mg/L. An additional replicate of each treatment was performed for histological analysis of the thyroid follicles in 24 DAH larvae. Survival rates in TC, T01, T025 and T05 were 24, 54, 36 and 37%, respectively, without significant differences between treatments ($P>0.05$). In relation to larval growth, the greatest length values were obtained in TC. In T025 and T05, metamorphosis was anticipated in up to 11 days in relation to TC and T01. In larvae of the T01, the follicles were numerous with presence of reabsorption vesicles in the colloid periphery, indicating increased production of thyroid hormones (THs), associated with larval metamorphosis process. In T05, it was observed a reduction of the follicles in number and size, indicating the end of metamorphosis. The use of 0.025 and 0.05 mg/L of T_3 doses anticipated the metamorphosis of the barber goby, reflecting in the decrease in the larviculture period of this specie.

Keywords: 1. Aquaculture. 2. Thyroid hormones. 3. Ornamental fish. 4. Metamorphosis. 5. Larviculture.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	16
O neon gobi.....	16
Produção em cativeiro	17
Hormônios da tireoide em peixes	18
Tratamento com hormônios da tireoide em peixes	20
OBJETIVOS	23
Objetivo Geral	23
Objetivos Específicos	23
Efeito da triiodotironina (T_3) no desenvolvimento das larvas do neon gobi <i>Elacatinus figaro</i>	24
1. INTRODUÇÃO	24
2. MATERIAL E MÉTODOS	26
2.1. Local, origem dos animais e condições de manutenção	26
2.2. Desenho Experimental	26
2.3. Sobrevivência, crescimento e metamorfose larval.....	28
2.4. Análise histológica dos folículos tireoidianos	28
2.5. Análise estatística	29
3. RESULTADOS.....	29
3.1. Sobrevivência, Crescimento e Metamorfose	29
3.2. Folículos tireoidianos.....	31
4. Discussão	34
5. Conclusão.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	41

INTRODUÇÃO GERAL

O neon gobi

O neon gobi *Elacatinus figaro* (Fig. 1), pertencente à família Gobiidae, é uma espécie endêmica do Brasil, que ocorre desde o Ceará até Santa Catarina (CARVALHO-FILHO, 1999). É encontrada em recifes de corais sobre fundos rochosos, tanto na costa como em ilhas oceânicas, ocorrendo em profundidades que podem variar de 3-30m (SAZIMA et al., 1997).



Figura 1. Exemplos adultos da espécie *Elacatinus figaro*.

Considerado um peixe limpador (Fig. 2), possui importante papel em ambientes recifais, atuando na limpeza de uma variedade de clientes, incluindo desde pequenos herbívoros a grandes carnívoros (SAZIMA et al., 2000). Os limpadores possuem o hábito de remover ectoparasitas (fungos, bactérias e crustáceos), tecido doente, muco e escamas provenientes do corpo de outros peixes e invertebrados (CAMPOS e SÁ-OLIVEIRA, 2011; SOUZA et al., 2014). A presença de ectoparasitas ocorre principalmente na pele, brânquias e cavidade bucal. O processo de fixação dos parasitas no tecido branquial dificulta as trocas gasosas, aumentando o nível de estresse em peixes que pode refletir na interrupção do processo de desova natural dos peixes, afetando a qualidade dos ovos e das larvas (ZIMMERMAN et al., 2001). Desta forma, os peixes limpadores além de remover os parasitas de outros peixes, atuam na redução dos níveis de estresse de seus clientes, auxiliando na sanidade e bem-estar através do estímulo tátil de suas nadadeiras pélvicas e peitorais (BSHARY et al., 2007).

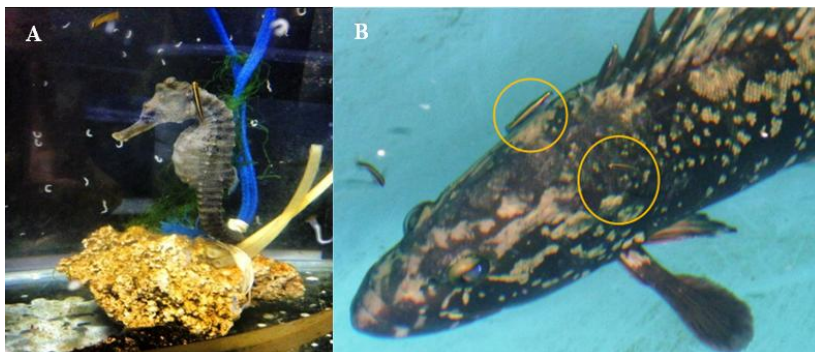


Figura 2. Neon gobi *Elacatinus figaro* limpando diferentes clientes. Fonte: A) LAPOM; B) Souza et al. (2014).

Além de sua importância como peixe limpador, o neon gobi possui características que fazem com que este peixe seja de grande interesse para o mercado da aquariofilia, como a coloração preta com duas faixas amarelas laterais que percorrem todo o corpo até a nadadeira caudal (Fig.1), o comportamento ativo e a fácil adaptação ao cativeiro (CARVALHO-FILHO, 1999; SAZIMA et al., 1999; ARAÚJO e ALBUQUERQUE-FILHO, 2005). Entretanto, devido à captura em larga escala no ambiente natural, ocasionando a queda dos estoques, o neon gobi foi incluído na lista de espécies ameaçadas de extinção a partir de maio de 2004, sendo proibido pelo IBAMA a sua captura e o seu comércio (Instrução Normativa Número 5 de 21 de maio de 2004). Diante deste quadro, estudos para viabilizar a produção do neon gobi em cativeiro vêm sendo realizados desde 2008 pelo Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Universidade Federal de Santa Catarina (MEIRELLES et al., 2009; CÔRTEZ e TSUZUKI, 2010; SOUZA, 2012).

Produção em cativeiro

A produção do neon gobi em cativeiro, bem como de outras espécies ameaçadas de extinção, pode ser uma ferramenta importante e sustentável para diminuir a coleta dos animais no ambiente natural, colaborando com a recuperação dos estoques naturais e evitando um desequilíbrio nas relações interespecíficas nos recifes de corais. Pois a diminuição no número de peixes limpadores em uma área pode influenciar a biodiversidade e a abundância de espécies de peixes que migram entre recifes de corais (GRUTTER et al., 2003).

Neste contexto, a piscicultura marinha ornamental depende da capacidade de produção de ovos viáveis e do aumento no número de larvas que sofrem metamorfose para juvenis (HOLT, 2003). A fase inicial de vida da larva é o período mais crítico na produção da maioria dos peixes ornamentais marinhos (HOLT, 2003). Algumas dificuldades estão associadas ao desenvolvimento de técnicas de larvicultura como a falta de conhecimento das condições ambientais ótimas, hábito alimentar e necessidades nutricionais nas fases iniciais de vida da larva, além de fatores que influenciam o crescimento e a sobrevivência dos animais (PLANAS e CUNHA, 1999).

O estágio de desenvolvimento larval do neon gobi tem uma duração de até 44 dias e caracteriza-se por elevada mortalidade, tanto na primeira semana após a eclosão, quando a larva sofre a transição para a alimentação exógena (MEIRELLES et al., 2009), como também no período da metamorfose (SHEI et al., 2010). Neste último período ocorre a modificação das nadadeiras pélvicas na qual a larva planctônica passa a ter um comportamento bentônico e, dois dias após o assentamento, a larva apresenta a típica coloração preta e amarela, caracterizando o final da metamorfose (MEIRELLES et al., 2009; SHEI et al., 2010). Durante esse período crítico, ocorre a diferenciação dos sistemas e dos órgãos, processos esses que dependem da ação dos hormônios regulatórios, incluindo os hormônios da tireoide (VASQUES, 2003; KLAREN et al., 2007).

Hormônios da tireoide em peixes

Os hormônios tireoidianos (HTs) tem papel essencial na regulação das mudanças moleculares, bioquímicas e morfológicas que ocorrem durante o desenvolvimento inicial, diferenciação de tecidos, metabolismo e no processo de metamorfose de anfíbios e algumas espécies de peixes (POWER et al., 2001; VASQUES, 2003). Os HTs são produzidos nos folículos tireoidianos, que podem ser encontrados dispersos ao redor da aorta ventral, rim cefálico, coração (pericárdio), olhos, região faringiana e ovário (EALES e BROWN, 1993; LIMA e LOURES, 2001). O folículo tireoidiano (Fig. 3) consiste em uma única camada de células epiteliais (tireócitos) que rodeiam um lúmen contendo coloide proteico, rico em tireoglobulina (Tg) que, em conjunto com células foliculares e iodo inorgânico (I), formam a L-tiroxina (T₄), principal hormônio secretado pela glândula (EALES e BROWN, 1993; BROWN et al., 2004; YAMANO, 2005; CARR e PATIÑO, 2011).

