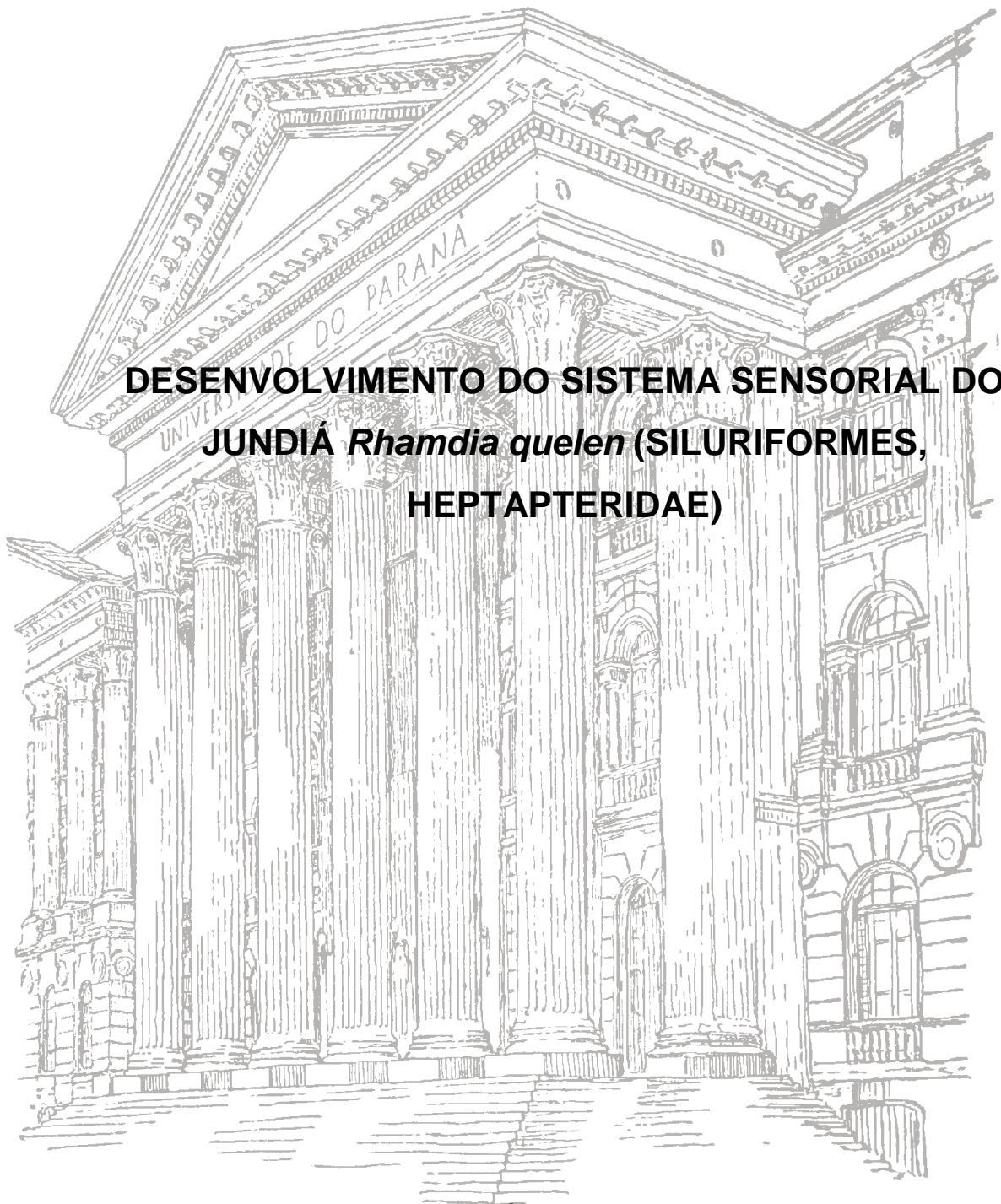


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ARIMAR AGUIAR DE ARAÚJO



**DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA SENSORIAL DO
JUNDIÁ *Rhamdia quelen* (SILURIFORMES,
HEPTAPTERIDAE)**

CURITIBA
2011

ARIMAR AGUIAR DE ARAÚJO

**Desenvolvimento do sistema sensorial do jundiá *Rhamdia
quelen* (SILURIFORMES, HEPTAPTERIDAE)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a.Dr^a. Flavia
Sant'Anna Rios

Co-orientadora: Prof^a.Dr^a. Lucélia
Donatti

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas

Araújo, Arimar Aguiar de

Desenvolvimento do sistema sensorial do jundiá *Rhamdia quelen*
(SILURIFORMES, HEPTAPTERIDAE). / Arimar Aguiar de Araújo. –
Curitiba, 2011.

83 f.: il. ; 30cm.

Orientadora: Flavia Sant'Anna Rios

Co-orientadora: Lucélia Donatti

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e
Molecular.

1. Bagre (Peixe) 2. Vias aferentes I. Título II. Rios, Flavia Sant'Anna
III. Donatti, Lucélia IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências
Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

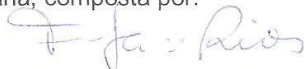
CDD (20. ed.) 597.52

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

Departamento de Biologia Celular e Departamento de Fisiologia
Setor de Ciências Biológicas
Universidade Federal do Paraná
Instituto Carlos Chagas (ICC/FIOCRUZ)

PARECER

A banca examinadora, instituída pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, composta por:



Profa. Dra. Flávia Sant'Anna Rios
Orientadora e presidente da banca
Universidade Federal do Paraná - UFPR



Prof. Dr. Ciro Alberto de Oliveira Ribeiro
Universidade Federal do Paraná - UFPR



Profa. Dra. Sônia Regina Grötzner
Universidade Federal do Paraná – UFPR

E tendo como suplentes,

Profa. Dra. Célia Regina Cavichiolo Franco
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Prof. Dr. Francisco Filipak Neto
Universidade Federal do Paraná

Após argüir a mestrandia **Arimar Aguiar de Araújo**, em relação ao seu trabalho intitulado: **“Desenvolvimento do sistema sensorial do Jundiá *Rhamdia quelen* (SILURIFORMES, HEPTAPTERIDAE),”** são de parecer favorável à **APROVAÇÃO** da acadêmica, habilitando-a ao título de MESTRE em Biologia Celular e Molecular. A obtenção do título está condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 31 de agosto de 2011



Prof. Dr. Edvaldo da Silva Trindade
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Biologia Celular e Molecular - UFPR
Matr. 185795

Dedico este trabalho:

Primeiramente a Deus por ter me dado a oportunidade de realizar esse sonho me dando força e capacidade para superar as dificuldades.

À minha mãe Maria e ao meu saudoso pai José Adauto pela educação, apoio, amor, dedicação e orações que foi a base para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu esposo Álvaro pelo apoio, amor, carinho, amizade e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Prof.^a Flavia pela orientação, confiança, apoio, incentivos, dedicação, paciência e amizade.

A Prof^a Dra. Lucélia Donatti pela co-orientação e pelo auxílio na utilização das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e de varredura.

Aos Professores Dr. Peter Gaberz Kirschnik, Dr. Paulo César Falanghe Carneiro e Dra. Ana Paula Baldan e todas as pessoas que trabalham no LAPEP (PUC-PR) por nos ceder os embriões do Jundiá.

Aos funcionários do Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, representado pelos professores Prof. Dr Edvaldo da Silva Trindade e Prof. Dr. Fernando Louzada, e à secretária Marlene B. de Camargo.

Às colegas Alana M. Rodrigues-Galdino, Andressa Vaz Schittini, Fernanda Gatto de Almeida e Camila V. Maiolino pelo auxílio no preparo e documentação do material.

A todos os estudantes do laboratório de Biologia Adaptativa pela convivência e amizade e a todos que de uma forma direta ou indireta auxiliaram no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.

*“A tarefa não é contemplar o que ninguém ainda contemplou,
mas meditar, como ninguém ainda meditou sobre o que todo
mundo tem diante dos olhos.”*

SCHOPENHAUER

“Algo só é impossível até que alguém duvide e prove o contrário”

ALBERT EINSTEIN

*"Porque melhor é a sabedoria do que jóias, e de tudo o
que se deseja nada se pode comparar a ela."*

PROVÉRBIOS 8:11

RESUMO

O presente estudo visou descrever o desenvolvimento do sistema sensorial do jundiá (*Rhamdia quelen*) sob aspecto morfológico desde o período embrionário até o final do período pós-larval. O sistema sensorial dos Teleósteos é composto por: sistema de acústico-lateral (tato, equilíbrio, audição e eletrorrecepção), sistema olfatório (olfato), botões gustativos (paladar) e sistema óptico (visão). Em muitos teleósteos, a visão é a principal modalidade sensorial na detecção do alimento. Em bagres (Siluriformes), contudo, os sentidos químicos costumam ser mais efetivos nessa atividade, permitindo a sobrevivência em ambientes com campo visual limitado. A linha lateral é composta por estruturas mecanorreceptoras (neuromastos) e também de eletrorreceptores, que auxiliam o animal na locomoção na coluna d'água, detecção de presas e predadores. Os botões gustativos e o epitélio olfatório pertencem ao sistema quimiorreceptor, que auxilia o animal a localizar e capturar alimento após esgotarem-se as suas reservas vitelínicas. Para a análise morfológica das estruturas citadas acima, embriões, larvas e pós-larvas de jundiá foram observados vivos através de estereomicroscopia e também foram processadas pelas técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura e de Transmissão e de Microscopia de Luz. As vesículas ópticas são as primeiras estruturas a surgirem no início da segmentação (E16; ~9 hpf). As lentes se diferenciam pouco depois (E19, ~12 hpf), porém a pigmentação do olho inicia bem mais tarde, na larva inicial (E26, ~36 hpf). O ouvido interno inicia sua formação após as vesículas ópticas (E18, ~11 hpf), mas é o primeiro sistema a completar o seu desenvolvimento, ainda no período embrionário (E23, ~18 hpf). No estágio E24 (~1 hora antes da eclosão) já pode-se observar os primórdios das narinas e os cílios olfatórios formam-se após o surgimento dos barbilhões e dos neuromastos. Devido ao rápido desenvolvimento e especialização das estruturas sensoriais no momento em que começam a se esgotar suas reservas vitelinas, o *R. quelen* se converte em um organismo com capacidade de perceber, identificar, perseguir e capturar presas, o que possibilita seu crescimento e, ao mesmo tempo, perceber, identificar e fugir de potenciais predadores e/ou situações de desconforto, permitindo a sua sobrevivência.

Palavras-chaves: embriologia, peixe, sistema acústico-lateral, sistema gustativo, sistema olfatório, sistema visual.

ABSTRACT

This study aimed to describe the development of the sensory system of the silver catfish (*Rhamdia quelen*) from the embryonic up to the post-larval period, using morphological criteria. The sensory system of Teleosts is composed of: acoustic-lateral system (touch, balance, hearing, and electroreception), olfactory system (smell), taste buds (taste), and optical system (vision). Vision is the main sensory modality in the detection of food in most Teleosts. In catfish (Siluriformes), however, the chemical senses are often more effective, allowing survival in environments with limited visual field. The lateral line is composed of mechanoreceptor structures (neuromasts) and also electroreceptors, which helps in animal locomotion through the water column, detection of prey, and predators. The taste buds and olfactory epithelium belong to the chemoreceptor system, and help the animal to locate and capture food after depletion of their yolk reserves. For the morphological analysis of the structures mentioned above, embryos, larvae, and post larvae of silver catfish were analysed alive by stereomicroscopy, and were processed by Scanning and Transmission Electron Microscopy, and also Light Microscopy. The optic vesicles are the first sensory structures to develop during early segmentation (E16, ~9 hpf), followed by differentiation of the lens (E19, ~12 hpf), but the pigmentation of the eye starts later, in the early larva (E26, ~36 hpf). The inner ear starts to form after the vesicles optics (E18, ~11 hpf), but is the first system to complete its development, still during embryonic period (E23, ~18hpf). At stage E24 (~ 1 hour before hatching) can now be seen the beginnings of the nostrils and olfactory cilia are formed after the onset of wattles and of neuromasts. Due to the rapid development and specialization of sensory structures at the time they begin to deplete its reserves yolk *R. quelen* becomes one body with the capacity to perceive, identify, pursue and capture prey, which allows growth and at the same time, perceive, identify and avoid potential predators and / or uncomfortable situations, allowing them to survive.

Key-Words: embryology, fish, acoustic-lateral system, gustatory system, olfactory system, visual system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas progressivas do desenvolvimento dos olhos de um vertebrado.....	14
Figura 2. Ilustração de olho de Teleósteo.....	17
Figura 3. Ilustração demonstrando as camadas da retina.....	18
Figura 4. Ilustração demonstrando as lamelas olfatórias e a entrada e saída da água.....	20
Figura 5. Ilustração demonstrando as células receptoras ciliadas e com microvilosidades do epitélio olfatório.....	21
Figura 6 Esquema demonstrando a localização do bulbo olfatório em peixes.....	21
Figura 7. distribuição dos botões gustativos no zebrafish (<i>Danio rerio</i>) juvenil e adulto.....	22
Figura 8. Esquema de um botão gustativo.....	24
Figura 9. Ilustração representando o sistema de linha lateral de um peixe.....	25
Figura 10. Ilustração demonstrando uma hipótese filogenética de acordo com a presença de órgãos ampulares.....	26
Figura 11. Ilustração demonstrando a distribuição de neuromastos superficiais e canais de poros.....	27
Figura 12. Esquema de um neuromasto.....	27
Figura 13. Ilustração do Aparelho de Weber nos peixes.....	29
Figura 14. Esquema do labirinto membranoso do ouvido interno de Teleósteo.....	31
Figura 15 . Ilustração demonstrando o receptor ampuliforme.....	32
Figura 16. Imagem do jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) adulto.....	35
Figura 17. Incubação dos ovos de <i>Rhamdia quelen</i>	39
Figura 18. Desenvolvimento do sistema visual de <i>Rhamdia quelen</i>	44
Figura 19. Desenvolvimento do sistema olfatório de <i>Rhamdia quelen</i> .	46
Figura 20. Desenvolvimento do sistema olfatório de <i>Rhamdia quelen</i>	47

Figura 21. Estrutura e ultraestrutura dos órgãos olfatórios.....	48
Figura 22. Barbilhões de larva média (E27) de <i>Rhamdia quelen</i>	49
Figura 23. Desenvolvimento dos barbilhões de <i>Rhamdia quelen</i>	50
Figura 24. Botões gustativos em larvas e pós-larvas de <i>Rhamdia quelen</i>	51
Figura 25. Sistema de linha lateral e órgãos ampulares da região cefálica de pós-larva de <i>Rhamdia Quelen</i>	54
Figura 26 Desenvolvimento do sistema de linha lateral <i>Rhamdia quelen</i>	55
Figura 27. Desenvolvimento do sistema de linha lateral <i>Rhamdia quelen</i>	56
Figura 28. Estrutura e ultraestrutura dos neuromastos do istema de linha lateral de <i>Rhamdia quelen</i>	57
Figura 29. Desenvolvimento do Ouvido Interno de <i>Rhamdia quelen</i>	58
Figura 30. Ouvido Interno de <i>Rhamdia quelen</i>	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estádios do desenvolvimento em que os indivíduos de <i>Rhamdia quelen</i> foram amostrados	40
Tabela 2. Tempo de desenvolvimento das principais estruturas sensoriais do jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) incubados a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$	60

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Sistema visual.....	15
1.2 Quimiorrecepção :Sistema Olfatório e Gustativo.....	19
1..2.1 Sistema Olfatório.....	19
1.2.2 Sistema Gustativo.....	22
1.3 Mecanorrecepção: Sistema Acústico-Lateral.....	25
1.3.1 Linha Lateral.....	25
1.3.2 Ouvido Interno.....	29
1.3.3 Eletrorrecepção: Receptores Ampuliformes.....	31
1.4 Utilização de técnicas de Microscopia no estudo do sistema Sensorial.....	32
1.5 A ordem Siluriformes.....	33
1.6 O Gênero <i>Rhamdia</i>	34
2. OBJETIVOS	37
2.1 Objetivos Gerais.....	37
2.2 Objetivos Específicos.....	37
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1 Obtenção e incubação dos ovos.....	38
3.2 Terminologia e Estadiamento.....	39
3.3 Amostragem.....	40
3.4 Microscopia de luz.....	41
3.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	42
3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	42
4. RESULTADOS.....	43
4.1 Descrição dos sistemas e das Estruturas Sensoriais.....	43
4.1.1 Sistema visual.....	43
4.1.2 Sistema Olfatório.....	45

4.1.3 Sistema Gustativo.....	49
4.1.4 Sistema Acústico-Lateral e Eletrorrecepção.....	52
4.2 Desenvolvimento Temporal do Sistema Sensorial do jundiá.....	59
4.2.1 Período Embrionário.....	60
4.2.2 Período Larval.....	61
4.2.3 Período Pós larval.....	61
5. DISCUSSÃO.....	62
6. CONCLUSÕES.....	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
8. ANEXOS.....	80
ANEXO 1. Tabela mostrando os principais eventos ontogênicos de Rhamdia quelen.....	81
ANEXO 2. Certificado de aprovação no Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPR.....	83

1 INTRODUÇÃO

Os vertebrados (Craniata) possuem uma cabeça bem definida contendo um cérebro relativamente grande protegido por uma caixa craniana (cartilaginosa ou óssea), bem como um complexo conjunto de órgãos dos sentidos (POUGH, 2003).

O sistema nervoso central dos vertebrados se desenvolve a partir do tubo neural, que inicialmente diferencia-se em uma porção anterior (encéfalo) e uma posterior (medula espinhal). A cefalização avança por meio do desenvolvimento das cristas neurais e placódios (CLAVIJO-AYALA, 2008). Os placódios são estruturas derivadas da ectoderme adjacente ao tubo neural e dão origem a distintos elementos do sistema sensorial (CLAVIJO-AYALA, 2008; GILBERT, 2007). Originam-se como espessamentos pareados do epitélio ectodérmico cefálico, que posteriormente se aprofundam, originando distintos tipos de estruturas, especialmente componentes do sistema nervoso periférico e sensorial. Desta forma, os placódios sensoriais da linha lateral originam derivados mecano e eletrorreceptores, os placódios óticos originam o aparelho vestibular e os ouvidos internos, os placódios ópticos (Fig. 1) originam o cristalino, e os placódios olfativos originam os epitélios nasais e olfativos (DUQUE-OSÓRIO, 2003).

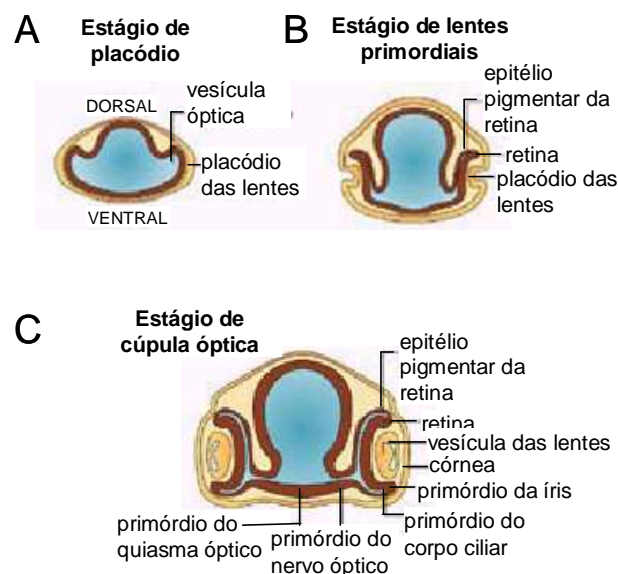


Figura 1. Etapas progressivas do desenvolvimento dos olhos de um vertebrado (Fonte: Adaptado de GRAW, 2003).