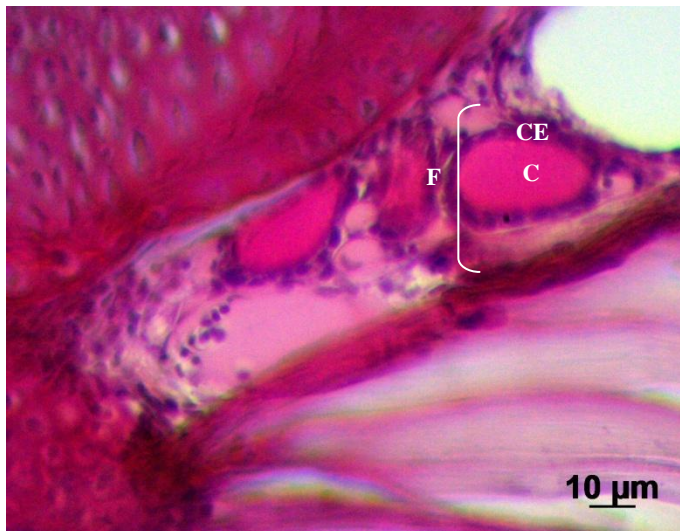


Figura 3. Folículos tireoidianos presentes em *Elacatinus figaro* com 24 dias após a eclosão. (F – Folículo tireoidiano, C - Coloide, CE – Camada de células epiteliais).

O controle da produção do T_4 ocorre na pituitária através do hormônio estimulante da tireoide ou tireotropina (TSH), uma glicoproteína que é secretada por células tireotróficas pituitárias (BROWN et al., 2004; YAMANO, 2005). Quando os níveis de HTs presentes no sangue estão muito baixos, o controle da secreção desses hormônios é realizado através do aumento da atividade do eixo hipotálamo-pituitária-tireoide (HPT), elevando a produção de HTs nos folículos tireoidianos (CARR E PATIÑO, 2011). Além do T_4 , este eixo também secreta o hormônio 3,5,3' triiodo-L-tironina (T_3), porém em menores proporções (BROWN et al., 2004). Esses hormônios circulam ligados a lipoproteínas plasmáticas específicas e são transferidos para vários tecidos do corpo onde uma porcentagem significativa de T_4 pode ser convertida a partir de uma deiodinação em T_3 , através de remoção enzimática do componente de I do anel externo de T_4 (LIMA e LOURES, 2001; POWER et al., 2001; BLANTON e SPECKER, 2007). Essa etapa ocorre em tecidos periféricos, tais como o fígado, e é fundamental para a regulação dos hormônios devido ao T_3 apresentar uma afinidade dez vezes maior do que o T_4 aos sítios de receptores nucleares ($TR\alpha$ e $TR\beta$), sendo considerado o T_4 como pró-hormônio e o T_3 como a forma ativa dos HTs (CYR e EALES, 1996; BLANTON e SPECKER, 2007). As taxas de T_4 e T_3 variam amplamente dependendo do estado fisiológico do

indivíduo, incluindo como a hora do dia, variações de salinidade, níveis de pH e condição reprodutiva (EALES e BROWN, 1993). A desativação do T_4 e T_3 ocorre pela deiodinação do anel interno catalisado por outro grupo de enzimas deiodinases (D_3) (CARR E PATIÑO, 2011).

Os HTs atuam desde o processo de embriogênese em peixes, sendo encontrados em quantidades substanciais em ovos não fertilizados pela deposição dos hormônios através da mãe (BROWN et al., 1988; MYLONAS et al., 1994; YAMANO, 2005). O equilíbrio de HTs em ovos auxilia no crescimento e desenvolvimento de embriões e larvas antes do início da produção endógena desses hormônios na prole (POWER et al., 2001). A formação do folículo tireoidiano ocorre somente após a absorção do vitelo pelas larvas em algumas espécies de peixes (NACARIO, 1983). Durante o desenvolvimento da larva, ocorre um aumento progressivo no número e tamanho dos folículos como também na altura das células epiteliais, principalmente no período de metamorfose (YAMANO et al., 1991; TANAKA et al., 1995; DELGADO et al. 2006). Geralmente em ovos e larvas de peixes de água doce é verificada maior concentração de T_4 que T_3 , enquanto que em peixes marinhos, foram encontradas maiores concentrações de T_3 (POWER et al., 2001; TAGAWA et al., 1990). A maior abundância de T_3 em espécies marinhas pode estar relacionada com diferenças da atividade de deiodinação (BROWN et al., 1988; POWER et al, 2001).

Tratamento com hormônios da tireoide em peixes

A metamorfose é uma mudança irreversível na morfologia e na fisiologia dos animais caracterizada pela passagem de estágio larval para juvenil, tanto em anfíbios como em algumas espécies de peixes. Esta transformação é controlada principalmente por hormônios da tireoide (POWER et al., 2001; YAMANO, 2005). O exemplo mais marcante ocorre em linguados (Ordem Pleuronectiformes), em que uma larva pelágica que apresenta simetria bilateral se transforma em um juvenil bentônico assimétrico, que possui ambos os olhos do mesmo lado do peixe. Além de alterações morfológicas externas distintas que ocorrem durante a metamorfose larval, são observadas alterações internas associadas ao músculo esquelético, a formação das glândulas gástricas e maturação de eritrócitos (INUI et al., 1995; HUANG et al., 1998; BLANTON e SPECKER, 2007). Neste processo, os hormônios tireoidianos são necessários, observando-se um aumento na concentração de T_3 (MIWA et al., 1988; INUI et al., 1995; DELGADO et al., 2006; EINARSDÓTTIR et al., 2006).

Uma vez que os hormônios tireoidianos tem papel essencial na fase inicial de desenvolvimento (BLANTON e SPECKER, 2007), estudos realizados com a administração de HTs exógenos em peixes mostram efeitos positivos relacionados ao crescimento, desenvolvimento, sobrevivência das larvas, diminuição do canibalismo e aceleração da metamorfose (BROWN et al., 1988; BROWN et al., 1989; REDDY e LAM, 1992; BROWN e KIM, 1995; DE JESUS et al., 1998; VASQUES, 2003; URBINATI et al., 2008; GERASIMOV et al., 2012). No entanto, em alguns casos resultam em efeitos contraditórios como anomalias associadas a altas concentrações e exposição aos HTs (MYLONAS et al., 1994; DUMMONT-NETO, 2000; CLEMENT et al., 2001). Algumas técnicas experimentais foram utilizadas para avaliar os efeitos dos HTs no desenvolvimento inicial dos peixes como a imersão de ovos e larvas em HTs e a técnica de injeção intramuscular de HT em fêmeas maduras. Segundo De Jesus et al. (1998), a imersão das larvas da garoupa *Epinephelus coioides* em doses baixas de T_3 (0,01 mg/L) foi suficiente para acelerar a metamorfose e diminuir a mortalidade larval. Em larvas de “pacific threadfin” *Polydactylus sexfilis*, o T_3 reduziu a mortalidade e o seu efeito combinado com o cortisol acelerou o desenvolvimento do intestino (BROWN e KIM, 1995). Em kingiuo *Carassius auratus*, a imersão em 0,01mg/L de T_3 acelerou a pigmentação e o processo de exoftalmia característico dessa espécie (REDDY e LAM, 1992). O tratamento através da injeção intramuscular de T_3 em fêmeas influenciou no conteúdo de HT nos ovos e na taxa de sobrevivência larval de várias espécies (BROWN et al., 1988; BROWN et al., 1989; MYLONAS et al., 1994; URBINATI et al., 2008). Com a imersão dos ovos do matrinxã (*Brycon cephalus*) em HT, foi observada uma aceleração no desenvolvimento da musculatura esquelética, sistema digestivo e inflação da bexiga natatória das larvas, além da redução do canibalismo (VASQUES, 2003). Por outro lado, a imersão de larvas do peixe palhaço *Amphiprion ocellaris* em uma concentração de 2mg/L de T_3 ocasionou em retardamento da metamorfose, ausência das bandas brancas e efeitos negativos no processo de inflação da bexiga natatória (CLEMENT et al., 2001). Em um estudo utilizando injeção intramuscular de T_3 em fêmeas maduras de truta marrom *Salmo trutta* foram observadas anormalidades esqueléticas na prole, associadas à alta concentração de T_3 ao final da absorção do saco vitelino (MYLONAS et al., 1994).