O sistema nervoso controla a atividade de todos os outros sistemas orgânicos. O sistema sensorial participa na recepção e tradução dos estímulos ambientais ao sistema nervoso central. As informações sensoriais são percebidas pelo sistema nervoso periférico e conduzidas pelos nervos aferentes ao sistema nervoso central, onde são geradas respostas adequadas aos estímulos, modulando o comportamento (PITCHER, 1993). A transmissão de ondas mecânicas e sonoras e de estímulos visuais e químicos na água é essencialmente distinta da que acontece no ambiente terrestre. A água apresenta diferentes graus de refração e reflexão da luz solar de acordo com sua densidade, temperatura, salinidade, entre outras características. Da mesma forma, a dispersão de ondas sonoras e mecânicas varia de acordo com a densidade e concentração de partículas dissolvidas ou em suspensão na água. Com isso, evolução do sistema sensorial levou ao desenvolvimento e especialização da estruturas sensíveis a essa variação de informações em peixes e outros organismos aquáticos (LIEM *et al.*, 2001).

O sistema sensorial dos Teleósteos é composto por: ouvidos internos e células mecanorreceptoras e eletorreceptoras, formando o sistema acústico-lateral (tato, equilíbrio e audição), o sistema olfatório (olfato), os botões gustativos (paladar) e o sistema óptico ou visual (visão) (MOORMAN e STHEPHEN, 2001).

1.1 Sistema visual

Segundo Fishelson & Baranes (1999) os estudos de olhos de peixe remontam os renomados estudos de Müller (1851), Schultze (1886), Schiefferdecker (1886), e Cajal (1893). Com os avanços nos métodos de investigação, os olhos de peixes começaram a ser estudados com maior detalhe, especialmente citologia da retina. Os resultados desses estudos culminaram em vários livros (Rohen, 1965; Ali, 1974; Ali e Anctil, 1976; Ali e Klyne, 1985; Fuortes, 1972) e a maioria dessas publicações tratam de peixes teleósteos, especialmente sobre a ontogênese das células da retina e estruturas adjacentes.

A formação dos olhos dos vertebrados se inicia por evaginações em ambos os lados da extremidade anterior do tubo neural, formando os pedúnculos ópticos e as vesículas ópticas (LI, 2000). Cada vesícula irá se diferenciar em duas estruturas principais a lente e a retina (Fig. 1). A lente converge a luz refletida dos objetos para dentro do olho, onde é absorvida e transmitida pelas células nervosas presentes na retina (SOULES e LINK, 2005).

Nos estádios mais precoces, os olhos são freqüentemente transparentes e a retina, indiferenciada (BOUEF e LE BAIL, 1999). Na medida em que a larva se desenvolve, contudo, alterações morfológicas não neurais, incluindo mudanças no número, nos tipos e no padrão de distribuição das células fotorreceptoras, na área superficial da retina e no diâmetro da lente, entre outras, resultam em modificações na visão (CESTAROLLI, 2005).

O olho de um peixe teleósteo é adaptado à visão na água e difere em alguns aspectos dos olhos dos vertebrados terrestres adaptados à visão no ar. O olho de um teleósteo é caracterizado por uma esclera fraca, uma córnea plana e um cristalino quase globular (KRAAIJ, 2000).

Embora as estruturas sensoriais dos olhos de peixe sejam morfológicamente semelhantes aos demais vertebrados, numerosos são os exemplos de adaptações para diferentes condições ecológicas encontrados em determinados peixes: por exemplo, os olhos com lentes duplas, ou os olhos com o dobro ou até mesmo quádruplo de elementos sensoriais da retina quando comparado aos demais vertebrados (WALLS ,1942; MUNK 1966 e 1969).

O olho é um órgão constituído por três camadas dispostas concêntricamente. A camada mais externa é formada pela esclera, uma camada espessa e firme na maioria dos peixes, porém nos Teleósteos é delgada e fina. A camada média, ou túnica vascular, é constituída pela coróide, a qual é altamente vascularizada, pelo corpo ciliar e pela íris. A camada mais interna é a retina fotossensitiva, o componente mais importante dos olhos (TAKASHIMA e HIBIYA, 1998). (Fig. 2)

A lente (cristalino) dos teleósteos é completamente redonda e se projeta para a câmara aquosa próximo à córnea proporcionando um grande campo de visão ao olho do peixe. A lente é composta de três camadas, uma bainha exterior acelular, uma camada de células epiteliais cubóides subjacentes e uma camada fibrosa. Devido à sua rigidez, a acomodação visual é realizada não por alteração da forma da lente, mas pela movimentação para frente e para trás através de ligamentos de um músculo retrator (YONKOS *et al.*, 2000).

A camada esclero-corneana é a camada mais externa do olho, ela é dividida em esclera interna e externa (Fig. 2). A córnea é constituída por um epitélio pavimentoso despigmentado, um estroma membranoso e um epitélio fino. O epitélio corneano é multifacetado e contínuo com o epitélio da cabeça. A parede da porção posterior do olho é composta da esclera fibroelástica que é contínua com o estroma corneano. Enquanto a córnea é transparente, a esclera é opaca por possuir uma bainha externa de cartilagem hialina (YONKOS *et al.*,2000).

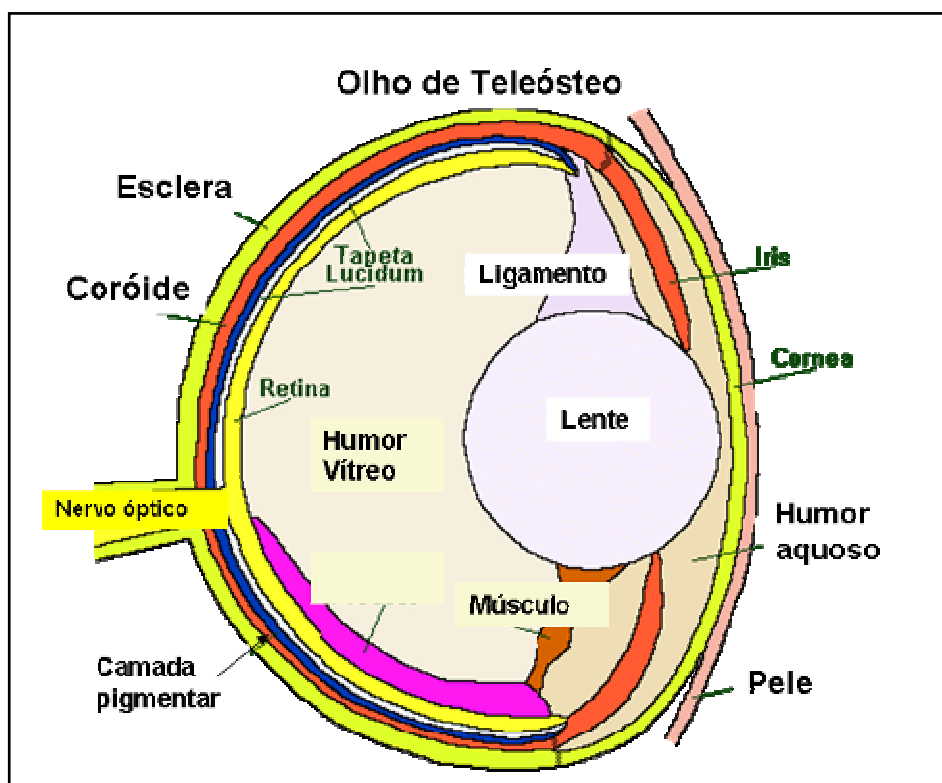


Figura 2. Ilustração de olho de Teleósteo. Fonte: Adaptado de RAMEL, 2011.

A retina é dividida em camadas distintas: camada do epitélio pigmentar, camada das células fotorreceptoras (cones e bastonetes), membrana limitante externa, a camada nuclear externa, camada plexiforme interna, camada de células ganglionares, camada de fibras nervosas, e membrana limitante interna. (Fig. 3) Estas camadas permanecem distintas às margens da íris. Imagens visuais são retransmitidas a partir de cones e bastonetes das células fotorreceptoras para a camada de células das fibras nervosas que fazem sinapses com o nervo óptico. A informação visual é transmitida através do nervo óptico até o mesencéfalo (YONKOS *et al.*, 2000)..

Em muitos teleósteos, a visão é a principal modalidade sensorial na detecção do alimento. Em bagres (Siluriformes), contudo, os sentidos químicos devem ser mais efetivos nessa atividade, devido à limitação do campo visual, onde vivem esses animais (IWAI, 1980).

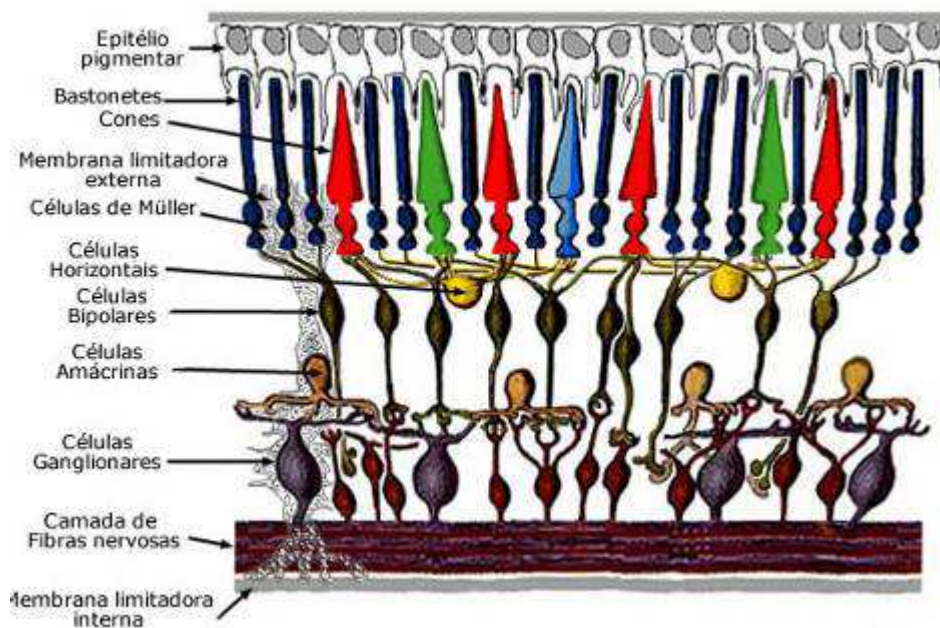


Figura 3. Ilustração demonstrando as camadas da retina. Fonte: MELDAU, 2011.

1.2 Quimiorrecepção : Sistema Olfatório e Gustativo

1.2.1 Sistema olfatório

O sistema olfatório é fundamental para a sobrevivência do animal, pois ele é importante na detecção da presença de alimento e de predadores, além de estímulos relacionados ao comportamento reprodutivo, através da percepção de alterações hormonais (SAITO *et al.*, 2004).

A literatura apresenta diferentes informações relacionadas ao sentido do olfato em vertebrados. O primeiro é a conservação do sistema olfatório ao longo da evolução (HILDEBRAND e SHEPHERD, 1997). Outro aspecto é que os neurônios sensoriais do sistema olfatório dos vertebrados se regeneram ao longo da vida do animal (MOULTON, 1974; GRAZIADEI e GRAZIADEI, 1980; SCHWOB, 2002) e também que o sistema olfatório de peixes é altamente sensível aos hormônios sexuais (HAMDANI *et al.*, 2007).

Evidências consideráveis apontam para o olfato como sendo um mediador geral dos sinais químicos envolvidos em vários comportamentos de peixes teleósteos, incluindo seleção de habitat, migração, formação de casais, cuidados parentais e prevenção à predação (NOAKES e GODIN, 1988).

A morfologia dos órgãos olfativos varia entre as espécies de peixes. De acordo com Hara (1976), em alguns grupos, como nos tubarões e enguias, eles são bem desenvolvidos, sendo considerados macrosmáticos. Em outros são pouco desenvolvidos ou microsmáticos. As cavidades nasais são revestidas pelo epitélio olfativo, que organiza-se em uma série de lamelas, formando as rosetas olfatórias (Fig.4).

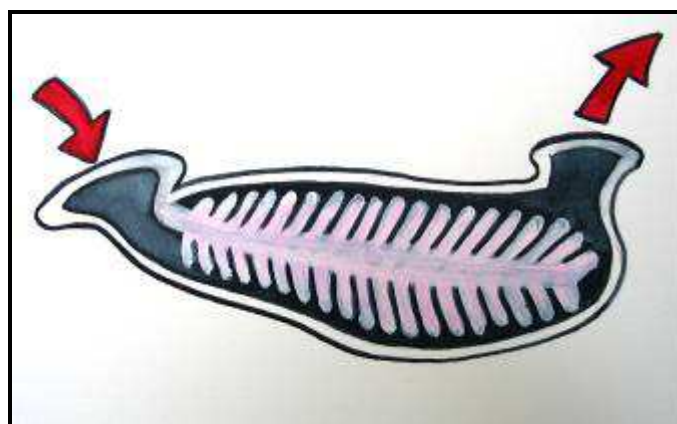


Figura 4. Ilustração demonstrando lamelas olfatórias e a entrada e saída da água. (Fonte: EVANS, 2011).

A disposição, forma e grau de desenvolvimento das lamelas na roseta podem variar consideravelmente de espécie para espécie. Acredita-se que não exista uma simples relação entre a superfície do epitélio olfativo e a sensibilidade aos odores, já que o epitélio sensorial não é distribuído uniformemente sobre a superfície das lamelas olfativas (HARA, 1975).

O epitélio olfativo dos Teleósteos, como de outros vertebrados, é composto por três tipos celulares: as células receptoras, células de sustentação e células basais (HARA, 1975). Supõe-se que as células de suporte tenham a função de auxiliar as células receptoras em sua função olfatória e as células basais sejam precursoras das células receptoras (CATANIA *et al.*; 2003; NAKAMUTA *et al.*; 2010). As células receptoras olfatórias são neurônios que detectam os odores e, em peixes, são classificadas em três tipos: as células receptoras ciliadas, células receptoras com microvilos e as “crypt cells”, que têm função desconhecida (CATANIA *et al.*; 2003; NAKAMUTA *et al.*; 2010). As células receptoras ciliadas possuem longos dendritos e cílios, e apresentam terminações axonais na parte medial do bulbo olfatório que é parte do telencéfalo. As células receptoras com microvilos (Fig.5) possuem pequenos dendritos, as suas microvilosidades estendem-se para sua superfície apical e seus axônios direcionam-se para parte lateral do bulbo (YAMAMOTO e UEDA 1979; THOMMESEN 1983; HAMDANI *et al.*, 2006). As *crypt cells* são esféricas ou piriformes, localizam-se próximo à superfície epitelial e possuem poucos cílios e microvilos (HANSEN *et al.*, 1997; HANSEN e FINGER 2000).

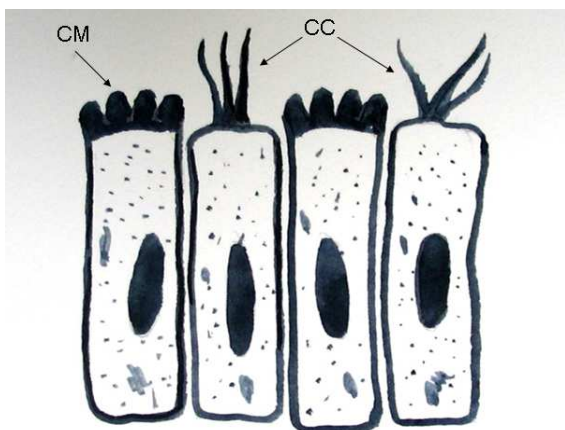


Figura 5. Ilustração demonstrando as células receptoras ciliadas (CC) e com microvilosidades (CM) do epitélio olfatório. (Fonte: EVANS,2011).

As células receptoras, que são neurônios primários bipolares sensoriais, enviam um dendrito delgado cilíndrico em direção à superfície do epitélio e estão diretamente ligadas com o bulbo olfatório pelo seu axônio.

O dendrito termina em botão olfatório, que tem um número variável de cílios. As informações das células receptoras são transmitidas para o bulbo olfatório, onde os sinais são processados e integrados (Fig.6). A característica dominante do bulbo é o contato sináptico entre os neurônios olfativos primários e secundários na forma de glomérulo.

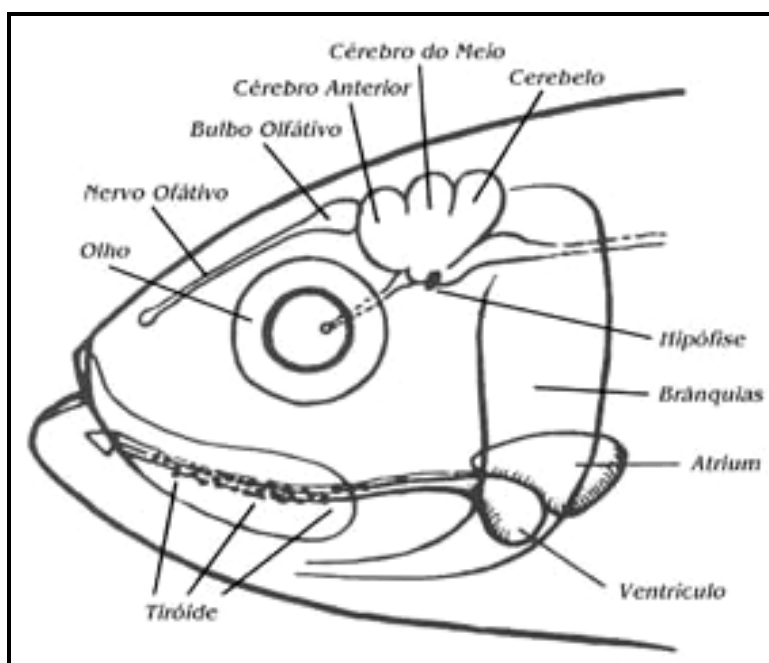
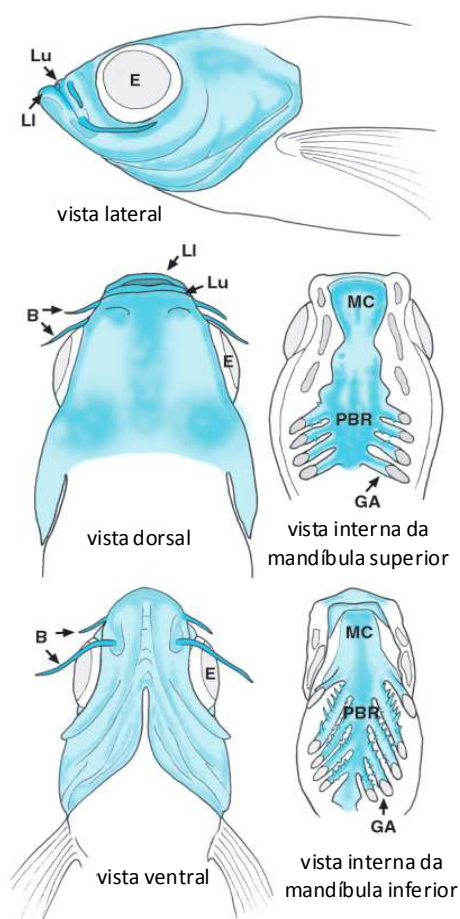


Figura 6. Esquema demonstrando a localização do Bulbo olfatório em peixes. (Fonte: GAM, 2011).

1.2.2 Sistema Gustativo

Os barbilhões são considerados estruturas associadas a mecanismos adaptativos em águas turvas, onde existe uma redução do campo visual (DAVIS e MILLER, 1967). Ao contrário do esperado, em alguns ciprinídeos, foi observada uma relação inversamente proporcional entre o comprimento do barbilhão e a turbidez da água (SCHMIDT, 1983). A espécie *Mullus surmuletus* habita áreas menos turvas e apresenta barbilhões mais longos que a espécie *M. barbatus*. No estudo de CAMBRAY (1994), foi constatado que no gênero *Pseudobarbus*, ciprinídeos de águas continentais, as espécies que habitam águas claras apresentam barbilhões maiores do que as espécies que habitam água turvas, sugerindo que a densidade dos botões gustativos é mais importante que o comprimento do barbilhão para a localização do alimento em ambientes de campos visuais restritos.

Os botões gustativos são órgãos quimiossensoriais que os peixes, bem como outros vertebrados, usam para aumentar o potencial de busca de alimento, selecionando substâncias comestíveis e rejeitando as não-comestíveis (HANSEN *et al.*, 2002).



(HANSEN *et al.*, 2002).

Nos peixes, estão distribuídos em estruturas externas, como lábios superior e inferior e nas diversas regiões do epitélio da cabeça, bem como em estruturas internas da boca, como arcos branquiais e faringe, provavelmente por serem regiões do corpo diretamente envolvidas com a detecção e apreensão do alimento (HANKEN *et al.*, 2008). Podem apresentar-se isolados ou agrupados de forma bem definida (CLAVIJO-AYALA, 2008).

Figura 7. Distribuição dos botões gustativos no zebrafish (*Danio rerio*) juvenil e adulto. A elevada abundância de botões é marcada por tons mais intensos de cor. Os botões estão presentes na cabeça, nos dois pares de barbilhões (B), Lábios superior (Lu) e inferior (Li), na cavidade bucal (MC), a região faringo-branquial (PBR), nos arcos branquiais (GA) e, nos rastros branquiais, que estão localizados nestes. A letra E indica o olho. (Fonte: adaptado de HANSEN, 2002).

Como exemplo, o estudo de HANSEN (2002) descreve o desenvolvimento inicial dos botões gustativos do zebrafish (*Danio rerio*). Nos juvenis e adultos desta espécie, os botões estão localizadas nos lábios, na cavidade orofaríngea, nos dois pares de barbilhões e na superfície ventral e dorsal da cabeça (Fig. 7).

Livingston (1987) analisou cinco espécies de peixes teleósteos, retirando amostras dos lábios, da região lateral da cabeça e cavidade faríngea, encontrando os botões com a mesma conformação em todas as amostras, corroborando, portanto, que essas estruturas parecem seguir um padrão na maioria dos teleósteos. Entretanto, em robalo (*Centropomus parallelus*), foram observados botões gustativos nas mesmas regiões citadas acima, porém que diferem principalmente na forma e no tamanho, sendo, no entanto, semelhantes em sua constituição básica aos descritos para peixes teleósteos. As diferentes formas e a distribuição dos botões gustativos de *C. parallelus* sugerem que os botões gustativos responsáveis pela identificação de diferentes substâncias químicas poderiam estar localizados em diferentes regiões ou, ainda, apresentarem maior ou menor capacidade de captação de estímulos do meio (HANKE *et al.*, 2008).

Em um estudo anatomo-histológico realizado no gênero *Mullus*, observa-se que os botões gustativos presentes nos barbilhões, além da função gustativa, apresentam também uma possível função tátil, como a linha lateral, devido à presença de elementos sensitivos e glandulares no seu epitélio (MCCORMICK, 1993).

Nos peixes adultos os botões gustativos têm forma de pêra ou cebola (Fig. 8). Eles formam uma pequena papila dérmica constituído de três tipos de células epiteliais modificadas de diferentes tipos, descritos de acordo com sua densidade de elétrons em microscópio eletrônico de transmissão: células receptoras (células claras), células de suporte (células escuras) e células basais (SORENSEN e CAPRIO, 1998). As células escuras apresentam muitos microvilos de pequeno tamanho, enquanto que as células claras têm um estereocílio na região apical. As células basais se posicionam horizontalmente entre as células escuras e claras e a lâmina basal. Estas células formam

sinapses com as fibras nervosas, atuando como mecanorreceptores, podendo, ainda, ter funções parácrinas ou neuroendócrinas (ROPER, 1993).

Essas estruturas se localizam na epiderme e o seu ápice se põe em contato com a água através de um poro que, muitas vezes, é visível em microscopia eletrônica de varredura. Sua parte basal possui uma membrana basal, formando sinapses com as fibras sensoriais (KINNAMON e CUMMINGS, 1992). Os botões gustativos são cercados por células marginais, que não pertencem ao órgão, mas representam a interface entre as células regulares do epitélio estratificado pavimentoso (epitélio de revestimento) e o epitélio sensorial dos botões gustativos (Fig. 8).

Foi observado também que uma única fibra nervosa pode fazer sinapse com mais de uma célula gustativa. Dessa forma, uma célula gustativa pode conter em sua membrana diferentes receptores para estímulos qualitativamente diferentes, permitindo que o botão gustativo discrimine diferentes estímulos dentro de uma ampla gama de impulsos (KOTRSCHAL, 1995).

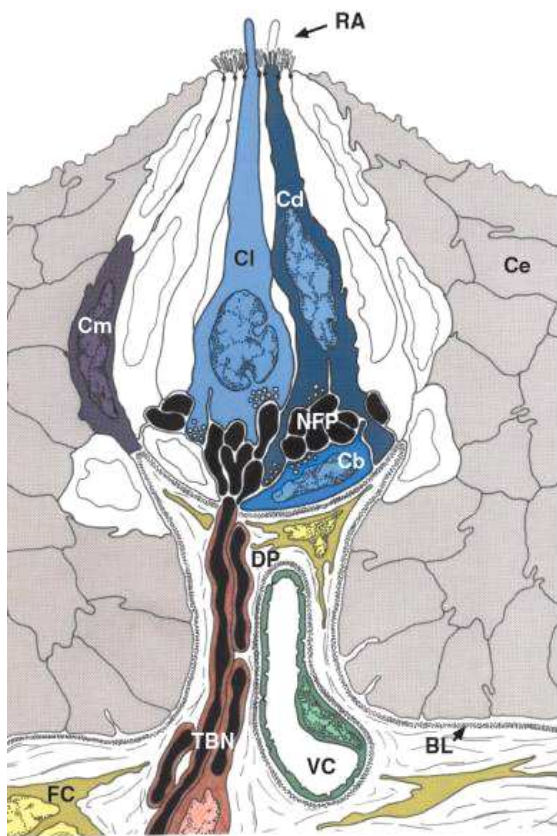


Figura 8. Esquema de um botão gustativo típico de teleostes, com formato de pêra ou cebola. Células escuras (Cd) com numerosas pequenas microvilosidades; células claras (Cl) com uma única microvilosidade (estereocílio); células basais (Cb); células marginais (Cm), que não pertencem ao botão gustativo, formando a interface com as células epiteliais de revestimento (Ce). O botão se apóia em uma papila dérmica (DP). O nervo do botão gustativo (TBN) atinge o botão para formar o complexo de fibras nervosas (NFP). As pequenas vesículas no diagrama representam os contatos sinápticos. BL, lâmina basal; RA, área receptora; VC, vaso capilar. (Fonte: adaptado de HANSEN, 2002).

1.3 Mecanorrecepção: Sistema acústico-lateral

1.3.1 Linha lateral

A estrutura do sistema da linha lateral foi descrita por vários autores (FLOCK e WERSALL, 1962; FLOCK, 1965; HAMA, 1965; EKSTRÖM VON LUBITZ, 1981; HOSS e BLAXTER, 1982; BLAXTER *et al.*, 1983; TATSUOKA e HAMA, 1987) e atualmente é bem conhecida.

De acordo com POUGH *et al.* (2003), a linha lateral é composta por estruturas mecanorreceptoras (neuromastos), que detectam movimentos da água, sons de frequência de cerca de 500 Hz, campos magnéticos, contribuindo na localização de obstáculos. Esse sistema auxilia o animal na locomoção na coluna d'água, detecção de presas e predadores e durante a cômte sexual, atuando também como um método compensatório em peixes com o sistema visual deficiente ou precário.

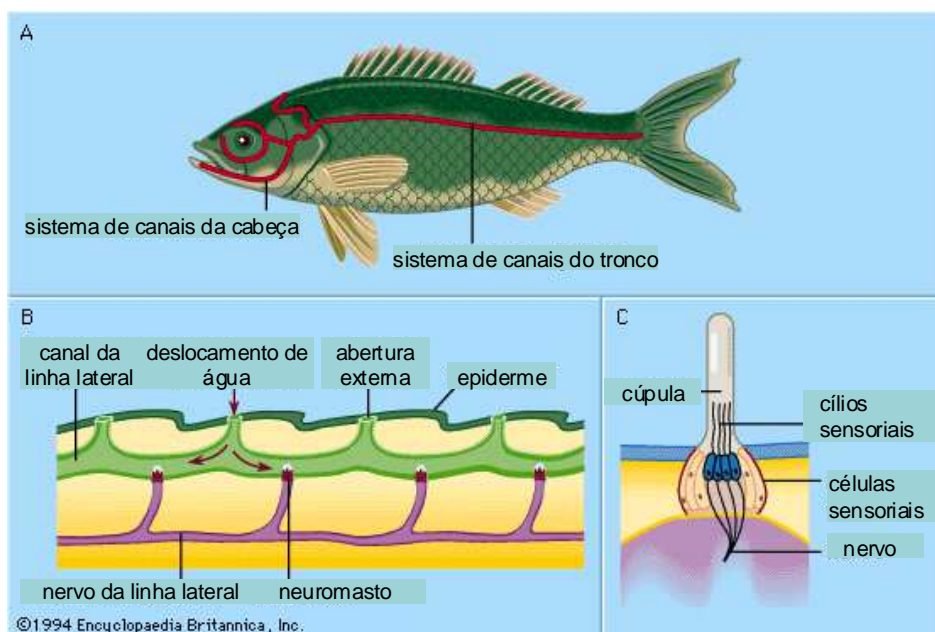


Figura 9. Ilustração representando o sistema de linha lateral de um peixe. A. Localização dos sistemas de canais da cabeça e do tronco. B. representação de um canal em corte longitudinal. C. Esquema de um neuromasto superficial. (Fonte: adaptado de ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA, 2011)

DIJKGRAAF (1963) considera a linha lateral como um órgão táctil remoto. Em ciclostomados e anfíbios aquáticos esse sistema ou os neuromastos livres são localizados superficialmente na epiderme (MARSHALL, 1986) e algumas vezes em canais (EKSTRÖM VON LUBITZ, 1981). Em alguns peixes, como no arenque atlântico *Clupea harengus*, a maioria dos neuromastos é encontrada dentro de canais, sendo limitados a uma única parte do corpo (JORGENSEN, 1985). Entretanto, em *Ictalurus punctatus*, geralmente se localizam na cabeça e tronco (NORTHCUTT *et al.*, 2000) (Fig. 9).

Primitivamente, a linha lateral dos peixes mandibulados consistia em neuromastos mecanorreceptores e órgãos ampulares eletorreceptores. Ambos os tipos de receptores foram retidos nos primeiros peixes actinoptérigeos, mas os órgãos ampulares foram perdidos com a origem dos neoptérigeos. Entretanto, posteriormente reapareceu nos Teleósteos e parecem ter re-evoluído pelo menos duas vezes nesse grupo (Fig. 10) (NORTHCUTT, 2003)

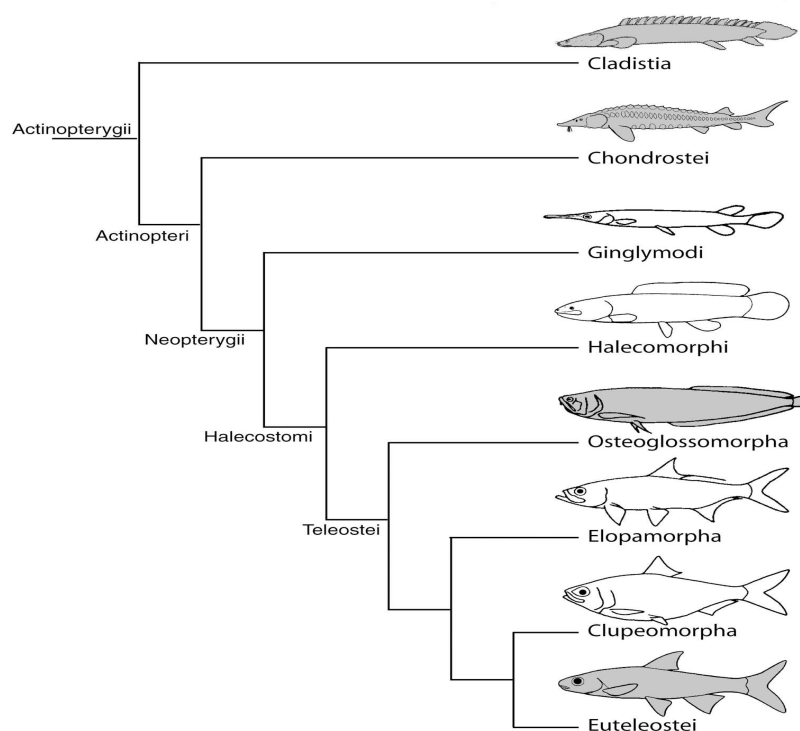


Figura 10 – Uma hipótese atual das relações filogenéticas de acordo com a presença de órgãos ampulares. Grupos sombreados são os que possuem órgãos ampulares eletorreceptores. Os Cladista e Chondostrei possuem órgãos ampulares, enquanto os Ginglymodes e Halecomorphi não. Eletorreceptores parecem ter re-evoluído pelo menos duas vezes em Teleósteos, sendo uma vez entre os Osteoglossomorpha e novamente entre os Euteleostei. (Fonte: NORTHCUTT, 2003).

GHYSEN e CHAUDIÈRE (2004) descreveram os neuromastos, como agrupamentos de células sensoriais e de suporte espalhadas sobre a superfície do corpo e cabeça do peixe (Fig. 11).

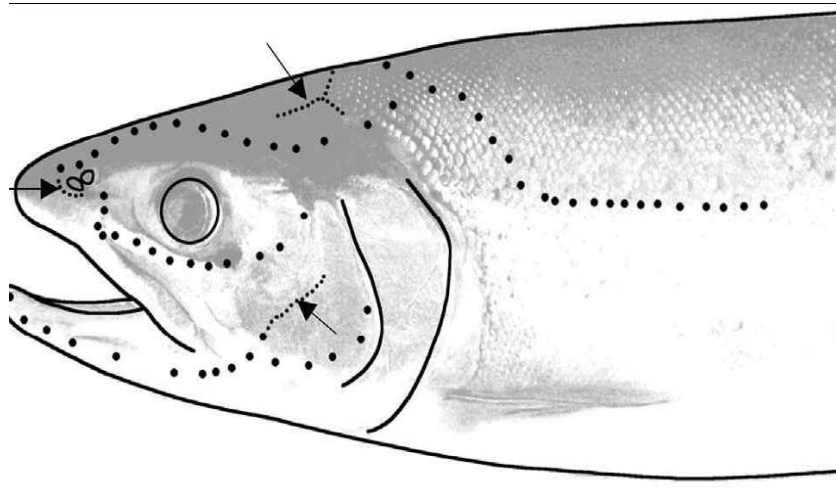


Figura 11. Ilustração da distribuição de neuromastos superficiais (pequenos círculos cheios, setas) e canal de poros (grandes círculos cheios) em *Oncorhynchus mykiss*. (Fonte: MONTGOMERY *et al.*, 2003).

As células sensoriais dos neuromastos são denominadas *hair cells* e apresentam um feixe de cílios mais longos denominados cinecílio (ou quinecílio) e outras projeções mais curtas denominadas estereocílios (Fig. 12).

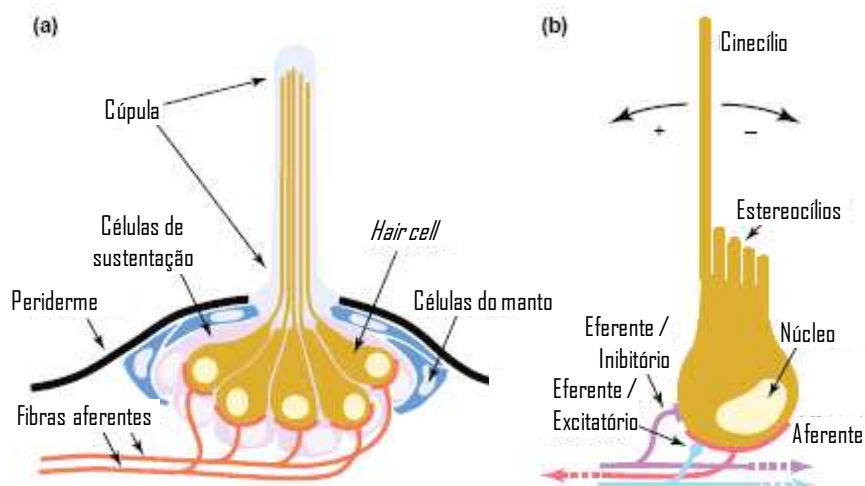


Figura 12. (a) Esquema de um neuromasto, ilustrando os diferentes tipos de células envolvidas em sua organização. (b) Esquema de uma *hair cell* do neuromasto, ilustrando sua assimetria funcional e a inervação aferente e eferente. (Fonte : adaptado de GHYSEN e CHAUDIÈRE, 2004).

Os cinecílios de várias células sensoriais estão embebidos em uma única estrutura gelatinosa chamada cúpula, que é secretada pelas células de suporte (Fig. 12). O movimento da água provoca uma deformação da cúpula fazendo com que os cinecílios se curvem movendo-se em um único plano. Os cinecílios, ao serem deslocados na direção dos estereocílios as células se despolarizam e, em sentido oposto, hiperpolarizam. Como consequência, causam, respectivamente, aumento ou diminuição na secreção de neurotransmissores excitatórios e estão adaptados para detectar fenômenos ondulatórios (POUGH *et al.*, 2003).