A extração e a quantificação dos HTs em ovos e larvas de peixes podem ser realizadas por técnicas de radioimunoensaio (RIA), biologia molecular, por determinação da atividade dos receptores nucleares de HT e por técnicas de histologia convencional e

imunohistoquímica (TAGAWA e HIRANO, 1990; MYLONAS, et al., 1994; TANAKA et al., 1995; VASQUES, 2003; DELGADO et al., 2006). Através da técnica de histologia convencional, pode ser observada a atividade da tireoide e o processo de metamorfose por meio do número, tamanho, volume dos colóides nos folículos tireoidianos, como também pela altura das células foliculares e pela presença de vacúolos no colóide (DELGADO et al., 2006; EINARSDÓTTIR et al., 2006; OTERO et al., 2014).

Apesar de diversos trabalhos terem avaliado o efeito dos hormônios tireoidianos em peixes, a ação dos HTs ainda não está bem elucidada, e ainda existem muitas dúvidas sobre sua participação no processo de desenvolvimento inicial, fazendo-se necessários maiores estudos em diferentes espécies. Pesquisas sobre o efeito da administração dos HTs em peixes ornamentais são escassos, porém alguns trabalhos com peixes de corte confirmam a eficiência dos hormônios em relação à fase inicial de algumas espécies (BROWN et al., 1988; BROWN et al., 1989; BROWN e KIM, 1995; DE JESUS et al., 1998; VASQUES, 2003, URBINATI et al., 2008, GERASIMOV et al., 2012).

Como citado anteriormente, um dos gargalos para a produção do neon gobi é o estágio de desenvolvimento larval, compreendido por um período longo e caracterizado por elevada mortalidade, tanto na primeira semana após a eclosão, quando a larva passa para a alimentação exógena (MEIRELLES et al., 2009), como também no período que antecede a metamorfose (SHEI et al., 2010). O aumento da sobrevivência, bem como uma antecipação da metamorfose em neon gobi facilitaria o seu cultivo, reduzindo o período de larvicultura e os custos com a produção de alimento vivo. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações da triiodotironina (T_3) na sobrevivência, no comprimento total e na idade de metamorfose do neon gobi *Elacatinus figaro*.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar a influência do hormônio triiodotironina (T_3) exógeno na larvicultura do neon gobi *Elacatinus figaro*.

Objetivos Específicos

- Verificar a taxa de sobrevivência e o crescimento larval com o uso de diferentes concentrações da triiodotironina (T_3);
- Verificar se diferentes concentrações de T_3 influenciam a idade de metamorfose larval;
- Descrever o folículo tireoidiano em larvas nos diferentes tratamentos.

Este trabalho será submetido à revista científica Aquaculture Internacional e está formatado conforme as normas da revista.

Efeito da triiodotironina (T₃) no desenvolvimento das larvas do neon gobi *Elacatinus figaro*

Renata Maria de Camargo Eugênio¹, Ricardo Vieira Rodrigues², Luis Alberto Romano², Mônica Yumi Tsuzuki¹

¹Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil

²Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos (EMA) da Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil

Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Servidão dos Coroaes, 503 – CEP 88061-600 – Barra da Lagoa – Florianópolis – SC – Brasil. Telefone (48) 37214792. Email: renataeugenio@hotmail.com; monica.tsuzuki@ufsc.br

1. INTRODUÇÃO

O neon gobi, *Elacatinus figaro*, pertencente à família Gobiidae, é uma espécie endêmica do Brasil, que possui importante papel em ambientes recifais, atuando na limpeza de ectoparasitas de uma variedade de clientes, incluindo desde pequenos herbívoros a grandes carnívoros (Sazima et al. 1997; Sazima et al. 2000). Devido a esta característica e a sua coloração preta e amarela exuberante, comportamento ativo, fácil adaptação ao cativeiro (Carvalho-Filho 1999; Sazima et al. 1999), o neon gobi é bastante popular no mercado da aquarofilia (Araújo e Albuquerque-Filho 2005). Entretanto, devido à coleta em larga escala no ambiente natural, foi considerada como espécie ameaçada de extinção, sendo, portanto proibidos sua captura e o seu comércio pelo IBAMA (Instrução Normativa Número 5 de 21 de maio de 2004).

A produção do neon gobi em cativeiro pode ser uma ferramenta importante e sustentável para diminuir o extrativismo dessa espécie no ambiente natural. O cultivo colaboraria para diminuição da pressão de coleta exercida sobre os estoques naturais bem como evitaria o desequilíbrio nas relações interespecíficas nos recifes de corais causado pela exploração. A diminuição no número de limpadores em uma área pode influenciar na biodiversidade e na abundância de espécies de peixes que migram entre recifes de corais (Grutter et al. 2003).

Um dos principais gargalos para a produção do neon gobi é o desenvolvimento larval, compreendido por um longo período (até 44 dias) e caracterizado por elevada mortalidade, tanto na primeira semana

após a eclosão, quando se inicia a alimentação exógena (Meirelles et al. 2009), como também no período que antecede a metamorfose (Shei et al. 2010). Neste contexto, a piscicultura marinha ornamental depende da capacidade de produção de ovos viáveis e do aumento no número de larvas que sofram metamorfose para juvenis, sendo a fase inicial de vida da larva considerada a mais crítica na produção da maioria dos peixes ornamentais marinhos (Holt 2003). Estudos evidenciam que durante o período de metamorfose, tanto em anfíbios como em algumas espécies de peixes, ocorre a diferenciação dos sistemas e dos órgãos, processos esses que dependem da ação dos hormônios regulatórios, incluindo os hormônios da tireoide (HTs) (Vasques 2003, Yamano 2005, Klaren et al. 2007, Carr e Patiño 2011, Brown et al. 2014).

Os HTs tem papel essencial na regulação das mudanças moleculares, bioquímicas e morfológicas que ocorrem durante o desenvolvimento inicial, diferenciação dos tecidos, metabolismo e durante o processo de metamorfose (Power et al. 2001). Os HTs são produzidos no folículo tireoidiano, que consiste em uma única camada de células epiteliais que rodeiam um lúmen contendo coloide proteico. Os principais hormônios secretados são a L-tiroxina (T_4) e, em menor proporção, o hormônio 3,5,3' triiodo-L-tironina (T_3) (Eales e Brown 1993; Brown et al. 2004; Yamano 2005; Carr e Patiño 2011). Ambos circulam ligados a lipoproteínas plasmáticas específicas e são transferidos para vários tecidos do corpo onde uma porcentagem significativa de T_4 pode ser convertida em T_3 (Lima e Loures 2001; Power et al. 2001). Estudos realizados com HTs exógenos em peixes mostram efeitos positivos quanto ao crescimento, desenvolvimento, sobrevivência das larvas, diminuição do canibalismo e aceleração da metamorfose na fase inicial de algumas espécies (Brown et al.1988; Brown et al. 1989; Reddy e Lam 1992; Brown e Kim 1995; De Jesus et al. 1998; Vasques 2003; Urbinati et al. 2008; Gerasimov et al. 2012). Entretanto, em alguns casos, efeitos deletérios como anomalias associadas a altas concentrações e exposição aos HTs são observados (Mylonas et al.1994; Dummont-Neto 2000; Clement et al. 2001).

Pesquisas sobre o efeito da administração dos HTs em peixes ornamentais são escassos, porém alguns trabalhos com peixes de corte confirmam a eficiência dos hormônios em relação à fase inicial de algumas espécies (Brown et al.1988; Brown et al. 1989; Brown e Kim 1995; De Jesus et al. 1998; Vasques 2003; Urbinati et al. 2008; Gerasimov et al. 2012). Em se tratando da produção do neon gobi, o aumento da sobrevivência, bem como uma antecipação da metamorfose facilitaria o cultivo, reduzindo o período de larvicultura e os custos com a produção

de alimento vivo. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da triiodotironina (T_3) na sobrevivência, no crescimento e na metamorfose em larvas do neon gobi.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local, origem dos animais e condições gerais de manutenção

O estudo foi conduzido no Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e as análises histológicas dos folículos tireoidianos foram realizadas no Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos (EMA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

Para a obtenção das larvas do neon gobi *Elacatinus figaro* foi utilizado um casal de reprodutores selvagens, coletado com autorização para atividades com finalidade científica (ICMBio- SISBION^o 35285-1, Emissão: 12/07/2012), mantido em aquário de 20L, temperatura de 26 ± 2 °C, salinidade de 35 ± 2 , pH 8.0 ± 0.2 e fotoperíodo natural, em sistema fechado de recirculação de água com 15 aquários interligados, contendo filtro mecânico *bag* de 100 μ m, fracionador de proteínas (*skimmer* -Viaaqua, China) e sistema de esterilização de água com lâmpadas ultravioletas (UV- Hopar, China).