Muitos trabalhos sobre o desenvolvimento desse sistema são limitados a breve descrição e distribuição dos neuromastos (IWAI, 1963; APPELBAUM e RIEHL, 1997; OTSUKA e NAGAI, 1997), bem como à formação dos canais (MARGULIES, 1989; POLING e FUIMAN, 1997), não contendo detalhes sobre o desenvolvimento, como por exemplo, em quais os estágios da larva que essas estruturas surgem.

Um estudo mais completo sobre o desenvolvimento da linha lateral foi feito por DIAZ *et al.* (2003) com o peixe *Dicentrarchus labrax*. Através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), esse estudo demonstrou que, um pouco antes da eclosão da larva daquela espécie, os primeiros neuromastos se projetam em cada lado do embrião, logo atrás da protuberância que corresponde ao futuro olho (vesícula óptica). Eles são particularmente visíveis por todo o período pré-larval e início do período larval. Próximo ao período da eclosão, outros três pares de pequenos neuromastos aparecem no tronco do animal. Após a eclosão, os neuromastos crescem perto da abertura da boca no tronco. Na larva mais velha, os neuromastos se multiplicam e se alinham sugerindo um padrão que indica a futura posição dos canais. A transição para o estágio de juvenil marca o início da maior transformação anatômica. Ao mesmo tempo em que as narinas são formadas, o padrão de alinhamento cefálico dos neuromastos se dobra para dentro sendo revestido gradualmente pela epiderme. Os canais são formados quando se abrem externamente através de orifícios. Esse processo envolve sucessivamente canais supra-orbitais ao mesmo tempo de canais operculares e finalmente os canais infra-orbitais,

mandibular e temporal. Esses canais aparecem por último junto com a linha lateral após o desenvolvimento das escamas.

1.3.2 Ouvido interno

Os peixes possuem mecanismos sensoriais que lhes permitem distinguir sons do ruído gerado por água turbulentas ou por outras fontes, tanto próximas quanto distantes, já que têm a capacidade de detectar estímulos infra-sônicos (menos de 1 Hz) (HAWKINS, 1993).

Os Bagres possuem ossículos de Weber, que são três ou quatro pares de ossículos que se encontram posteriormente sobre a bexiga natatória e anteriormente sobre a perilinfa do ouvido interno (Fig. 13), ele tem a função de transmitir as vibrações sonoras recebidas pela bexiga natatória para o ouvido interno (MACIEL, 2006) Além disso, tanto a bexiga natatória quanto os ossículos de Weber (Aparelho de Weber) são utilizados como amplificadores acústicos, o que é importante para a comunicação sonora entre os animais (LIEM *et al.*, 2001).

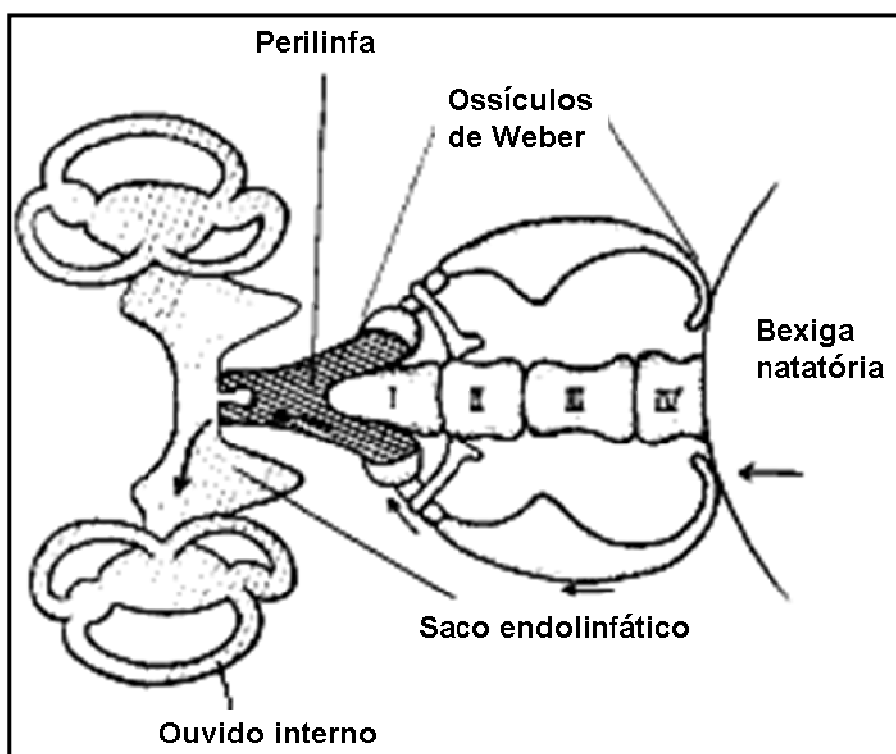


Figura 13. Ilustração do Aparelho de Weber nos peixes. (Fonte: adaptado de REIS, 2011).

O ouvido interno é um complexo órgão sensorial responsável pelo equilíbrio e detecção de som nos vertebrados. É originado de uma estrutura embrionária transitória, a vesícula ótica (TORRES e GIRÁLDEZ, 1998). Cinco porções de epitélio sensorial, duas máculas e três cristas desenvolvem o ouvido embrionário e larval. As duas máculas são as primeiras regiões sensoriais a se desenvolver. Cada uma é sobreposta por um otólito, um depósito cristalino de cálcio, carbonato e proteína (WHITFIELD, 2002).

A detecção de som e do movimento da cabeça em vertebrados depende da transdução da força mecânica em sinais elétricos através das hair cells do ouvido interno (HUDSPETH, 1989). Os feixes capilares das hair cells são estruturas especializadas em detectar forças mecânicas (ZINE e ROMAND, 1996). Observações *in vivo* do ouvido interno de embriões de Zebrafish (*Danio rerio*) demonstraram um pequeno número de células ciliadas especializadas na vesícula ótica que são hair cells prematuras (RILEY *et al.*, 1997).

Assim como em outros vertebrados a mácula aparece como a primeira área sensorial na vesícula ótica de zebrafish (WHITFIELD *et al.*, 2002) a mácula contém os receptores *hair cells* acoplados a cristais de carbonato de cálcio, conhecido como otólito, (Fig. 14) que detectam aceleração linear e vibração do som (POPPER e FAY, 1993; NICOLSON, 2005).

As hair cells com estereocílios são morfologicamente identificadas na mácula anterior (utricular) e posterior (sacular) um dia após a fertilização em zebrafish (*Danio rerio*) (HADDON e LEWIS, 1996, HADDON *et al.*, 1999).

Os otólitos das espécies de teleósteos fazem parte do ouvido interno (o labirinto membranoso). O labirinto é preenchido com endolinfa e consiste em uma parte superior compreendendo canais semicirculares ortogonalmente dispostos em uma parte inferior composto por três áreas, o utrículo, o sacúlo e a lagena (Fig. 14). Os canais semi-circulares são inervados por ramos do nervo auditivo e contém ampolas que abrigam cristas sensoriais, estas respondem às acelerações angulares como as voltas do peixe. As partes inferiores do labirinto (utrículo, sacúolo e lagena) contém cada, uma mácula sensorial coberta por uma membrana (OTO, 2011).

O sistema acústico-lateral dos teleósteos consiste do ouvido interno (o labirinto membranoso, localizado na cavidade cefálica) e da linha lateral (neuromastos) (OTO, 2011).

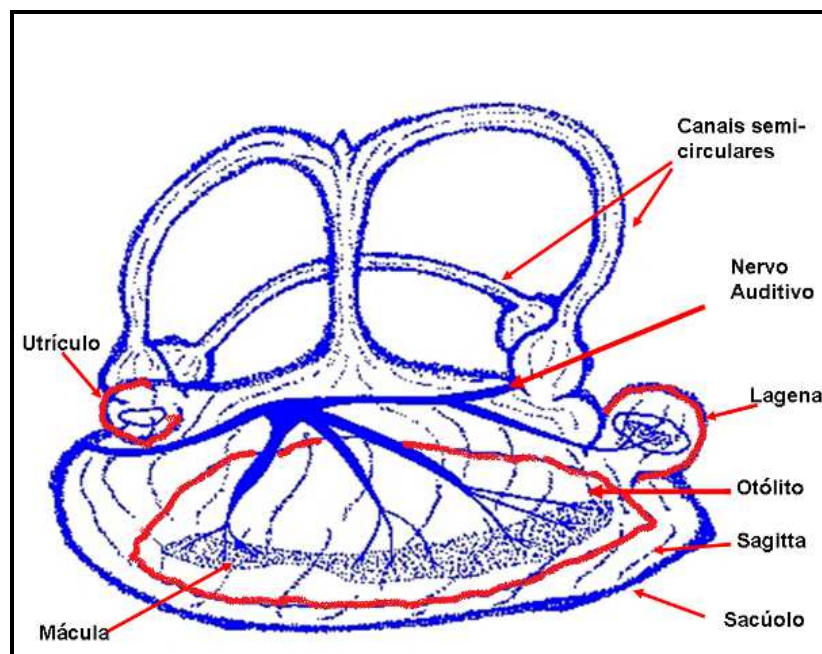


Figura 14. Esquema do Labirinto membranoso do Ouvido interno de teleósteo (Fonte: adaptado de OTO, 2011).

1.3.3 Eletorrecepção: receptores ampuliformes

Embora esta outra modalidade sensorial pertença ao sistema de linha lateral, ela difere dos neuromastos pelo tipo de recepção: os neuromastos são mecanorreceptores e os receptores ampuliformes são eletorreceptores. A eletorrecepção é restrita a uma pequena parcela (menos de 1%) das espécies de peixes teleósteos (BLECKMANN, 1993), característica, porém não exclusiva, de muitas espécies de Siluriformes. Nesses bagres, os órgãos receptores dos estímulos elétricos de baixa frequência, os receptores ampuliformes, localizam-se na epiderme, em várias espécies de água doce, ou em uma invaginação profunda da membrana basal da epiderme, em espécies marinhas. (Fig. 15) Esses órgãos especializados da linha lateral atuam na detecção de estímulos elétricos produzidos por fontes inanimadas ou por outros organismos aquáticos. No primeiro caso, desempenham função de

orientação e, no segundo, estão envolvidos no comportamento alimentar (BLECKMANN,1993).

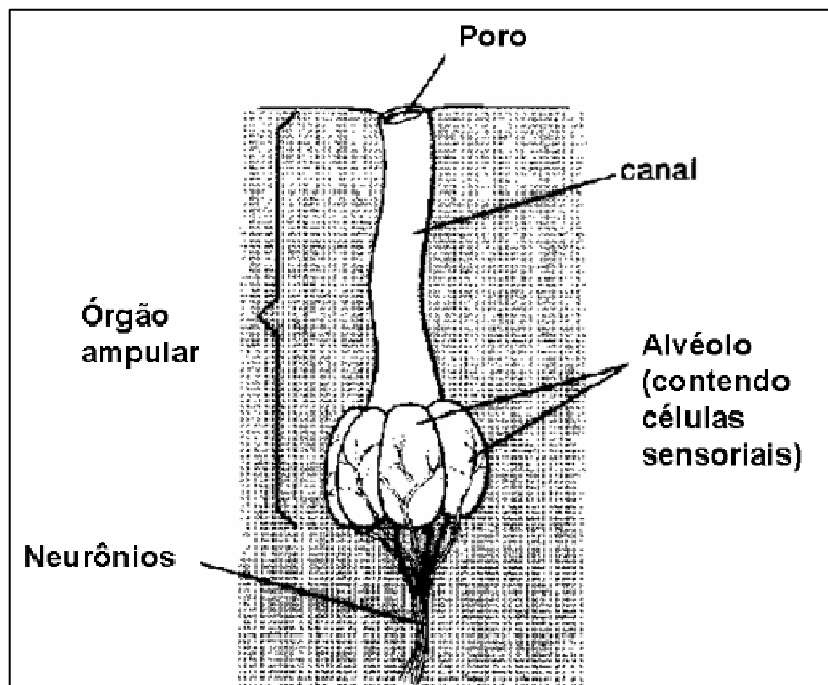


Figura 15. Ilustração demonstrando o receptor ampuliforme. (Fonte: REIS, 2011)

1.4 Utilização de técnicas de microscopia no estudo do sistema sensorial

O pequeno tamanho das estruturas associadas ao sistema sensorial ultrapassa o poder de resolução do olho humano. Assim, para a observação em detalhe dessas estruturas, é preciso a utilização de técnicas de estéreomicroscopia (EM), microscopia óptica ou de luz (MO) e microscopia eletrônica, tanto de varredura (MEV), quanto de transmissão (MET). Entende-se por resolução ou poder de resolução de um instrumento de óptica a menor distância nitidamente distinguível entre dois pontos do material do exame. A resolução do olho humano é da ordem de 0,1 mm (milímetros), a de um microscópio de luz, cerca de 200 nm (nanômetro) ou (0,2 μm (micrômetro)), a de um microscópio eletrônico de transmissão, cerca de 1-2 Å (ângstrom) (0,1-0,2 nm) (KITAJIMA e LEITE, 1999).

A EM permite observar e documentar detalhes do avanço do desenvolvimento, além de facilitar as tarefas de manipulação do material

(remoção de embriões do córion, análises de material anestesiado ou fixado, etc.) e permite a tomada de microfotografias, mas o poder de aumento da EM é baixo (entre 40X e 60X) (CLAVIJO-AYALA, 2008).

Da mesma forma, as técnicas histológicas permitem obter secções seriadas do material de estudo, as quais podem ser coradas, e posteriormente examinadas com o uso de MO. Assim, é possível detalhar a anatomia, topografia e estrutura interna do material. As imagens obtidas auxiliam o estudo das relações entre tecidos e órgãos, mas o poder de aumento na MO é limitado (cerca de 1.000X) (KITAJIMA e LEITE, 1999).

Por sua parte, a MEV proporciona uma excelente imagem superficial, caracterizada pela qualidade tridimensional e profundidade de campo. A topografia superficial do espécime é revelada com grande detalhe. Em muitos casos, a MEV é a ferramenta de primeira opção no estudo e descrição de estruturas delicadas da superfície de embriões e larvas em desenvolvimento (receptores do epitélio olfativo, botões gustativos e neuromastos (CLAVIJO-AYALA, 2008). Na MEV, as imagens são formadas pelos elétrons secundários desprendidos da superfície da amostra, previamente coberta por uma camada muito fina de ouro, ouro-paládio, ou paládio-platino, e bombardeada pelo feixe de elétrons emitidos pelo canhão do microscópio (KITAJIMA e LEITE, 1999)

O MET possui sistemas de iluminação e vácuo que produz feixes de elétrons de alta energia (energia cinética), que ao incidir sobre a amostra de tecido ultrafina (na espessura de nanômetros), fornece imagens planas, imensamente ampliadas, possuindo a capacidade de aumento útil de até um milhão de vezes a assim permitindo a visualização de moléculas orgânicas, como o DNA, RNA e algumas proteínas, como também, detalhes estruturais das células (BITTENCOURT, 2011)

1.5 A ordem Siluriformes

A ordem Siluriformes é composta por 31 famílias de peixes caracterizados pela ausência de escamas no corpo e por possuírem a pele nua ou coberta por placas ósseas, possuem espinhos nas nadadeiras dorsais e

peitorais e normalmente apresentam três pares de barbilhões ao redor da boca. A maioria possui hábitos carnívoros e onívoros (NAKATANI *et al*, 2001)

Os Siluriformes (bagres e cascudos) constituem um grupo bastante diverso, com ampla distribuição geográfica, sendo a sexta maior ordem entre os vertebrados vivos, com cerca de 36 famílias, com 478 gêneros e mais de 3.000 espécies descritas. Esses peixes colonizaram praticamente todos os tipos de habitats aquáticos, desde os superficiais aos subterrâneos. Do ponto de vista ecológico os Siluriformes são distintos da maioria dos peixes de água doce por apresentarem hábito predominantemente noturno. Não dependem criticamente da visão, mas sim de outros sistemas sensoriais elaborados tais como barbilhões táteis e quimiosensíveis e/ou órgãos olfativos desenvolvidos. Devido a essas características os bagres são considerados pré-adaptados para viver no fundo de canais profundos de rios, cavernas, aquíferos e afins (CUNHA 2008).

1.6 O gênero *Rhamdia*

O gênero *Rhamdia*, popularmente conhecido como jundiá, pertence à família Heptapteridae, uma das maiores radiações de bagres neotropicais de água doce. Estes peixes de médio porte e hábitos oportunistas e noturnos são encontrados em pequenos rios e córregos. No passado, *Rhamdia* foi considerado um dos gêneros mais especiosos dentro de Siluriformes, contando com cerca de 100 espécies descritas. Entretanto, após uma revisão taxonômica recente o número de espécies desse gênero foi reduzido a 12. (GARCIA *et al.*, 2009)

As espécies, *Rhamdia zongolicensis* e *R. reddelli* são Siluriformes que habitam cavernas. Estas espécies apresentam olhos funcionalmente inativos, ausência de pigmentação e comportamento fototático negativo (WILKENS, 2001). Para sobreviver sob condições de escassez de alimento típicas das cavernas, estas espécies utilizam longos barbilhões que permitem o aprimoramento dos sentidos de paladar e tato (WILKENS, 2001).

Outros peixes no gênero *Rhamdia*, que, no entanto, habitam águas superficiais, são também bem adaptados às condições de baixa luminosidade,

como *Rhamdia laticauda* (WILKENS, 2001) e *Rhamdia quelen* (BEHR *et al.*, 1999; PIAIA *et al.*, 1999) (Fig. 16)



Figura 16. Imagem do jundiá (*Rhamdia quelen*) adulto. (Fonte: MELLO e AMBROSANO, 2011).

Em bagres adultos, que possuem muitos botões gustativos sobre os barbilhões e a superfície corpórea, a destruição do epitélio olfativo não impede esses animais de procurar pela origem do estímulo químico, evidenciando que, entre os sentidos químicos, o paladar desempenha papel essencial na orientação e localização do alimento (revisado por IWAI, 1980).

O jundiá (*Rhamdia quelen*, Heptapteridae, Siluriformes) é um bagre nativo das Américas Central e do Sul que vive em lagos e poços fundos de rios, preferindo os ambientes de águas calmas com fundo de areia e lama, junto às margens e vegetação (SILFVERGRIP, 1996). Escondem-se entre pedras e troncos apodrecidos, de onde saem à noite, à procura de alimento (GUEDES, 1980, GOMES *et al.*, 2000; ZANIBONI-FILHO e SHULZ, 2003; SCHULZ e LEUCHTENBERGER, 2006). Experimentos com larvas e alevinos dessa espécie em cativeiro demonstraram acentuada aversão à luz e busca de locais escuros (PIAIA *et al.*, 1999). Além disso, apresentam melhor crescimento em baixa luminosidade (BEHR *et al.*, 1999).

Morfologicamente, o jundiá adulto caracteriza-se por possuir boca com dentes diminutos e corpo sem escamas, possuindo três pares de barbilhões de forma cilíndrica, um par mentoniano, um maxilar e um mandibular, com comprimento variando proporcionalmente ao tamanho do espécime. Os barbilhões têm crescimento alométrico negativo e esta relação é provavelmente

aumentada devido à grande possibilidade de dano dos barbilhões em exemplares grandes (GUEDES, 1980).

São considerados euritêrmicos e estenoalinos (MARCHIORO, 1997) e têm despertado grande interesse dos piscicultores da região sul do Brasil, pela sua resistência ao manejo, facilidade de reprodução e larvicultura, crescimento acelerado, inclusive nos meses mais frios, boa eficiência alimentar e carne saborosa, sem espinhas intramusculares (CARNEIRO, 2002; FRACALLOSSI, 2002; 2004). Muitos aspectos da fisiologia reprodutiva, larvicultura, hematologia, fisiologia da resposta ao estresse têm sido recentemente estudados nesta espécie (GHIRALDELLI *et al.*, 2007), de modo que podemos considerar que o jundiá tem se tornado um modelo de estudo dentro das espécies brasileiras.

Entretanto, a maioria dos estudos a respeito dessa espécie é referente à fisiologia e à melhoria das características zootécnicas da espécie, havendo poucas informações a respeito de seu desenvolvimento e de seu sistema sensorial.

PEREIRA *et al.* (2006) relataram que os ovos de *R. quelen* são esféricos, demersais e não-adesivos, com espaço perivitelino definido e córion resistente. A 24°C, as larvas eclodem 26h após a fecundação (hpf) com poucas estruturas sensoriais visivelmente formadas (RODRIGUES-GALDINO *et al.*, 2009).

A descrição da formação dos sistemas sensoriais do jundiá desde o período embrionário até o período juvenil permite conhecer em que fases o peixe começa a ser capaz de interagir com o ambiente, possibilitando, por exemplo, a captura de alimento e determinados comportamento sociais. Tal conhecimento pode trazer subsídios para adequar o manejo alimentar de jundiás cultivados, bem como entender o comportamento alimentar e social de indivíduos em seu habitat natural.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

O presente estudo visou descrever o desenvolvimento do sistema sensorial do jundiá (*Rhamdia quelen*) sob aspecto morfológico desde o período embrionário até o final do período pós-larval.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar temporal e morfológicamente a formação das estruturas sensoriais durante o desenvolvimento embrionário, larval e pós-larval de *R. quelen*.
- Descrever a morfologia externa das estruturas sensoriais através da observação de indivíduos vivos sob microscópio de luz e através de microscopia eletrônica de varredura.
- Descrever a organização estrutural e a ultraestrutural dos órgãos sensoriais através de microscopia de luz (histologia) e microscopia eletrônica de transmissão.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção e incubação dos ovos

Os ovos foram obtidos no Laboratório de Pesquisas em Piscicultura da PUCPR (LAPEP) - Patronato Santo Antônio (São José dos Pinhais – PR). Exemplares machos e fêmeas adultos de *Rhamdia quelen* (jundiá) foram selecionados, pesados e mantidos em taques internos, separados por sexo. No dia anterior à desova, as fêmeas receberam injeção intramuscular (0,5 mg/kg) de macerado hipófise de carpa diluído em soro fisiológico. Após aproximadamente 12h, as fêmeas receberam uma segunda dose (5 mg/kg) e os machos receberam uma dose única (0,5-1,0 mg/kg). Após 12h, machos e fêmeas foram massageados ventralmente para liberação dos gametas, que foram recolhidos, avaliados e colocados em recipientes separados para posterior hidratação e fertilização. Alguns minutos após o início da hidratação dos ovos, a água contendo os zigotos foi cuidadosamente trocada várias vezes para retirada do excesso de sêmen. Para estas lavagens, foi utilizada água das incubadoras, que estava nas mesmas condições abióticas que a água do tanque das matrizes.

Em seguida, os zigotos foram transportados para Curitiba e incubados no Laboratório de Biologia Adaptativa (UFPR – Departamento de Biologia Celular) em aquários de vidro ou caixas plásticas com capacidade para 15 litros de água (Fig. 17 A-D). Foi utilizada água filtrada e desclorinizada, através de um produto específico para essa finalidade e com a temperatura mantida a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ com aeração contínua, em sistema fechado. Após o esgotamento das reservas vitelínicas, as larvas foram alimentadas com náuplios de *Artemia*.

Outro lote de zigotos foi mantido no LAPEP e incubados em incubadoras tipo Zoug de 40L (Fig. 17 E) em sistema semi-aberto com circulação contínua de água a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$. A alimentação dessas larvas foi feita com plâncton coletado nos tanques externos do LAPEP. As pós-larvas foram

transferidas para tanques escavados externos, sendo alimentadas com ração comercial para alevinos e plâncton do local.

Uma vez que não houve diferença no desenvolvimento morfológico dos organismos incubados nos dois locais, o material foi agrupado para a descrição dos resultados.

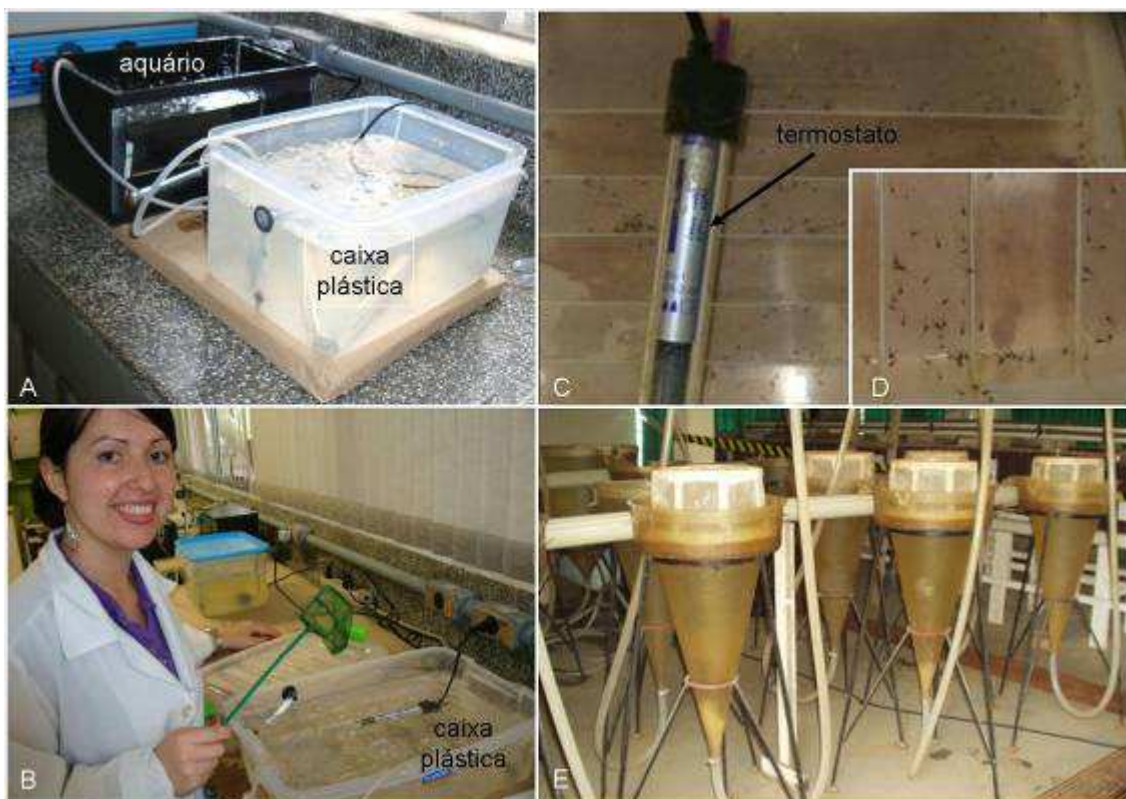


Figura. 17 Aquário (A) e caixas plásticas (A-B) onde foram incubados os embriões, larvas e pós-larvas de *Rhamdia quelen*. C. Interior de uma caixa plástica mostrando grande número de larvas incubadas (pontinhos) e um termostato usado para controlar a temperatura da água. D. Ampliação da imagem em C, mostrando larvas de *Rhamdia quelen*. E. Incubadoras tipo Zoug de 40L.

3.2 Terminologia e Estadiamento

Neste estudo, o termo “embrião” refere-se aos estádios de desenvolvimento dentro do córion, desde a fecundação até o instante anterior à eclosão. O termo “larva” refere-se aos estágios de desenvolvimento após a eclosão até o esgotamento das reservas vitelínicas (cerca de 96 horas após a fecundação). O termo “pós-larva” refere-se aos organismos cujas reservas vitelínicas se esgotaram até a completa metamorfose, assumindo aspecto de

adulto, porém com tamanho reduzido e imaturo sexualmente (juvenil, cerca de 30 dias após a eclosão). Os indivíduos foram estadiados conforme Rodrigues-Galdino *et al.* (2009).

3.3 Amostragem

Para cada técnica descrita abaixo, foram fixados, em média 6 indivíduos de cada estágio, conforme listado na Tabela 01.

Tabela 1. Estádios do desenvolvimento em que os indivíduos de *Rhamdia quelen* foram amostrados

Estádio do Desenvolvimento*	Identificação do Estádio do Desenvolvimento
1	Zigoto
16 a 21	Segmentação
23	Faríngula média
25	Eclosão
26 - -	Larva 12 hpe
26 -	Larva 24 hpe
26	Larva 36 hpe
26 +	Larva 48 hpe
27 -	Larva 60 hpe
27 +	Larva 72 hpe
28 -	Larva 84 hpe
28 +	Larva 96 hpe
29	Pós-larva 7 dpe
29+	Pós-larva 14 dpe
30	Pós-larva 21 dpe
30+	Juvenil 30 dpe

* *Estadiamento segundo RODRIGUES-GALDINO et al. (2009). hpe = horas após a eclosão e dpe = dias após a eclosão.*

Foram realizadas cinco coletas de embriões, larvas e pós-larvas, sendo a primeira em dezembro de 2005, a segunda em dezembro de 2006, a

terceira em março de 2009, a quarta em dezembro de 2009 e a quinta em março de 2010. Foram feitas observações diretas e fotomicrografias de organismos vivos e, parte deles foi fixada e processada conforme descrito abaixo.

3.4 Microscopia de Luz

Para a observação direta, durante o período de incubação, amostras de organismos vivos foram periodicamente transferidas para lâminas escavadas contendo uma pequena quantidade de água da incubadora e observados sob um microscópio de luz convencional (Quimis®). A documentação foi feita acoplado-se uma câmera fotográfica digital (Sony-Cyber Shot® 13,2 MP) a esse microscópio.

Parte das amostras foram fixadas em ALFAC por 24h em temperatura ambiente e outra parte em Paraformaldeído 4% em tampão PBS 0,1M (PFA 4%) (n = 88) durante 3 h, a 4°C. Em seguida, as amostras fixadas em ALFAC foram transferidas para álcool 70% e aquelas fixadas em PFA 4% foram lavadas três vezes em tampão PBS 0,1M.

As amostras fixadas em ALFAC e parte das amostras fixadas em PFA 4% foram submetidas ao protocolo de desidratação em série alcoólica crescente, diafanizadas em xilol, impregnadas e emblocadas em Paraplast Plus®, conforme procedimentos de rotina do Laboratório de Biologia Adaptativa. Os cortes (7 µm), obtidos em micrótomo, foram afixados a lâminas com albumina de Meyer a 7% e distendidos sobre uma placa aquecedora.

As demais amostras fixadas em PFA 4% foram desidratadas em série alcoólica crescente e emblocadas em historesina Leica®, conforme procedimentos de rotina do Laboratório de Biologia Adaptativa. Os cortes (4-5 µm), obtidos em micrótomo, foram afixados a lâminas contendo gotas de água e distendidos sobre uma placa aquecedora.

Os cortes obtidos foram corados com Hematoxilina-Eosina e Azul de Toluidina (modificado a partir de Clark, 1981) e as lâminas montadas com Polymount®. As lâminas foram analisadas sob microscópio de luz e os

melhores cortes foram fotomicrografados com o auxílio de uma câmera digital Sony-Cyber Shot ®13,2 MP acoplada a um microscópio Olympus PM 10AD.

3.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Amostras fixadas em Karnovsky (paraformaldeído 2%, glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,1M pH 7.2 a 4°C) foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2% (tampão cacodilato 0,1M pH 7.2) lavadas de água destilada (4X) e contrastadas em blocos com acetato de uranila 2% e desidratadas em uma série crescente de concentrações de álcool e a desidratação foi finalizada com álcool 100% + acetona pura na concentração 1:1. Após emblocagem em Epon-812 (Luft, 1961). Os cortes ultrafinos foram contrastados em solução aquosa de acetato de uranila 2% (Watson, 1958) e nitrato/acetato de chumbo (Reynolds, 1963). A observação do material foi realizada em microscópio eletrônico de transmissão JEOL 1200EX II do Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a microscopia eletrônica de varredura, após fixação em Karnovsky (paraformaldeído 2%, glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,1M pH 7,2 a 4°C), o córion dos embriões foi retirado manualmente com o auxílio de agulhas de acupuntura. Em seguida, o material foi lavado em tampão Cacodilato (3 banhos de 10 minutos) foi desidratado em série alcoólica, sendo o ponto crítico obtido em um Balzers CPD – 010 com gás carbônico. Em seguida ocorreu a metalização em ouro obtida em um Balzers SCD – 030. As análises e a documentação do material foram feitas no microscópio eletrônico de varredura JEOL-JSM 6360 LV do Centro de Microscopia Eletrônica – Universidade Federal do Paraná.

4 RESULTADOS

Inicialmente, serão descritos os sistemas e estruturas sensoriais e, posteriormente, será descrita a formação dessas estruturas em uma seqüência temporal.

4.1 Descrição dos Sistemas e das Estruturas Sensoriais

4.1.1 Sistema Visual

As vesículas ópticas aparecem como duas protuberâncias bem visíveis externamente em cada lado da cabeça. As lentes dos olhos (cristalinos) se diferenciaram a partir de células da epiderme adjacente à vesícula óptica e são visíveis nos cortes histológicos como estruturas circulares, que se tornam gradualmente pobres em células e ricas em matriz extracelular à medida que o indivíduo se desenvolve (Fig.18-I) A diferenciação das lentes (Fig.18-J) acompanha a estratificação da retina. As camadas da retina são: epitélio pigmentar da retina, camada fotorreceptora (cones e bastonetes), camada nuclear externa, camada nuclear interna, camada plexiforme interna, camada de células ganglionares. Mesmo antes da completa estratificação da retina, a pigmentação se torna visível externamente nas larvas vivas (Fig.18-D). O epitélio pigmentar é constituído por células cúbicas com núcleo em posição basal e ricas em pigmento (grânulos de melanina). A região basal destas células se prende fortemente à membrana de Brush e apresenta invaginações da membrana plasmática (Fig. 18-K). A parte da retina situada na região posterior do globo ocular apresenta, de fora para dentro as seguintes camadas:

- (i) Camada das células fotorreceptoras – os cones e os bastonetes (Fig. 18-K)
- (ii) Camada da plexiforme externa – região onde ocorre sinapse entre as células fotorreceptoras e os neurônios bipolares da camada ganglionar.
- (iii) Camada da plexiforme interna – região de contato entre células bipolares e ganglionares.

- (iv) Camada nuclear externa e interna – onde se encontram os neurônios bipolares que unem funcionalmente as células dos cones e dos bastonetes às células ganglionares (Fig. 18-K)
- (v) Camada das células ganglionares – que estabelece contato na sua extremidade externa com os neurônios bipolares e continua na porção interna com as fibras nervosas que convergem, formando o nervo óptico (Fig. 18-K)

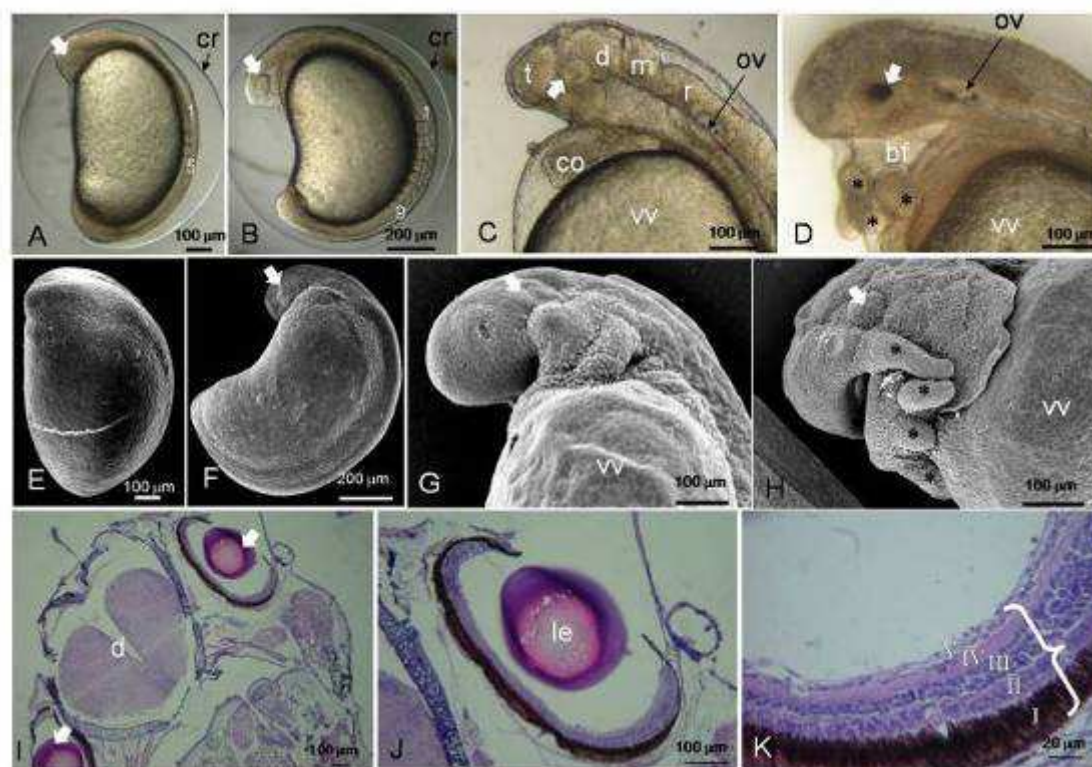


Figura 18. Desenvolvimento do sistema visual de *Rhamdia quelen*. A-D. Indivíduos vivos sob microscópio de luz. E-H. Eletromicrografias de varredura. I-K. Cortes histológicos de pós-larva com 21 hpf (E30) em plano longitudinal, coloração H&E. D-G. A e E. Embriões no início do período de segmentação (E16+), B e F. Embriões em fase intermediária de segmentação (E18-), C e G. Larvas recém eclodidas (E25), D e H. Larvas iniciais (E26). I-K. Pós-larva com 21 hpf (E30). Símbolos: bf: cavidade bucofaríngea, co: coração, cr: córion, d: diencéfalo, le: lente (cristalino), m: mesencéfalo, ov: ouvido interno, r: rombencéfalo, t: telencéfalo, vv: vesícula vitelina, asteriscos: barbilhões, setas: vesícula óptica (A, B, F) / olho (C, D, G, H, I). Os números arábicos em A e B indicam o primeiro e o último somito. Os números romanos em K indicam as camadas da retina: I: Camada fotorreceptora (coberta pela membrana do epitélio pigmentar); II: Camada nuclear externa (núcleos de cones e bastonetes); III: Camada plexiforme externa – sinapses entre fotorreceptores com células horizontais e bipolares; IV: Camada nuclear Interna (Nucléolos de células horizontais, células bipolares e células anácrinas; V: Camada plexiforme Interna (Sinapses entre células bipolares e anácrinas com células ganglionares; VI: Camada de células Ganglionares.