Aproximadamente cinco dias após a desova, os ovos foram transferidos da incubação parental para a eclosão em um aquário de 30L. As larvas recém-eclodidas foram mantidas em um sistema de água verde com a microalga *Nannochloropsis oculata* (5×10^4 células/mL) até o 13^o dia após a eclosão (DAE), e a alimentação foi composta de 10-15 ind./mL do rotífero *Brachionus* sp. enriquecidos com Selco® S.presso (Inve Aquaculture, Tailândia) até a transferência das larvas para os diferentes tratamentos.

2.2. Desenho Experimental

O experimento foi realizado em blocos casualizados devido à baixa fecundidade apresentada por *E. figaro* (Meirelles et al. 2009, Shei et al. 2010). Assim, a cada desova obtida, era realizada uma réplica de todos os tratamentos. Foram utilizadas quatro desovas no total, três destinadas ao experimento com as diferentes concentrações de hormônio, e uma para análise histológica das larvas.

Foram testados quatro tratamentos para verificar o efeito do hormônio triiodotironina (T_3): **T01**- concentração de 0,01 mg/L; **T025**- concentração de 0,025 mg/L; **T05**- concentração de 0,05 mg/L; **TC**- controle, sem adição do hormônio. O hormônio T_3 foi dissolvido em uma concentração de 0,2 g/mL de di-metil-sufóxido (DMSO, Sigma) para então ser diluído nas diferentes concentrações para os tratamentos de acordo com a metodologia proposta por Brown et al. (1988).

O critério para o início da adição do T_3 foi definido a partir de um teste piloto realizado com larvas recém-eclodidas nas mesmas doses do hormônio utilizado no presente experimento. Com 10 DAE, todas as larvas expostas ao hormônio obtiveram 100% de mortalidade. Deste modo, a administração do hormônio foi iniciada no período em que a larva começou a sofrer os primeiros indícios de metamorfose de acordo com a metodologia proposta para a garoupa *Epinephelus coioides* por De Jesus et al. (1998). Em *E. figaro* as primeiras modificações se iniciam a partir do 14^o DAE, quando ocorre a separação das nadadeiras dorsal, caudal e anal, se estendendo até a metamorfose (quando a larva passa a possuir comportamento bentônico, pigmentação idêntica a um adulto) (Shei et al. 2010) de todas as larvas. Desta forma, para o início do experimento, as larvas com 13 DAE foram divididas nos quatro tratamentos em aquários de 10L e separadas de acordo com o número de larvas obtidas em cada desova (n= de 9 a 35 por réplica). O experimento foi realizado em sistema semiestático e, diariamente, o fundo dos aquários eram sifonados cuidadosamente, e metade do volume total de água renovada para então ser adicionada água nova com mesma concentração de T_3 dos respectivos tratamentos.

As larvas foram cultivadas segundo Shei et al. (2010) em sistema de água verde com a microalga *Nannochloropsis oculata* (5×10^4 células/mL) e a alimentação foi composta de 10-15 ind./mL do rotífero *Brachionus* sp. enriquecidos com Selco® S.presso (Inve Aquaculture, Tailândia) com até o 19^o DAE. Do 16^o até o 19^o DAE foi ofertado náuplios de *Artemia* sp recém-eclodidos a uma concentração de 0,1 ind./mL uma vez ao dia e, do 18^o e 23^o DAE, foram fornecidos náuplios e metanáuplios de *Artemia* sp enriquecidos com Selco® S.presso (Inve Aquaculture, Tailândia) na concentração de 0,1-0,4 ind./mL. Após o 23^o DAE até a larva sofrer metamorfose, foram ofertados apenas metanáuplios de artêmia na concentração de 1 ind./mL. Diariamente foram realizadas contagens do alimento vivo residual, que era repostado até a densidade desejada. A intensidade luminosa foi mantida em aproximadamente 1000 lux e o fotoperíodo de 16 horas de Luz:8 horas de Escuro. A salinidade (30 ± 1) e a temperatura ($26 \pm 0,2$ °C) da água

foram medidas diariamente com refratômetro óptico e termômetro de mercúrio, respectivamente, e o pH (8.0 ± 0.7 - kits comerciais – Labcon Test, Brasil), NH_3 ($0,2 \pm 0,5\text{ppm N-NO}_3$ – Espectrometria UV-Visível), NO_2^- ($0,25 \pm 0,2\text{ppm N-NO}_2^-$ - Espectrometria UV- Visível) e a alcalinidade ($106,2 \pm 14,9\text{mg/L CaCO}_3$ - Titulação com Ácido sulfúrico 0,05N) foram mensurados semanalmente.

2.3. Sobrevivência, crescimento e metamorfose larval

A sobrevivência foi avaliada até o final do experimento (40 DAE) em cada tratamento e calculada através da fórmula $S(\%) = Lf/Li \times 100$, onde Lf é o número de larvas no final do experimento e Li o número de larvas no início do experimento.

O crescimento foi obtido através do comprimento total (mm) das larvas que foi mensurado ao final do experimento (peixes com 40 DAE - metamorfose completa em todos os tratamentos) com a utilização de estereomicroscópio (Olympus SZ40) com ocular micrométrica (precisão 0,1mm; aumento 0,80 e 0,67 \times) e as larvas foram fotografadas com auxílio de uma câmera Leica (EZ4HD, país), acoplada a um microscópio estereoscópio (SZ-CTV Olympus), para visualização da morfologia externa. A idade de metamorfose foi expressa pela média entre a primeira e a última larva a completar metamorfose em cada tratamento.

2.4. Análise histológica dos folículos tireoidianos

Para avaliar o efeito do T_3 nos diferentes tratamentos, uma réplica adicional de cada tratamento (n=20) foi realizada para amostragem e posterior descrição e análise dos folículos tireoidianos das larvas. A finalidade para essa análise foi observar o desenvolvimento dos folículos tireoidianos nos diferentes tratamentos em indivíduos com a mesma idade quando o primeiro tratamento obtivesse 100% de peixes metamorfoseados. No momento em que o primeiro tratamento atingiu a metamorfose completa de todos os indivíduos, os peixes de todos os tratamentos foram coletados. Os peixes foram eutanasiados com benzocaína (250mg/L) e então fixados em formol 10% tamponado. Subsequentemente, as amostras foram desidratadas em graduação crescente de etanol, diafanizadas em xilol, impregnadas e incluídas em Paraplast (Sigma) regular com a utilização de um processador automático de tecido (LUPET PT 05, Lupetec, Brasil) com métodos rotineiros de preparação histológica. Foram realizados cortes

histológicos de 5µm com a utilização de micrótomo semiautomático (LUPETEC MRPO3, Lupetec) que foram corados com ácido periódico de Schiff (PAS). As lâminas foram observadas com a utilização de um microscópio óptico (Carl Zeiss, Primo Star GmbH, Alemanha) acoplada a uma câmara digital (Carl Zeiss, AxioCam ERc 5s, Alemanha). Os folículos tireoidianos foram quantificados e posteriormente foram mensurados quanto a área e o diâmetro, assim como foi observada a presença de vacúolos de reabsorção, segundo Otero et al. (2014).

2.5. Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando o teste de Levene para comparação das variâncias e o teste Shapiro-Wilk para verificar a ocorrência de distribuição normal entre os dados. Quando não havia diferença significativa, foi aplicada a análise de variância unifatorial (ANOVA Unifatorial), seguida do teste *post hoc* de Tukey ($p < 0,05$). No caso de distribuição não-normal dos dados, foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1. Sobrevivência, Crescimento e Metamorfose

No presente estudo, ainda que numericamente possa ser observada maior taxa de sobrevivência (54,3%) no T01 não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos para este parâmetro, possivelmente devido à alta mortalidade obtida na primeira réplica em todos os tratamentos (TC – 2,8%; T01 – 28,6%; T025 – 8,6%, T05 – 2,9 %). Apesar disto, em uma das réplicas do T01 obteve-se 78,9% de sobrevivência. (Tab. 1).