4.1.2 Sistema Olfatório

Os primórdios das narinas (placódios nasais) se apresentam como dois pequenos domínios com aspecto ciliado, que se localizam anteriormente aos primórdios oculares (Fig.19 e 20). Gradualmente, as narinas se aprofundam, formando duas cavidades tubulares e pregueadas na região rostro-lateral, que formam as rosetas olfatórias. Essas cavidades são revestidas pelo epitélio olfatório pseudoestratificado, cuja ultra-estrutura indica a presença de quatro tipos celulares (Fig. 21- D,E,F eG):

- (i) células receptoras com numerosos microvilos, citoplasma claro e nucléolo evidente;
- (ii) células de sustentação, que contém numerosos grânulos de secreção, que lhe conferem um aspecto eletrodenso;
- (iii) células basais, adjacentes à lâmina basal, com núcleo eletrondenso e formato alongado; e
- (iv) crypt cells, apresentando o seu característico aspecto piriforme, localizadas próximas a superfície epitelial. Não foram observados os cílios e microvilos das crypt cells, conforme descrito na literatura.

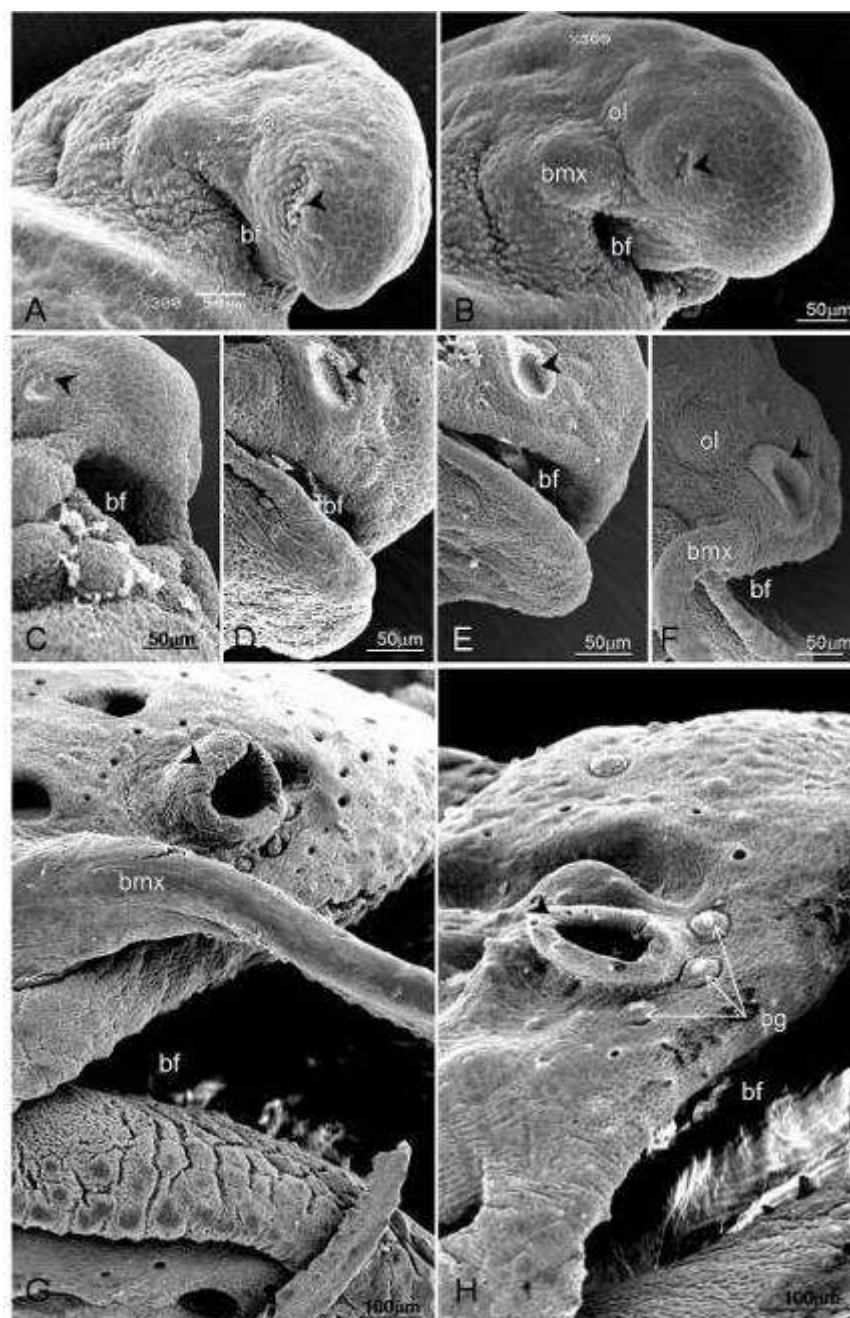


Figura 19 Desenvolvimento do sistema olfatório de *Rhamdia quelen*, sob microscopia eletrônica de varredura. A. Embrião no estágio de faringula inicial (E22). B. Larva recém eclodida (E25). C. Larva com 42 hpf (E26+). D. Larva com 66 hpf (E27). E. Larva com 72 hpf (E27+). F. Larva com 90 hpf (E28). G. Pós-larva com 13 dpf (E29+). H. Pós-larva com 21 hpf (E30). Símbolos: af: arcos faríngeos, bf: cavidade bucofaríngea, bg: botões gustativos, bmx: barbilhão maxilar, ol: olho, cabeças de seta: placódio nasal (primórdio da narina) (A a E) ou narina (F e G)..

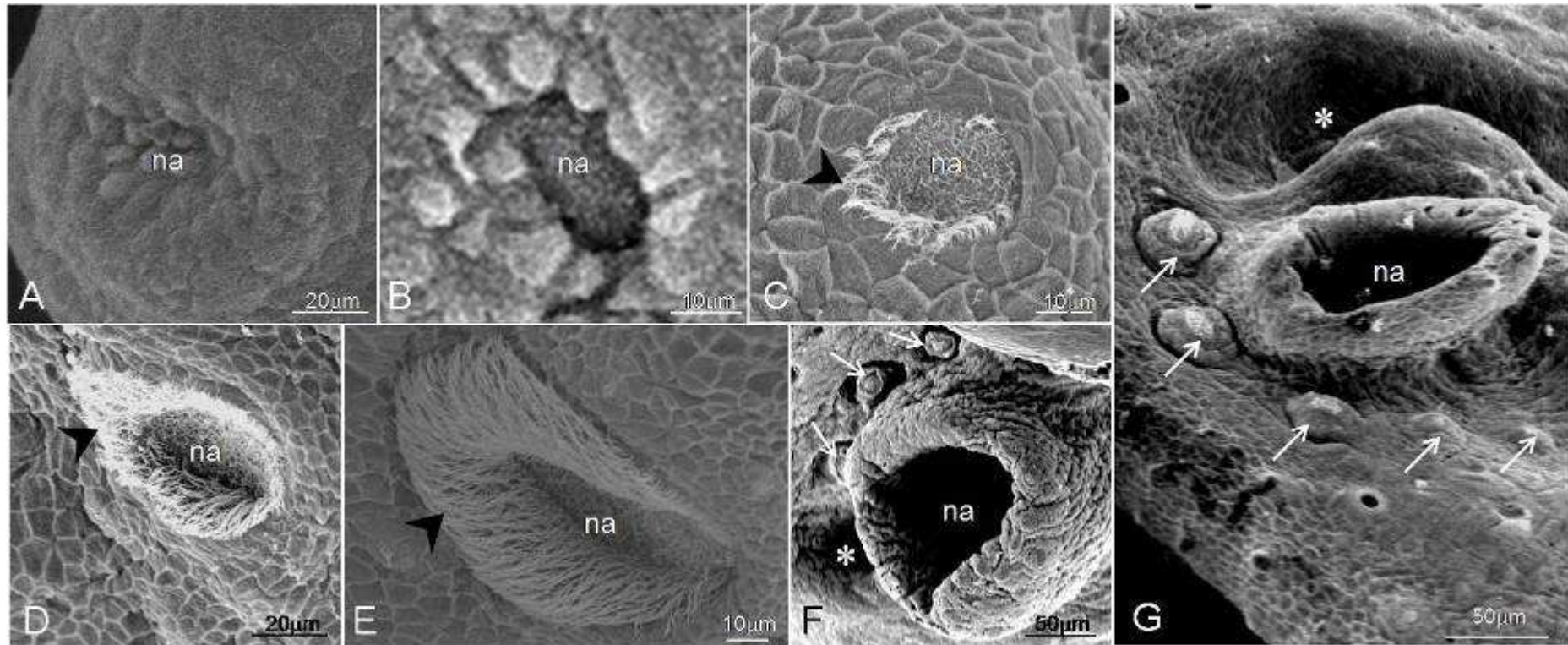


Figura 20 Desenvolvimento do sistema olfatório de *Rhamdia quelen*, sob microscopia eletrônica de varredura: detalhes das imagens da figura anterior (figura 19), destacando o placódio nasal (primórdio da narina) (A a E) ou narina (F e G). A. Embrião no estágio de faringula inicial (E22). B. Larva recém eclodida (E25). C. Larva com 42 hpf (E26+). D. Larva com 66 hpf (E27). E. Larva com 72 hpf (E27+). F. Larva com 90 hpf (E28). G. Pós-larva com 13 dpf (E29+). H. Pós-larva com 21 hpf (E30). Símbolos: na: placódio nasal (A a E) ou narina (F e G), cabeças de seta: cílios das *hair cells* do epitélio olfatório, setas: botões gustativos, asterisco: poro (em F) ou canal (em G) do sistema de linha lateral.

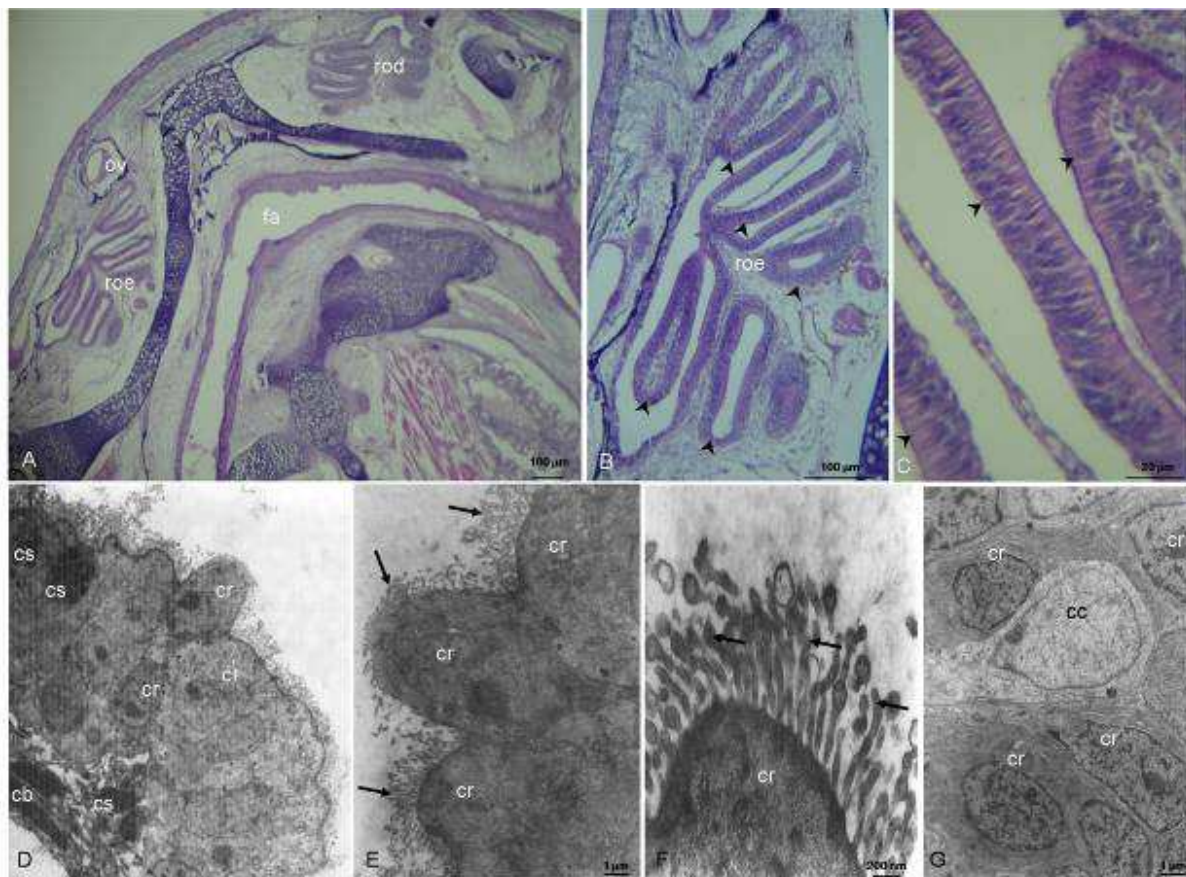
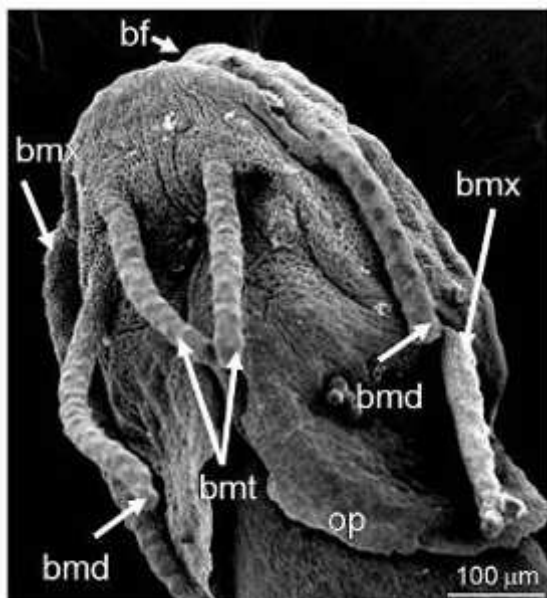


Figura 21 Estrutura e ultraestrutura dos órgãos olfatórios de *Rhamdia quelen*. A-C. Cortes histológicos de pós-larva com 21 hpf (E30) em plano longitudinal, coloração H&E. D-G. Eletromicrografias de transmissão do epitélio olfatório de larva de 90 hpf (E28). Símbolos: cb: células basais, cc: crypt cell, cr: células receptoras, cs: células ricas em grânulos de secreção (cs), fa: faringe, ov: ouvido interno, rod: roseta olfatória direita, roe: roseta olfatória esquerda, cabeças de seta: lamelas revestidas pelo epitélio olfatório, setas: microvilosidades das células receptoras.

4.1.3 Sistema Gustativo

O jundiá desenvolve três pares de barbilhões, sendo um par de barbilhões mandibulares, um par de barbilhões maxilares e um par de barbilhões mentonianos (Fig 22, 23 e 24). Na larva tardia (90 hpf), os barbilhões maxilares têm cerca de 80%, os mandibulares cerca de 50% e os mentonianos cerca de 40% do comprimento da cabeça. Todos os barbilhões se



tornam cobertos por numerosos botões gustativos nas suas superfícies ventrais (Fig.24) ao longo do desenvolvimento larval.

Os botões gustativos surgem como pequenas saliências que se sobressaem primeiramente nos

Figura 22 Barbilhões de Larva média (E27) de *Rhamdia quelen* em vista ventral sob microscopia eletrônica de varredura. Símbolos: bf, cavidade bucofaringea, bmd: barbilhão mandibular, bmt: barbilhão mentoniano, bmx: barbilhão maxilar, op: opérculo

barbilhões das larvas iniciais (Fig. 24) e posteriormente na região dos lábios inferior e superior nas larvas tardias (Fig. 24 C) e, internamente, na cavidade bucofaringea das pós larvas (Fig. 24 G)

Nas pós larvas com 21 dpf, os botões gustativos são bem evidentes, como protuberâncias arredondadas e numerosas (Fig.24)

Apresentam-se imersos na epiderme, com suas bases localizadas na altura das camadas intermediárias desta e com sua região apical projetando-se para o meio externo (Fig 24). São constituídos por:

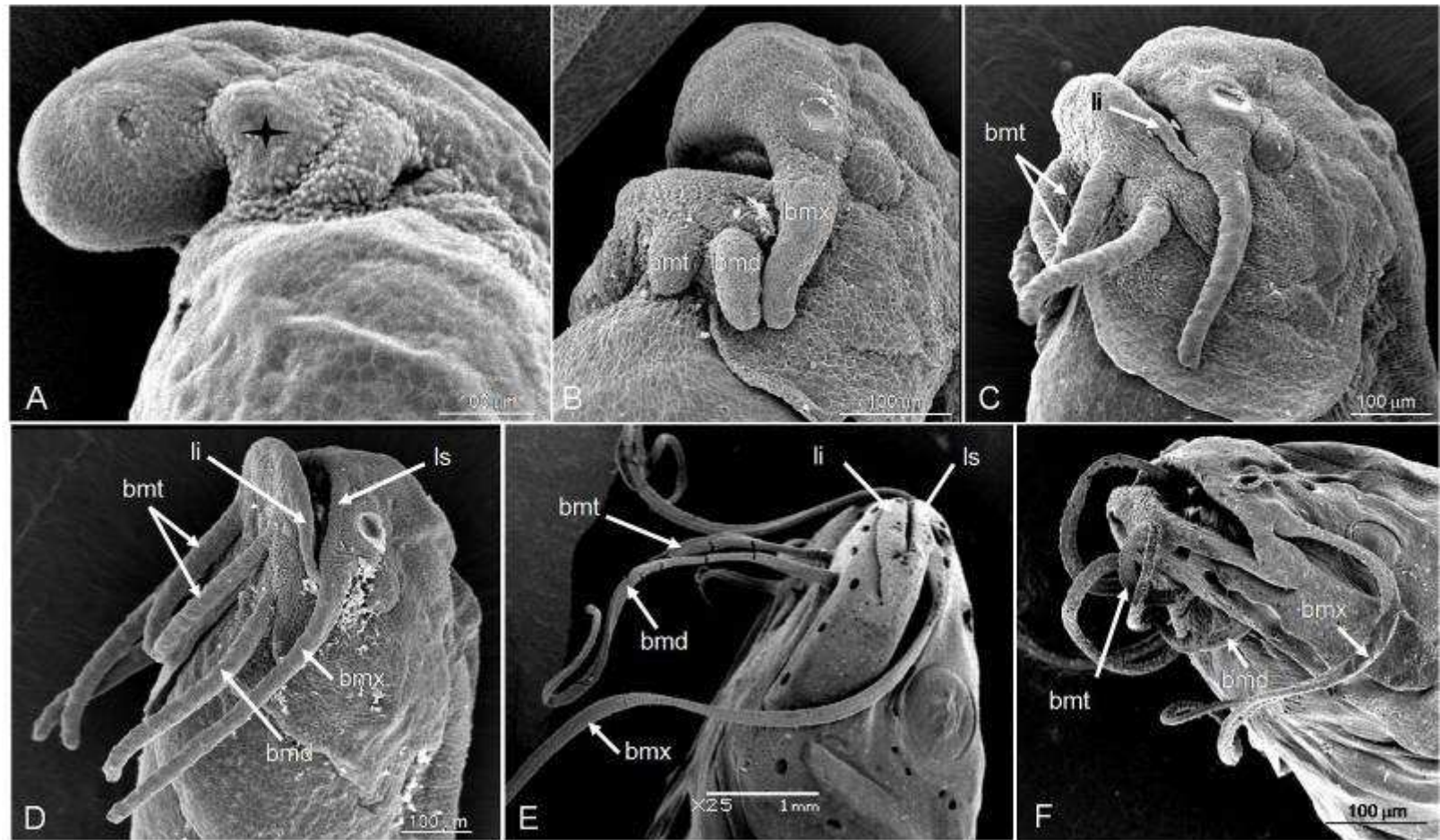


Figura 23 Desenvolvimento dos barbilhões de *Rhamdia quelen* sob microscopia eletrônica de varedura. A. Larva recém eclodida (E25). B. Larva inicial (E26). C. Larva média (E27). D. Larva tardia (E28). E. Pós-larva com 13 dias (29+). F. Pós-larva com 21 dias (30). Símbolos: bmd: barbilhão mandibular, bmt: barbilhão mentoniano, bmx: barbilhão maxilar, li: lábio inferior, ls: lábio superior, estrela: primeiro arco faríngeo.