Tabela 1. Taxa da sobrevivência (% média) do neon gobi ao final do experimento nos diferentes tratamentos hormonais. TC- controle, sem adição do hormônio T₃; T01- concentração de 0,01 mg/L T₃; T025- concentração de 0,025 mg/L T₃; T05- concentração de 0,05 mg/L T₃.

Tratamentos	Sobrevivência (%)	(Min-Max)
TC	24,1	(2,8-47,4)
T01	54,3	(28,6-78,9)
T025	36,7	(8,6-68,4)
T05	37,0	(2,9-55,6)

O comprimento total médio ao final do experimento foi significativamente maior nas larvas do tratamento TC ($12,1 \pm 0,8$ mm) quando comparadas aos demais tratamentos (T01= $10,9 \pm 0,8$ mm; T025= $10,4 \pm 0,9$ mm; T05= $9,6 \pm 1,6$ mm) (Figura 1).

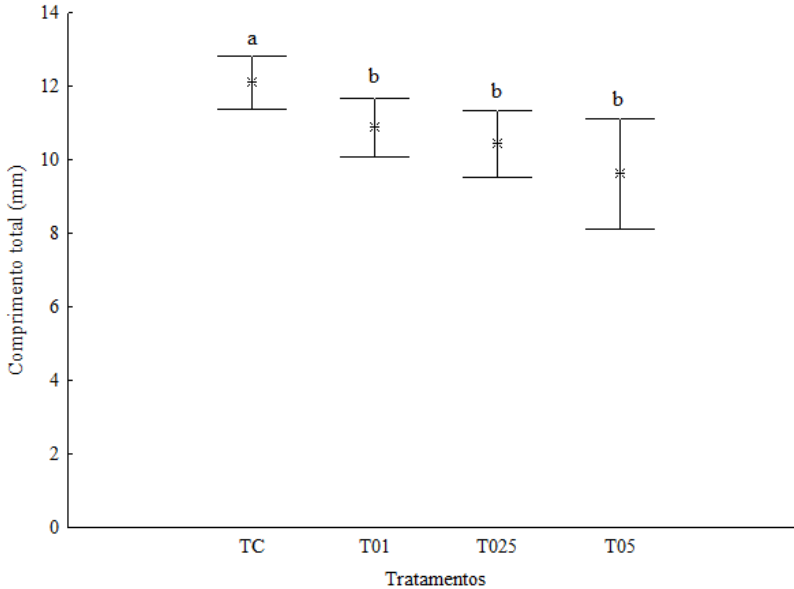


Figura 1. Comprimento total (média \pm dp) do neon gobi com 40DAE submetidos a diferentes doses do hormônio triiodotironina (T_3) ao final do experimento. Letras diferentes diferem significativamente entre si (Kruskall-Wallis, $p=0,0000$). TC- controle, sem adição do hormônio T_3 ; T01- concentração de 0,01 mg/L T_3 ; T025- concentração de 0,025 mg/L T_3 ; T05- concentração de 0,05 mg/L T_3).

As maiores doses de T_3 (0,025 e 0,05 mg/L) anteciparam a idade média da metamorfose em dias quando comparadas ao TC e T01 (média de 34 e 32 DAE, respectivamente). Em larvas onde foi administrada a maior dose de T_3 (T05), o processo de metamorfose iniciou mais cedo (21 DAE) não diferindo do T025 (23 DAE) (Fig. 2). A primeira larva a sofrer metamorfose em todos os tratamentos foi observada no T05 com 18DAE, e as últimas a metamorfosearem foram observadas no tratamento controle e T01 com 39 DAE (outliers – representados por * na Fig. 2).

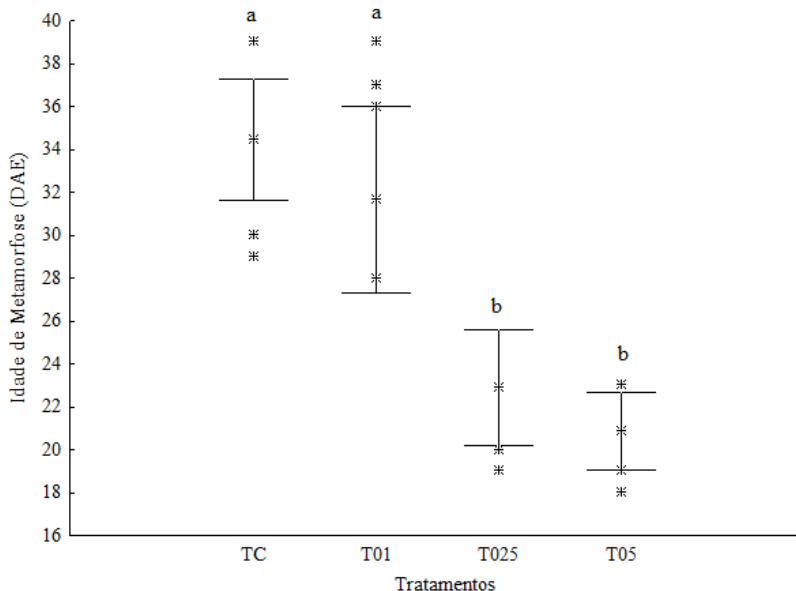


Figura 2. Efeito de diferentes doses do hormônio triiodotironina (T_3) na idade de metamorfose (média \pm dp) em dias após a eclosão (DAE) das larvas do neon gobi. Letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%, $p=0,0000$. TC- controle, sem adição do hormônio T_3 ; T01- concentração de 0,01 mg/L T_3 ; T025- concentração de 0,025 mg/L T_3 ; T05- concentração de 0,05 mg/L T_3 .

3.2. Folículos tireoidianos

A análise dos folículos tireoidianos em peixes e larvas com 24 DAE demonstrou que tanto no T025 quanto no T05 100% dos peixes haviam sofrido metamorfose. Por outro lado, nesta idade, nenhuma larva do TC apresentava indício morfológico externo de início de metamorfose. Já no T01, haviam duas larvas assentadas, uma sem pigmentação e a outra com metamorfose completa.

Os folículos tireoidianos (Fig. 3) se apresentaram de forma individual e/ou em grupo, dispersos na região dos arcos branquiais e, algumas vezes, próximos à aorta ventral (Fig. 4). A estrutura do folículo compreendia em um colóide envolto por uma camada de células epiteliais. O número, a área e o diâmetro dos folículos em cada tratamento estão representados na Tabela 2.

No TC foram encontrados folículos caracterizados por maior área e diâmetro em relação aos tratamentos com hormônio. Houve aumento no número de folículos com a utilização do T₃, porém na maior dose (T05) foi observado menor diâmetro e quantidade de folículos quando comparados aos demais tratamentos com T₃.

Tabela 2. Quantificação, área, diâmetro (média±dp) e presença de vesículas de reabsorção em folículos tireoidianos encontrados em larvas e juvenis de neon gobi com 24DAE utilizando diferentes doses de hormônio T₃ exógeno. Letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05. TC- controle, sem adição do hormônio T₃; T01- concentração de 0,01 mg/L T₃; T025- concentração de 0,025 mg/L T₃; T05- concentração de 0,05 mg/L T₃).

Tratamento	Nº de larvas	Nº máximo de folículos por larva	Área (µm²)	Diâmetro (µm)	Folículos com vesículas de reabsorção (%)
TC	6	18	332,9±137,2 ^a	21,3±4,9 ^a	6,1
T01	6	29	189,7±75,4 ^b	16,6-4,0 ^b	36,7
T025	7	23	192,9±76,1 ^b	17,2±4,0 ^b	22,5
T05	6	16	134,1±41,3 ^b	13,9±3,0 ^c	17,5

A presença das vesículas de reabsorção foi observada em todos os tratamentos, exceto no TC que foi encontrada em apenas uma larva em número reduzido. Em geral, as vesículas estavam localizadas na periferia dos coloides (Fig. 3) e nos tratamentos com hormônio encontrava-se em maior número, principalmente no T01, onde as larvas estavam iniciando o processo de metamorfose.