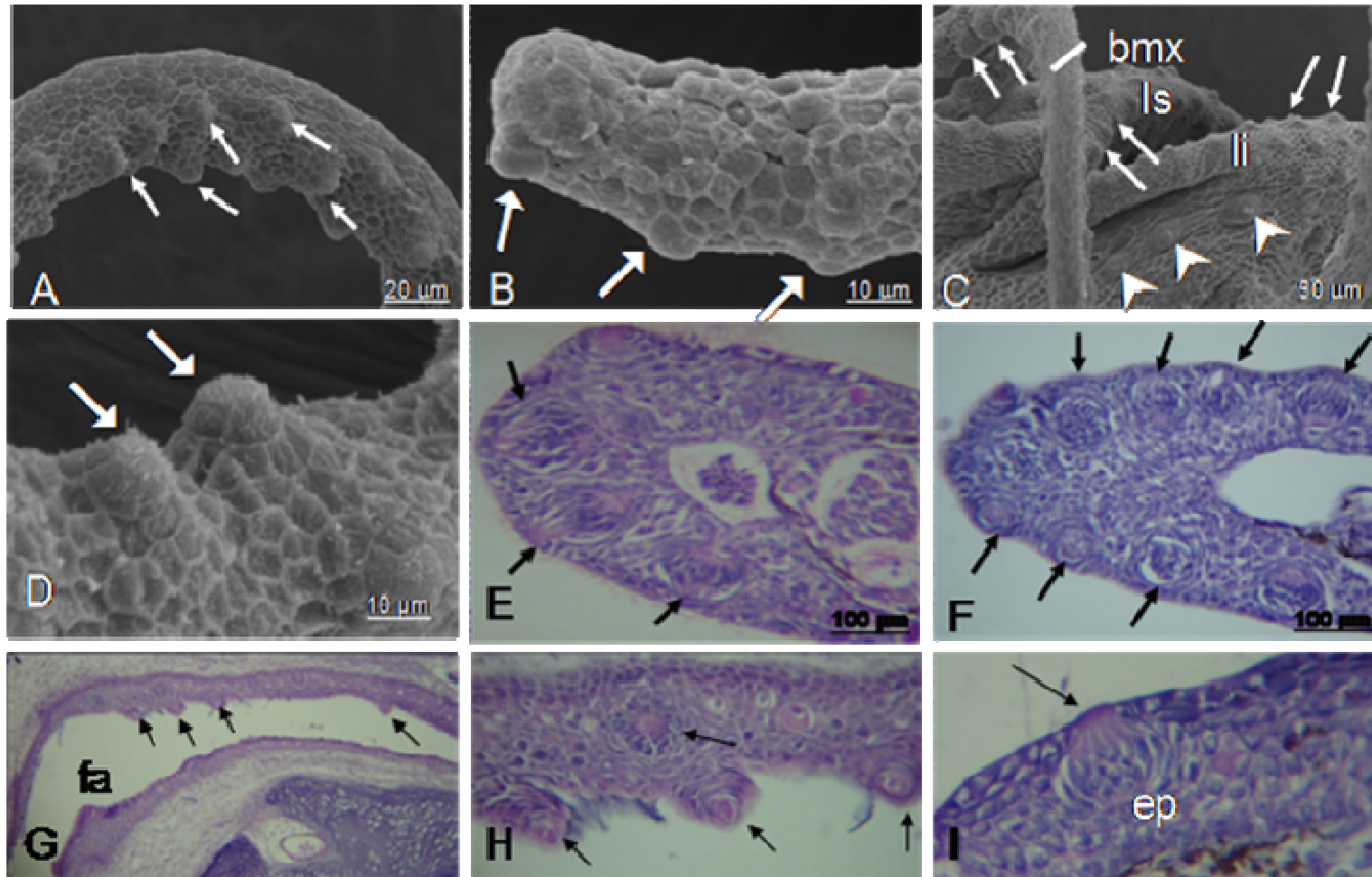


Figura 24 Botões gustativos em larvas e pós-larvas de *Rhamdia quelen*. A-B. Barbilhões com numerosos botões gustativos. C. Lábios com numerosos botões gustativos. D-F Barbilhões com numerosos botões gustativos G. Botões gustativos no epitélio de revestimento da faringe. E-F. Cortes histológicos de barbilhões apresentando botões gustativos. A-D. Eletromicrografias de varredura de larvas com 90 hpf (E28). G-I. Fotomicrografias de cortes histológicos de pós-larvas com 21 dpf (E30), coloração H&E . Símbolos: bmx: barbilhão maxilar, fa: faringe, li: lábio inferior, ls: lábio superior, ep. epitélio. setas: botões gustativos, cabeças de seta: neuromastos.

- (i) células basais, que se posicionam horizontalmente entre as células escuras e claras e da lâmina basal. Estas células formam sinapses, atuando como mecanorreceptores, podendo, ainda, ter funções parácrinas ou neuroendócrinas;
- (ii) células de sustentação que, como o próprio nome diz, são células responsáveis pela sustentação das demais; e
- (iii) células sensoriais, que são células alongadas e formam o epitélio sensorial do órgão: células escuras com muitos microvilos pequenos e células claras com um estereocílio na região apical.

4.1.4 Sistema Acústico-Lateral e Eletorrecepção

O sistema acústico-lateral é formado pelos ouvidos internos e pelo sistema de linha lateral. As vesículas óticas foram observadas por transparência nos embriões vivos durante o período de segmentação, como estruturas ovais na região do rombencéfalo (Fig. 29 e 30). Em seguida, as vesículas óticas se desenvolvem nos ouvidos internos, havendo a formação de estruturas saculares (sáculo, lagena e utrículo) com epitélio sensorial (Fig. 30) denominado mácula, bem como dos otólitos que são depositados nas suas cavidades. Com o dobramento cefálico, os ouvidos internos deslocam-se mais anteriormente, juntamente com o reposicionamento do rombencéfalo. (Fig. 30)

O sistema de linha lateral é formado por estruturas mecanorreceptoras denominadas neuromastos, que se distribuem na cabeça e no tronco. Os neuromastos surgem, externamente, como estruturas discretas circulares, tornando-se ligeiramente protuberantes e com longas projeções (cinecílios) na sua região central.

Inicialmente se distribuem na epiderme da região cefálica, onde são numerosos, e regularmente espaçados ao longo do tronco, formando uma linha. À medida que o indivíduo se desenvolve, os neuromastos vão se aprofundando na epiderme, passando a se localizar no interior de poros. Na região cefálica da pós-larva com 13 dpf (E29+) foram observados 38 poros visíveis em microscopia eletrônica de varredura, formando linhas e distribuídos da seguinte forma (Fig 25):

- (i) linha preoperculomandibular com nove poros de cada lado da cabeça (sobre a mandíbula),
- (ii) linha supraorbital com quatro poros de cada lado, dorsalmente às narinas e anteriormente aos olhos,
- (iii) linha infraorbital com quatro poros abaixo de cada olho, e
- (iv) linha temporal com dois poros posteriormente a cada olho.

Na pós-larva com 21 dpf, os poros cefálicos de cada linha se unem, formando sulcos (Fig. 26 F e 27).

No tronco da pós-larva, verificou-se a presença de uma linha formada por neuromastos regularmente espaçados, localizados no interior de um sulco que se estende desde a altura do primeiro raio da nadadeira primeira dorsal até a altura da abertura anal (Fig. 27). No entanto, observou-se que os neuromastos se estendem além deste sulco, em direção à extremidade caudal, indicando que, possivelmente, o sulco se estenderá posteriormente nos estádios seguintes do desenvolvimento.

Cada neuromasto apresenta-se como uma massa discóide sub-epidérmica envolvida por células achatadas, que convergem em uma cavidade apical (Fig. 28). Possui dois tipos de células (Fig.28 G):

- (i) *hair cells* e
- (ii) células de suporte.

As *hair cells* possuem núcleos e citoplasma um pouco mais eletrondensos e acidófilos que as células de suporte e também se diferenciam pela presença de um cinécílio e estereocílios (Fig.28). Essas projeções citoplasmáticas são embebidas em uma cúpula gelatinosa que, no entanto, não foi observada nas amostras preparadas para o presente estudo.

Os órgãos ampulares (eletorreceptores) surgem juntamente com os neuromastos, sendo inicialmente estruturas muito semelhantes a estes. No entanto, os órgãos ampulares distribuem-se de forma mais dispersa, não formando canais, nem tampouco se aprofundando no interior de poros, mas sim de pequenas depressões epidérmicas. Ao contrário dos neuromastos, que apresentam longas projeções citoplasmáticas (cinécílios e estereocílios), os órgãos ampulares apresentam numerosas projeções citoplasmáticas de pequeno comprimento (Fig. 25 C-D, 28 A-B).

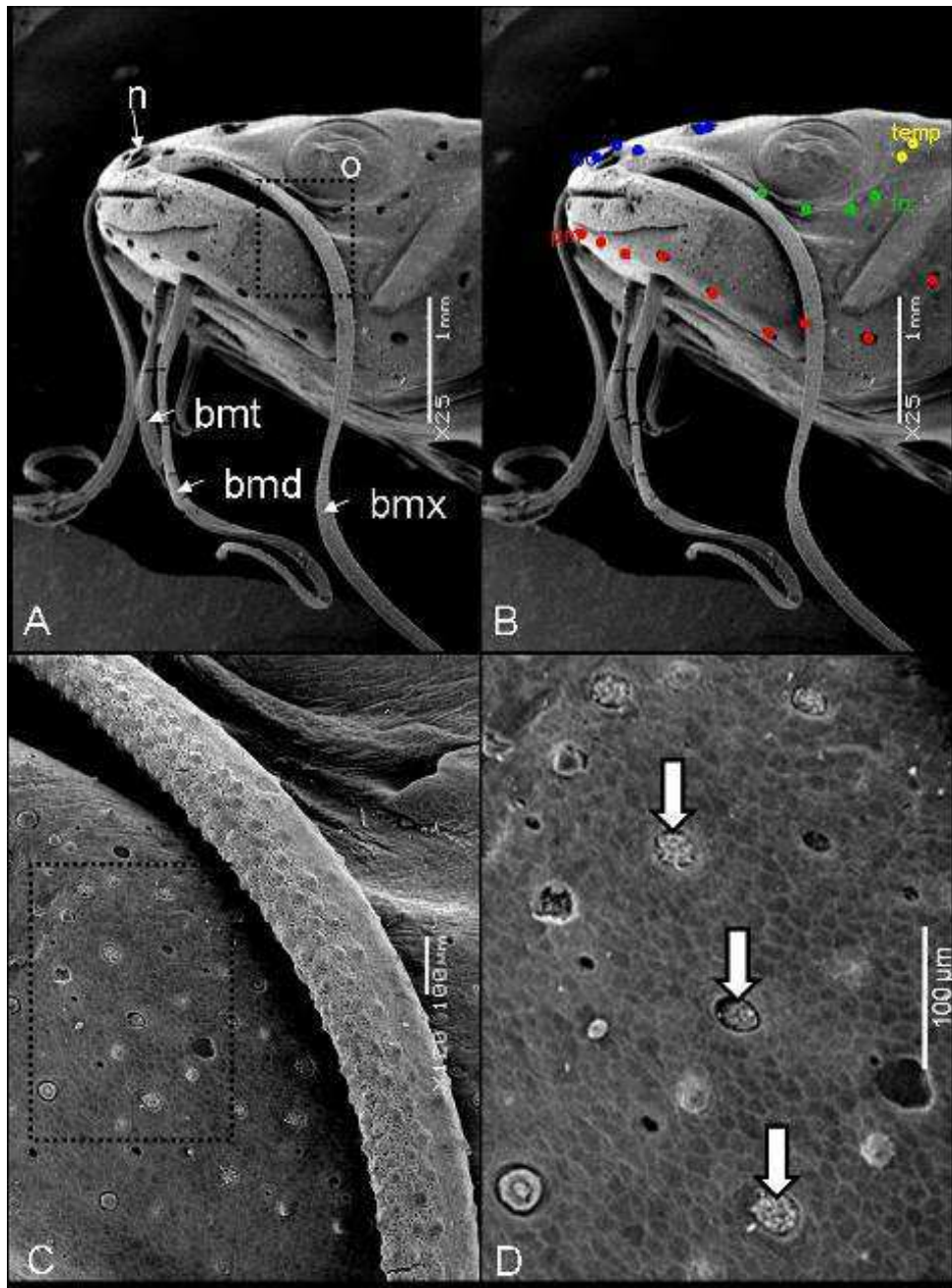


Figura 25 Sistema de linha lateral e órgãos ampulares da região cefálica de pós larva (E29+) de *Rhamdia quelen*, sob microscopia eletrônica de varredura. A e B. Superfície lateral esquerda da cabeça. Os círculos em B destacam a localização dos poros contendo neuromastos, formando as linhas preoperculomandibular (pm, vermelho), supraorbital (so, azul), infraorbital (io, verde) e temporal (temp, amarelo). C. A imagem em C é a ampliação da área tracejada em A. A imagem em D é a ampliação da área tracejada em C. Símbolos: bmd: barbilhão mandibular, bmt: barbilhão mentoniano, bmx: barbilhão maxilar, n: narina, o: olho, setas: órgãos ampulares

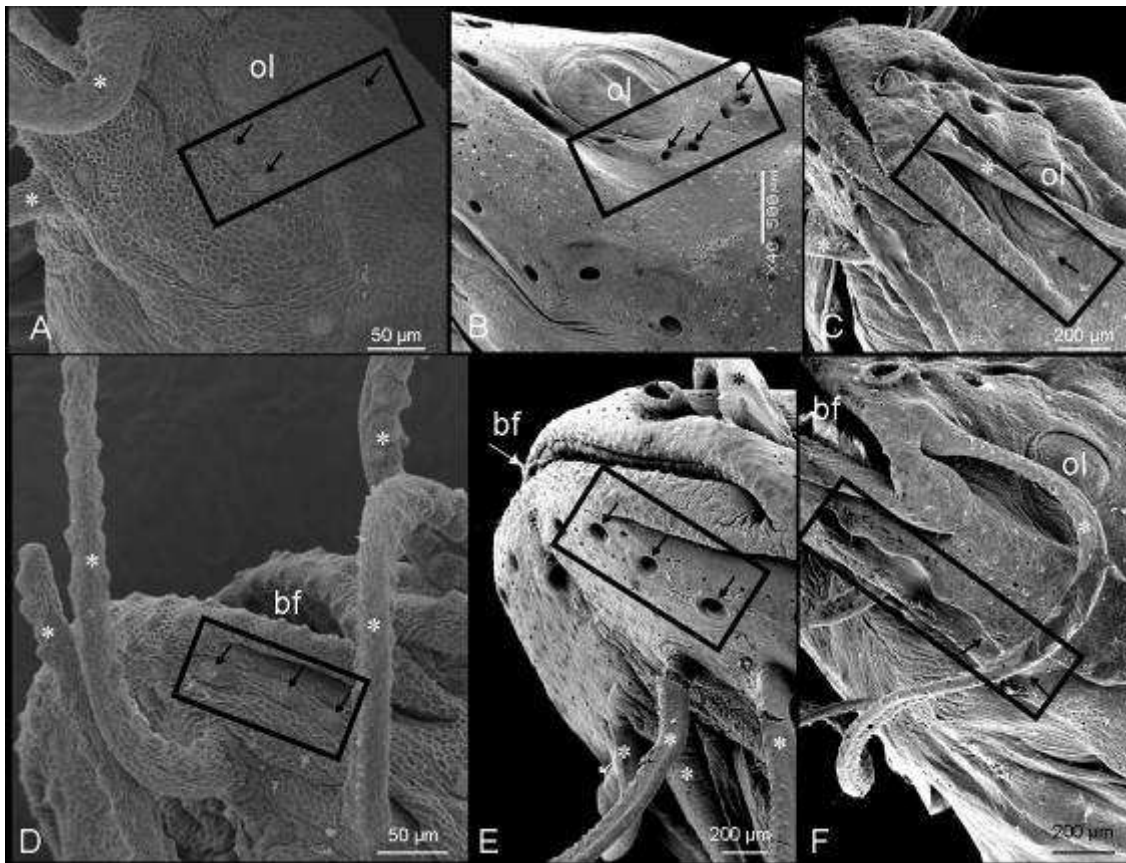


Figura 26 Desenvolvimento do sistema de linha lateral de *Rhamdia quelen*, sob microscopia eletrônica de varredura: neuromastos da região cefálica. A e D. Larva com 90 hpf (E28). B e E. Pós-larva com 13 dpf (E29+). C e F. Pós-larva com 21 dpf (E30). As setas indicam a localização de alguns neuromastos. Os retângulos nas figuras A-C, destacam alguns neuromastos da linha infraorbital, que são superficiais na larva tardia (A), passam a se localizar no interior de poros na pós-larva média (B) e em canais (pela fusão dos poros) na pós-larva tardia (C). Nas figuras D-F é feita uma comparação semelhante à anterior, destacando alguns neuromastos da linha preoperculo-mandibular. Símbolos: bf: cavidade bucofaringea, ol: olho, asteriscos: barbilhões setas: neuromastos (ou poros dentro dos quais os neuromastos se localizam)