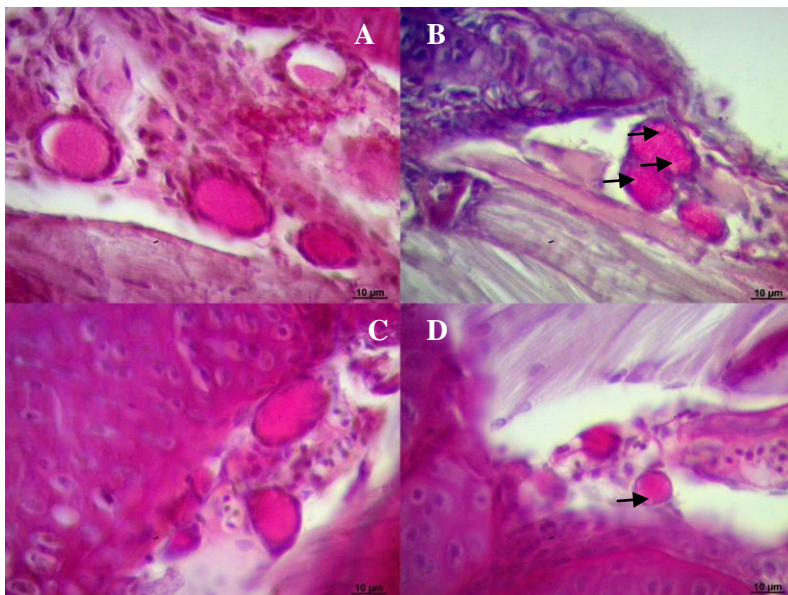


Figura 3. Folículos da tireoide em neon gobi com 24DAE utilizando diferentes doses de hormônio T_3 (aumento 100 \times). A - Tratamento Controle, sem adição do hormônio T_3 ; B - Tratamento com 0,01mg/L de T_3 ; C - Tratamento com 0,025mg/L de T_3 ; D - Tratamento com 0,05mg/L de T_3 . (Setas – Vesículas de reabsorção).

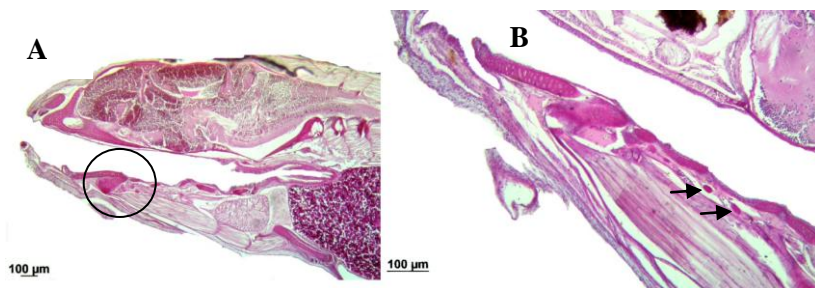


Figura 4. Folículos da tireoide em neon gobi com 24 DAE. A - Folículos da tireoide distribuídos na região branquial (Aumento 4 \times). B - Folículos da tireoide dispersos na aorta ventral (Aumento 10 \times).

4. DISCUSSÃO

A imersão das larvas do neon gobi em diferentes concentrações do hormônio tireoidiano T_3 influenciou o crescimento e principalmente a idade de metamorfose. O maior crescimento dos peixes em comprimento total foi observado no tratamento controle (sem hormônio) em comparação aos tratamentos com o hormônio. Pesquisas com a produção do neon gobi sem a utilização do hormônio obtiveram valores médios de comprimento total de peixes metamorfoseados muito próximos e até menores (10,3mm e 8,50 mm) (Meirelles et al. 2009, Shei et al. 2010) quando comparado ao tratamento com a maior dose do hormônio nesse trabalho (9,6mm).

Como visto em algumas espécies de peixes, o método de imersão com hormônios da tireoide (HT) em larvas pode acelerar a absorção do saco vitelínico, aumentar o comprimento do corpo, auxiliar a diferenciação das nadadeiras e a sobrevivência, porém esses efeitos dependem da dose e do estágio de desenvolvimento em que esses organismos são expostos a estes hormônios (Nacario 1983, Reddy e Lam, 1995, Power et al. 2001).

O T_3 exógeno pode atuar de diferentes maneiras em espécies de peixes. A imersão em 0,05 e 0,1 mg/L de T_3 das larvas do “striped bass” *Morone saxatilis* retardou o crescimento (Huang et al. 1996), como observado nesse estudo. Já a imersão de ovos do matrinxã *Brycon amazonicus* em diferentes doses de T_3 (0,01; 0,05 e 0,1 mg/L) resultou em maior crescimento das larvas em relação aos ovos que não foram expostos ao hormônio (Urbinati et al. 2008).

A administração do hormônio T_3 antecipou a idade média de metamorfose, principalmente nos tratamentos T025 e T05 (~ 22 DAE) quando comparados ao T01 e TC, e também a outros estudos realizados com a larvicultura do neon gobi (Tabela 3). Assim, nos tratamentos T025 e T05 houve uma antecipação da idade média de metamorfose larval em aproximadamente 11 dias em relação ao tratamento controle. As maiores doses de T_3 aceleraram a modificação das nadadeiras pélvicas, característica necessária para que a larva possa tornar-se bentônica e, como relatado em outros estudos, após dois dias dessa etapa, as larvas adquiriram coloração típica de adulto (Meirelles et al. 2009; Shei et al. 2010).

Tabela 3. Idade média de metamorfose do neon gobi *Elacatinus figaro* em outros estudos.

Salinidade	Temperatura °C (média)	Metamorfose (DAE)	Referências
36	24,9	37	Meirelles et al., 2009
34	26	31,5	Shei et al., 2010
28	26	29	Souza, 2012
30	26	33	Presente estudo (TC e T01)

A metamorfose ocorre a partir de uma série de processos regulatórios que envolvem a diferenciação de tecidos, alterações bioquímicas, moleculares e fisiológicas (Brown et al. 2014). Os efeitos dos HTs de dose dependência, a fase de desenvolvimento em que são administrados, e/ou a biologia das espécies podem ser responsáveis por algumas diferenças nas repostas das larvas quando submetidas a tratamentos com HTs exógenos (Klaren et al. 2007, Brown et al. 2014). Segundo Power et al. (2001), os HTs e seus receptores são importantes na fase de metamorfose em peixes porém, o efeito desses hormônios pode variar e os mecanismos fundamentais ainda devem ser estudados. Nesse estudo fica clara a influência que o T₃ exerce na metamorfose, porém não se sabe como os HTs regulam a diferenciação e o desenvolvimento dos tecidos, bem como a síntese de proteínas específicas (Yamano et al. 1994, Blanton e Specker 2007).

A descrição dos folículos tireoidianos foi realizada nesse estudo em larvas do neon gobi com 24DAE submetidas a diferentes doses de T₃ exógeno. Em peixes e anfíbios, os folículos tireoidianos não formam um único órgão como em mamíferos e são encontrados dispersos ao longo da artéria aferente de forma microscópica (Yamano 2005). Em *E. figaro*, os folículos tireoidianos foram encontrados na região branquial ao longo da artéria aferente e aorta ventral, como observado na maioria dos teleósteos (Yamano 2005, Delgado et al. 2006, Einarsdóttir et al. 2006, Otero et al. 2014).

De acordo com Tanaka et al. (1995), o surgimento dos folículos tireoidianos em larvas de peixes pode ocorrer no momento da eclosão, mas também, quando há a completa absorção dos sacos vitelínicos e a larva passa para alimentação exógena. No decorrer do desenvolvimento, ocorre um aumento gradativo do número e tamanho dos folículos e, durante a metamorfose, o aumento é bastante evidente (Tanaka et al. 1995, Yamano 2005). Em um estudo feito com o desenvolvimento da fase inicial do linguado *Hippoglossus hippoglossus*, foi observado aumento gradativo no número de folículos até o início da metamorfose. Neste

momento, as larvas possuíam numerosos folículos tireoidianos com a presença de vesículas na periferia dos coloides. O aumento do número de folículos juntamente com a diminuição do coloide e à presença de vesículas de reabsorção é um indicativo da atividade do tecido tireoidiano na qual ocorre maior produção de HTs, momento este que está associado à metamorfose (Einarsdóttir et al. 2006). Delgado et al. (2006), observaram que após a metamorfose de *S. senegalenses*, o número de folículos permaneceu constante e o tamanho das células foliculares decresceu. Esse mesmo padrão foi observado no bijupirá *Rachycentron canadum*. Em indivíduos de 23-28DAE foram quantificados 18 folículos, e esse número manteve-se constante até 53DAE (19 folículos) (Otero et al. 2014).

Todas as etapas do desenvolvimento do folículo tireoidiano acima descritas foram observadas no presente estudo. No momento da coleta, o tratamento sem o hormônio T₃ apresentou o início de desenvolvimento folicular e os tratamentos com doses mais altas encontravam-se em estágio mais avançado de metamorfose. Assim, no T01, as larvas encontravam-se no início do processo de metamorfose, com numerosos folículos e presença de vesículas de reabsorção, sugerindo maior atividade de secreção dos HTs. Já no T05, pelo fato das larvas já estarem totalmente metamorfoseadas, os folículos apresentavam uma redução em número e tamanho.

Nesse estudo a avaliação da sobrevivência ocorreu a partir do 14DAE até o final do experimento com 40DAE, período em que todos os peixes tinham sofrido a metamorfose completa. Valores expressivos de sobrevivência foram verificados nos tratamentos com o uso do hormônio, principalmente no T01 (78,9%). Outras pesquisas com a larvicultura do neon gobi obtiveram médias de sobrevivência inferiores quando comparadas aos tratamentos com hormônio do presente estudo, porém vale salientar que estas foram avaliadas desde o momento da eclosão das larvas (20,1-6,7%, segundo Meirelles et al. 2009 e Shei et al. 2010).

5. CONCLUSÃO

A imersão das larvas do neon gobi nas maiores doses de T₃ foi positiva para a redução da idade média de metamorfose quando comparada ao controle e ao tratamento com 0,01mg/L de T₃. Houve um aumento no número de folículos tireoidianos com a utilização do T₃, mas isso não refletiu diretamente no crescimento, pois as maiores larvas foram encontradas no controle.

A administração do T₃ exógeno pode antecipar a metamorfose de larvas do neon gobi, diminuindo assim o tempo de larvicultura da espécie. Isso pode refletir na redução dos custos da produção de alimento vivo e de manutenção, auxiliando no sucesso da produção da espécie em cativeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo M E, Albuquerque-Filho A C (2005) Biologia das principais espécies de peixes ornamentais marinhos do Brasil: uma revisão bibliográfica e documental. Bol. Técn Cien. do CEPENE 13:109-154.

Brown C L, Doroshov S I, Nunez J M et al (1988) Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. The J of Exp Zool 248:168-176.

Brown C L, Doroshov S I, Cochran M D et al (1989) Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. Fish Physiol and Biochem 7(1-4): 295-299.

Brown C L, Kim B G (1995) Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. Aquaculture 135:79-86.

Brown S C, Adams B A, Cyr D G et al (2004) Contaminant effects on the teleost fish thyroid. Environ. Toxic. and Chem. 23(7):1680-1701.

Brown C L, Urbinati E C, Zhang W et al (2014) Maternal thyroid and glucocorticoid hormone interactions in larval fish development, and their applications in aquaculture. Rev. in Fish. Sci. & Aquaculture 22:207-220.

Carr J M, Patiño R (2011) The hypothalamus-pituitary-thyroid axis in teleosts and amphibians: Endocrine disruption and its consequences to natural populations. Gen. and Comp. Endoc.170:299-312.

Carvalho-Filho A (1999) Peixes: costa brasileira. Melro, São Paulo.

Clement S E, Lichtenbert J H, Kohler C C (2001) Stripping clowns: Induced meristic changes in common clownfish (*Amphiprion ocellaris*). Bulletin de l'Institut Océanog. (20).

De Jesus E G T, Toledo J D, Simpás M S (1998) Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. Gen. and Comp. Endoc. 112:10-16.

Dumont-Neto R (2000) Efeito da triiodotironina no desenvolvimento inicial de piau verdadeiro (*Leporinus elongatus*), adicionada nos ovos por hidratação, durante a fertilização. Dissertação, Universidade Estadual Paulista.

Delgado J B O, Ruane N M, Pousão-Ferreira P (2006) Thyroid gland development in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) during early life stages: A histochemical and immunohistochemical approach. Aquaculture 260:346-356.

Eales J G, Brown S B (1993) Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. Rev. in Fish Biol. and Fisheries 3:299-347.

Einarsdóttir I E, Silva N, Power D M et al (2006) Thyroid and pituitary gland development from hatching through metamorphosis of a teleost flatfish, the Atlantic halibut. Anat Embryol 211:47-60.

Gerasimov Y V, Smirnova E S, Levin B A (2012) The role of thyroid hormones in formation of behavioral responses in juvenile roach (*Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae). Inland Water Biol. 5(1):96-104.

Grutter A S, Murphy J M, Choat J H (2003) Cleaner fish drives local fish diversity on coral reefs. Curr. Biol. 13:64-67.

Holt G J (2003) Research on culturing the early life history stages of marine ornamental species. In: Cato J C, Brown C L Marine ornamental species: collection, culture and conservation. Iowa State.

Klaren P H M, Wunderink Y S, Yúfera M et al (2007) The thyroid glands and thyroid hormones in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) during early development and metamorphosis. Gen. and Comp. Endoc. 155:686-694.

Huang L, Specker J L, Bengston D A (1996) Effect of triiodothyronine on growth and survival of larval striped bass (*Morone saxatilis*). Fish Physiol. and Biochem. 15(1):57-64.

Lima S, Loures B R R (2001) Fisiologia de Peixes: Sistema endócrino. In: Moreira H L M et al Fundamentos da Aquicultura Moderna. Ulbra, Canoas.

Meirelles M E, Tsuzuki M Y, Ribeiro F F et al (2009) Reproduction, early development and larviculture of the barber goby, *Elacatinus figaro* (Sazima, Moura & Rosa 1997). Aquac. Res. 1-8.

Mylonas C C, Sullivan C V, Hinshaw J M (1994) Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. Fish Physiol. and Biochem. 13(6):485-493.

Nacario J F (1983) The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (*Tilapia nilotica*). Aquaculture, Amsterdam, v. 34, p.73-83, 1983.

Otero A P S, Rodrigues R V, Sampaio L A et al (2014) Thyroid gland development in *Rachycentron canadum* during early life stages. An Acad Braz Scienc.

Power D M, Llewellyn L Faustino M et al (2001) Thyroid hormones in growth and development of fish. Comp. bioch. and phys. 130:447-459.

Reddy P K, Lam T J (1992) Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. Aquaculture 107:383-394.

Sazima I, Moura R L, Rosa R S (1997) *Elacatinus figaro* sp.n. (Perciformis: Gobiidae), a new cleaner goby from the coast of Brazil. Aqua J. Ichth. Aqu. Biol. 2 (3):33-38.

Sazima I, Moura R L, Sazima C (1999) Cleaning activity of juvenile angelfish, *Pomacanthus paru*, on the reefs of the Abrolhos Archipelago, western South Atlantic. Env. Biol. Fish (56):399-407.

Sazima I, Sazima C, Francini-Filho R B et al (2000) Daily cleaning activity and diversity of clients of the barber goby, *Elacatinus figaro*, on rocky reefs in southeastern Brazil. *Env. Biol. Fish.* 59:69-77.

Shei M R P, Miranda-Filho K C, Rodrigues R V et al (2010) Production of juvenile barber goby *Elacatinus figaro* in captivity: developing technology to reduce fishing pressure on endangered species. *Mar. Biod. Rec.* 3:1-7.

Tanaka M, Tanangonan J B, Tagawa M et al (1995) Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture* 135:111-126.

Urbinati E C, Vasques L H, Senhorini J A et al (2008) Larval performance of matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz 1829), after maternal triiodothyronine injection or egg immersion. *Aquac. Res.* 39:1355-1359.

Vasques L H (2003) Participação do hormônio triiodotironina (T₃) no desenvolvimento inicial de matrinxã (*Brycon cephalus*). Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista.

Yamano K, Araki K, Sekikawa K et al (1994) Cloning of thyroid hormone receptor genes expressed in metamorphosing flounder. *Dev. Genet.* 15:378-382.

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

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ARAÚJO, M. E.; ALBUQUERQUE-FILHO, A. C. Biologia das principais espécies de peixes ornamentais marinhos do Brasil: uma revisão bibliográfica e documental. **Boletim Técnico Científico do CEPENE 13**, p. 109-154, 2005.

BLANTON, M. L.; SPECKER, J. L. The hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis in fish and its role in fish development and reproduction. **Critical reviews in toxicology**, v. 37, p. 97-115, 2007.

BROWN, C. L. et al. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. **The Journal of Experimental Zoology**, v. 248, p. 168-176, 1988.

BROWN, C. L. et al. Enhanced survival in striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment. **Fish physiology and biochemistry**, v.7, n.1-4, p.295-299, 1989.

BROWN, C. L.; KIM, B. G. Combined application of cortisol and triiodothyronine in the culture of larval marine finfish. **Aquaculture**, v.135; p. 79-86, 1995.

BROWN, S. C. et al. Contaminant effects on the teleost fish thyroid. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23; n. 7, p. 1680-1701, 2004.

BSHARY, R. et al. Do the cleaning organisms reduce the stress response of client reef fish? **Frontiers in Zoology**, v. 4, p. 21, 2007.

CAMPOS, C. E. C.; SÁ-OLIVEIRA, J. C. Cleaning activity and fish clients of *Elacatinus figaro* (Pisces: Gobiidae) on coral reefs of Parrachos de Muriú, Northeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v.11, n.1, p.47-52, 2011.

CARR, J. M.; PATIÑO, R. The hypothalamus-pituitary-thyroid axis in teleosts and amphibians: Endocrine disruption and its consequences to natural populations. **General and Comparative Endocrinology**, v. 170, p. 299-312, 2011.

CARVALHO-FILHO, A. Peixes: costa brasileira. 3 ed, Melro, São Paulo, 320pp, 1999.

CÔRTEZ, G. F.; TSUZUKI, M. Y. Efeito do tamanho do rotífero na sobrevivência e no crescimento de neon gobi *Elacatinus figaro* durante as fases iniciais de larvicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.36, n.3, p.205-212, 2010.

CLEMENT, S. E.; LICHTENBERT, J. H.; KOHLER, C. C. Stripping clowns: Induced meristic changes in common clownfish (*Amphiprion ocellaris*). **Bulletin de l'Institut Océanographique**, n. 20; 2001.

CYR, A. G.; EALES, J.G. Interrelationships between thyroidal and reproductive endocrine systems in fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 6, p. 165-200, 1996.

DE JESUS, E. G. T.; TOLEDO, J. D.; SIMPAS, M. S. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. **General and Comparative Endocrinology**, v. 112, p. 10-16, 1998.

DELGADO, J. B.O. et al. Thyroid gland development in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) during early life stages: A histochemical and immunohistochemical approach. **Aquaculture**, v. 260, p.346-356, 2006.

DUMONT-NETO, R. *Efeito da triiodotironina no desenvolvimento inicial de piau verdadeiro (Leporinus elongatus), adicionada nos ovos por hidratação, durante a fertilização*. Dissertação de mestrado, Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, 31p., 2000.

EALES, J.G.; BROWN, S. B. Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 3, p. 299-347, 1993.

EINARSDÓTTIR, I. E. et al. Thyroid and pituitary gland development from hatching through metamorphosis of a teleost flatfish, the Atlantic halibut. **Anatomy and Embryology**, v. 211, p.47-60, 2006.

GERASIMOV, Y. V.; SMIRNOVA, E. S.; LEVIN, B. A. The role of thyroid hormones in formation of behavioral responses in juvenile roach

(*Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae). **Inland Water Biology**, v.5, n.1, p.96-104, 2012.

GRUTTER, A. S.; MURPHY, J. M.; CHOAT, J. H. Cleaner fish drives local fish diversity on coral reefs. **Current biology**, v.13; p.64-67, 2003.

HOLT, G. J. Research on culturing the early life history stages of marine ornamental species. In: CATO, J. C.; BROWN, C. L. **Marine ornamental species:collection,culture and conservation**. Iowa State, 2003. p.251-254.

HUANG, L. et al. Metamorphosis of summer flounder (*Paralichthys dentatus*): Thyroid status and the timing of gastric gland formation. **The Journal of Experimental Zoology**, v. 280, p.413-420, 1998.

INUI, Y; YAMANO, K.; MIWA, S. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder. **Aquaculture**, v. 135, p. 87-98, 1995.

KLAREN, P. H. M. et al. The thyroid glands and thyroid hormones in Senegalese sole (*Solea senegalenses*) during early development and metamorphosis. **General and Comparative Endocrinology**, v. 155, p. 686-694, 2007.

LIMA, Silvia; LOURES, Bernadete Rizzo da Rocha. Fisiologia de Peixes: Sistema endócrino. In: MOREIRA, Heden Luiz Marques et al. **Fundamentos da Aquicultura Moderna**. Canoas: Ulbra, 2001. p. 23-31.

MEIRELLES, M. E. et al. Reproduction, early development and larviculture of the barber goby, *Elacatinus figaro* (Sazima, Moura & Rosa 1997). **Aquaculture Research**, p.1-8, 2009.

MIWA, S. et al. Thyroxine surge in metamorphosing flounder larvae. **General and Comparative Endocrinology**, v.70, p. 158-163, 1988.

MYLONAS, C. C.; SULLIVAN, C. V.; HINSHAW, J. M. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.13, n.6, p.485-493, 1994.

NACARIO, J. F.. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (*Tilapia nilotica*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 34, p.73-83, 1983.

PLANAS, M.; CUNHA, I. Larviculture of marine fish: problems and perspectives. **Aquaculture**, v.177, p.171-190, 1999.

OTERO, A. P. S. et al. Thyroid gland development in *Rachycentron canadum* during early life stages. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, 2014.

POWER, D. M. et al. Thyroid hormones in growth and development of fish. **Comparative biochemistry and physiology**, C, v. 130; p. 447-459; 2001.

REDDY, P. K.; LAM, T. J. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. **Aquaculture**, v. 107; p. 383-394, 1992.

SAZIMA, I.; MOURA, R. L.; ROSA, R. S. *Elacatinus figaro* sp.n. (Perciformis: Gobiidae), a new cleaner goby from the coast of Brazil. **Aqua Journal of Ichthyology and Aquatic Biology**, v. 2; n. 3; p. 33-38, 1997.

SAZIMA, I.; MOURA, R. L.; SAZIMA, C. Cleaning activity of juvenile angelfish, *Pomacanthus paru*, on the reefs of the Abrolhos Archipelago, western South Atlantic. **Environmental Biology of Fishes**, n. 56, p. 399-407, 1999.

SAZIMA, I. et al. Daily cleaning activity and diversity of clients of the barber goby, *Elacatinus figaro*, on rocky reefs in southeastern Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v.59, p. 69-77, 2000.

SHEI, M. R. P. et al. Production of juvenile barber goby *Elacatinus figaro* in captivity: developing technology to reduce fishing pressure on endangered species. **Marine Biodiversity Records**, v.3, p.1-7, 2010.

SOUZA, M. F. S. *Proteases alcalinas e manejo alimentar na larvicultura do neon gobi (Elacatinus figaro)*. Dissertação de Mestrado, Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, 63 p., 2012.

SOUZA, R. A. R. et al. Can barber goby *Elacatinus figaro* control *Neobenedenia melleni* infections on dusky grouper *Epinephelus marginatus*? **Aquaculture Research**, v. 45; p.619-628, 2014.

TAGAWA, M.; HIRANO, T. Changes in tissue and blood concentrations of thyroid hormones in developing chum salmon. **General and comparative endocrinology**, v. 76, p. 437-443, 1990.

TAGAWA, M. et al. Thyroid hormones in eggs of various freshwater, marine and diadromous teleosts and their changes during egg development. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 8, n. 6, p. 515-520, 1990.

TANAKA, M. et al. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improve rearing of marine fish larvae. **Aquaculture**, v.135, p.111-126, 1995.

URBINATI, E. C. et al. Larval performance of matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz 1829), after maternal triiodothyronine injection or egg immersion. **Aquaculture Research**, v.39, p.1355-1359, 2008.

VASQUES, L. H. *Participação do hormônio triiodotironina (T_3) no desenvolvimento inicial de matrinxã (*Brycon cephalus*)*. Tese de doutorado, Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, 164 p., 2003.

YAMANO, K. et al. Changes in whole body concentrations of thyroid hormones and cortisol in metamorphosing conger eel. **Jornal of Comparative Physiology B**, v.161, p.371-375, 1991.

YAMANO, K. The role of thyroid hormone in fish development with reference to aquaculture. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 39, p. 161-168, 2005.

ZIMMERMAN, S. et al. Cleaner fish: Neon gobies control ectoparasites in marine fish broodstock systems. **Global Aquaculture Alliance**, v. 4, n. 5, p. 37, 2001.