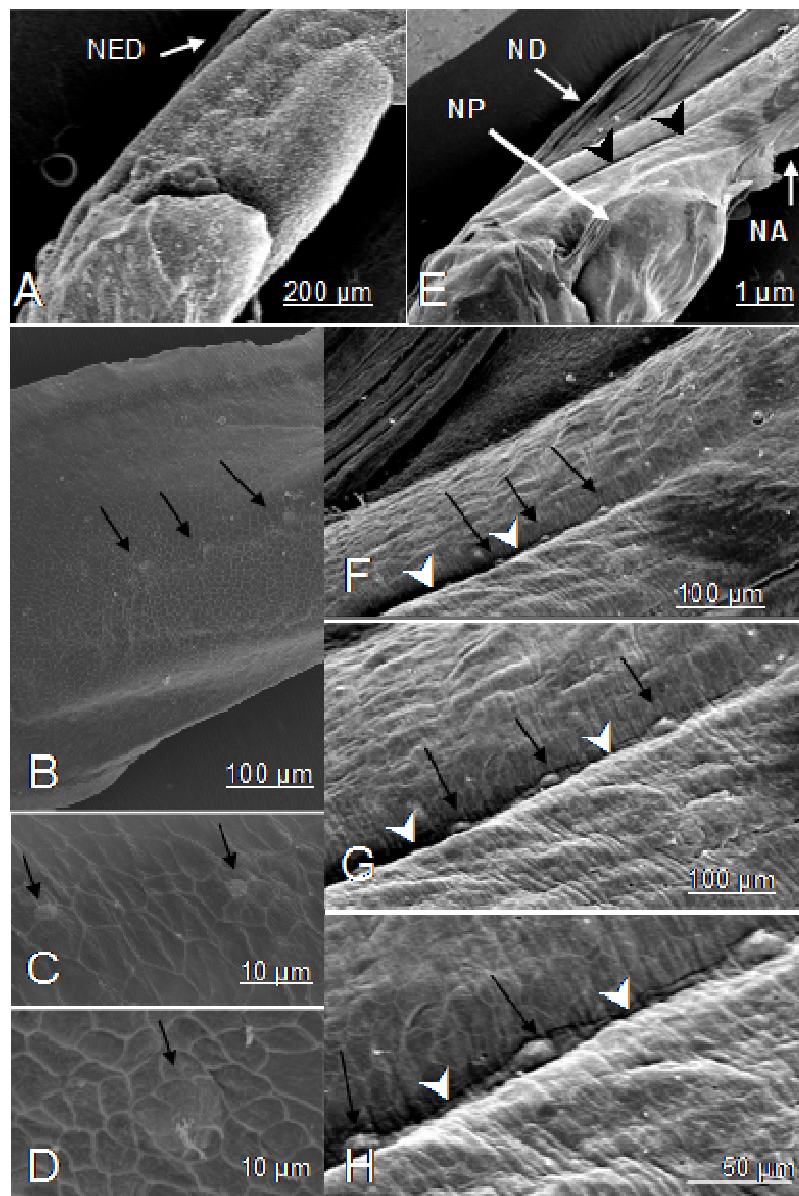


Figura 27 Desenvolvimento do sistema de linha lateral de *Rhamdia quelen*, sob microscopia eletrônica de varredura: neuromastos do tronco. A-D. Larva com 90 hpf (E28). F-H. Pós-larva com 21 dpf (E30). As setas indicam a localização de alguns neuromastos, que são superficiais na larva tardia (A), passam a se localizar no interior de um sulco na linha média do tronco da pós-larva. Símbolos: NED: nadadeira embrionária dorsal, ND: nadadeira dorsal, NA: nadadeira anal, NP: nadadeira peitoral, setas pretas: neuromastos, cabeças de seta branca: sulco dentro do qual os neuromastos se localizam.

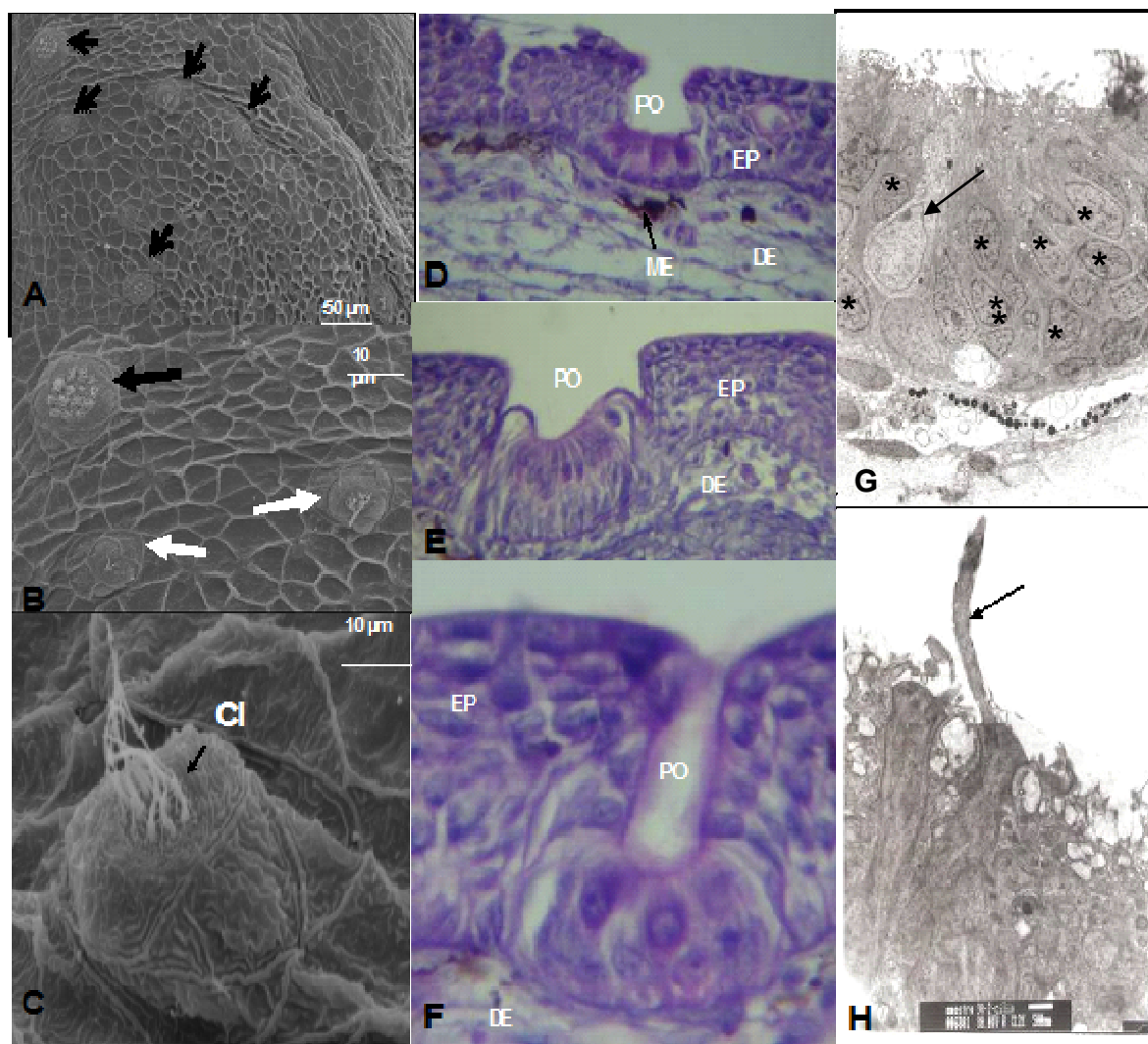


Figura 28 Estrutura e ultraestrutura dos neuromastos do sistema de linha lateral de *Rhamdia quelen*. A-C. Neuromastos órgãos ampulares da região cefálica de larva com 90 hpf (E28) sob microscopia eletrônica de varredura. C-F. Cortes histológicas de neuromastos de pós-larvas localizados no interior de poros (coloração H&E). G-H. Ultraestrutura de neuromastos. Símbolos: ci: cincílio(s), de: derme, ep: epiderme, me: grânulos de melanina, po: poro, setas brancas: neuromastos, setas pretas: órgãos ampulares, asteriscos: hair cells; seta: célula de suporte, seta: cincílio.

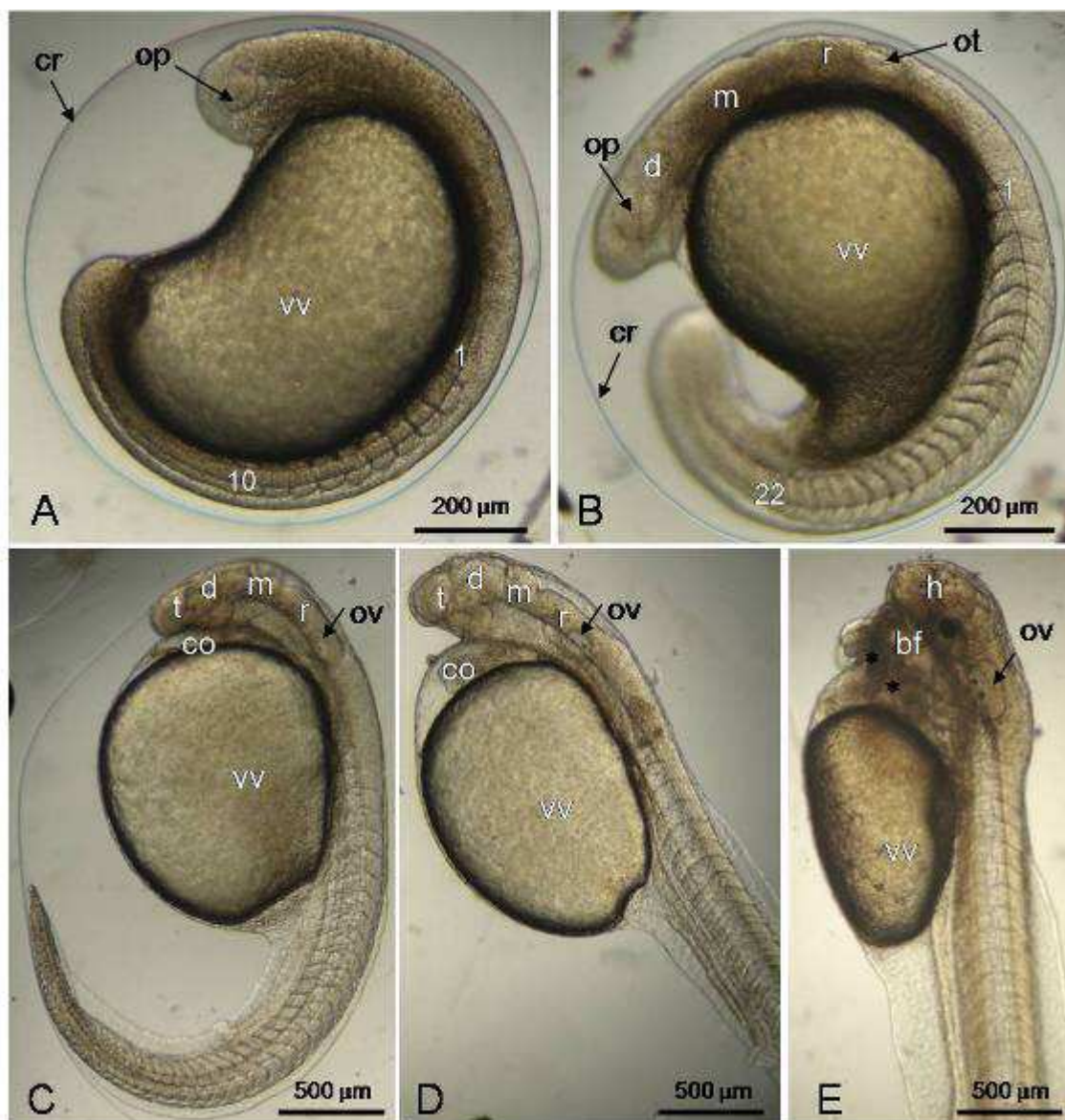


Figura 29 Desenvolvimento do ouvido interno de *Rhamdia quelen*. Indivíduos vivos sob microscopia de luz. A e E. Embrião em fase intermediária de segmentação (E18), B. Embriões no final do período de segmentação (E21-), C. Embrião no estágio de faríngula média (E23). D. Larva recém eclodida (E25). E. Larva inicial (E26). Símbolos: bf: cavidade bucofaríngea, co: coração, cr: córion, d: diencéfalo, h: hemisférios cerebrais, m: mesencéfalo, op: vesícula óptica, ot: vesícula ótica, ov: ouvido interno, r: rombencéfalo, t: telencéfalo, vv: vesícula vitelina, asteriscos: barbilhões. Os números arábicos em A indicam o primeiro e o último somito e, em B, o primeiro e o último miômero.

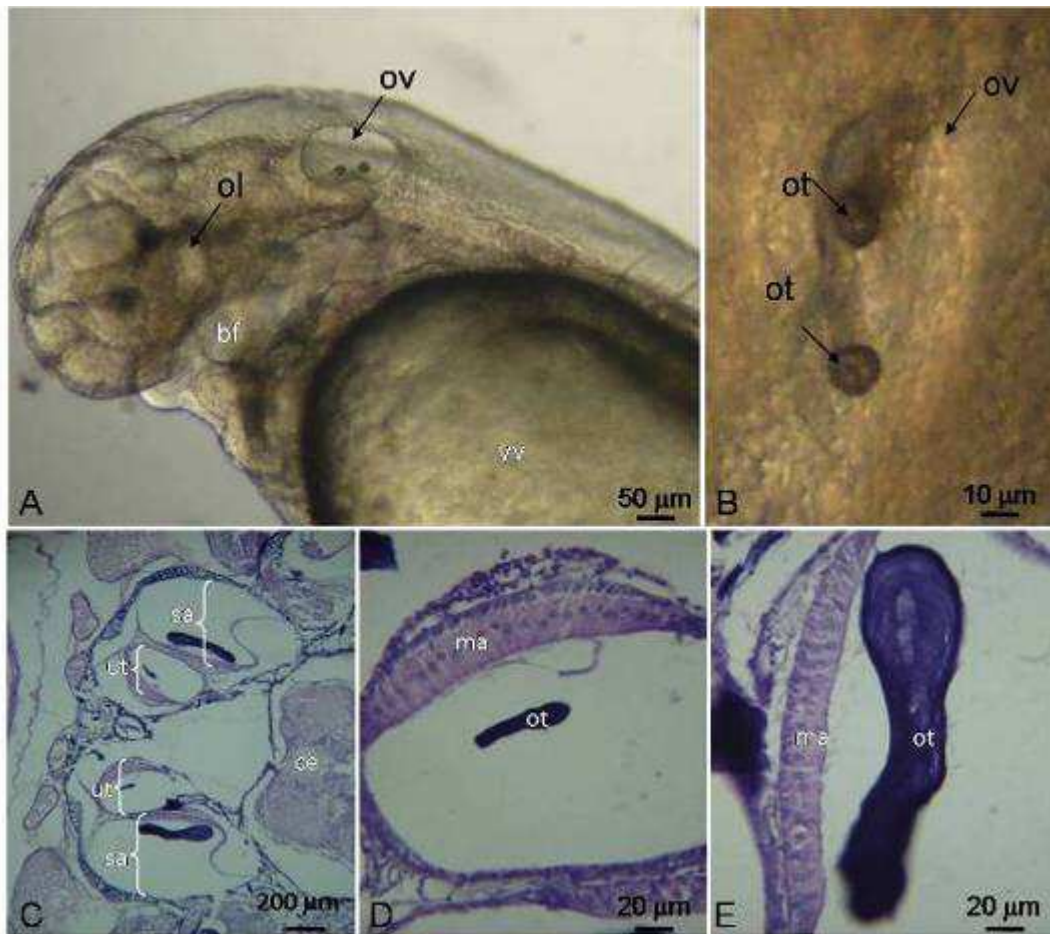


Figura 30 Ouvido interno de *Rhamdia quelen*. A e B. Larva recém eclodida (E25) viva sob microscopia de luz. C- E. Cortes histológicos de pós-larva com 21 hpf (E30) em plano longitudinal, coloração H&E. Símbolos: bf: cavidade bucofaringea, ma: mácula, ol: olho, ot: otólito, ov: ouvido interno, as: sacculus, ut: utrículum, vv: vesícula vitelina.

4.2 Desenvolvimento temporal do sistema sensorial do jundiá a 27°C

A tabela 2 sumariza a seqüência temporal dos eventos ontogenéticos relacionados à formação dos sistemas sensoriais. Os peixes foram estadiados de acordo com Rodrigues-Galdino *et al.* (2010), sendo os estádios de 1 a 30 referidos como E1 a E30.

Tabela 2. Tempo de desenvolvimento das principais estruturas sensoriais do jundiá (*Rhamdia quelen*) incubados a 27±1°C.

Período/Estádio	Tempo*	Sistema	Evento ontogenético
Embrionário			
E15	8 hpf	Nervoso	Formação do tubo neural
E16	9 hpf	Visual	Formação das vesículas ópticas (primórdio dos olhos)
E18	11 hpf	Acústico-lateral	Formação das placódios óticos (primórdios dos ouvidos internos)
E19	12 hpf	Visual	Diferenciação das lentes (cristalinos)
E23	18 hpf	Acústico-lateral	Formação dos otólitos e máculas dos ouvidos internos
E24	19 hpf	Olfatório	Formação dos placódios nasais (primórdios das narinas)
E25	24 hpf (eclosão)	Olfatório	Ligeiro aprofundamento dos placódios nasais
Larval			
E26	36 hpf	Gustativo Acústico-lateral Visual	Formação dos primórdios dos barbilhões Formação dos neuromastos (cabeça e tronco) Início da pigmentação do olho
E26+	42 hpf	Olfatório	Aparecimento de células com aspecto ciliado no epitélio olfatório
E27	66 hpf	Gustativo Gustativo	Formação de botões gustativos primordiais sobre os barbilhões Os barbilhões maxilares se tornam mais longos que os mentonianos
E27+	72 hpf	Gustativo	O lábio inferior se torna definido
E28	90 hpf	Gustativo Visual	O lábio superior se torna definido Alongamento dos barbilhões e formação de botões gustativos nos lábios e na superfície cefálica Estratificação da retina
Pós-larval			
E29	13 dpf	Acústico-lateral Olfatório	Formação de linhas de poros na região cefálica Narinas proeminentes e rosetas pregueadas
E30	21 dpf	Acústico-lateral	Poros cefálicos se unem, formando sulcos

* tempo aproximado, hpf = horas após a fecundação; dpf = dias após a fecundação

4.2.1 Período Embrionário

Quando incubados a 26±1°C, os primórdios de diversas estruturas sensoriais se formam durante o período embrionário, que dura aproximadamente 24h. Cerca de ~9 horas após a fecundação (hpf) (E16), surgem as vesículas ópticas (primórdios dos olhos) (Fig. 18 A). As lentes (cristalinos) se diferenciam em seguida (12 hpf) (E20). Os primórdios dos ouvidos internos, as placódios óticos, puderam ser visualizados 11 hpf (E18; Fig. 29-B e 30), havendo a formação das máculas e dos otólitos 18 hpf (E23; Fig. 30 C-E). Os placódios nasais começam a ser visualizados 19 hpf, sendo

que, ao eclodir (E25, ~24 hpf), a larva apresenta os placódios ligeiramente deprimidos com relação à superfície da epiderme (Fig. 29 C-E).

4.2.2 *Período Larval*

Durante o período larval (que se estende até aproximadamente 96 hpf), há um rápido desenvolvimento dos sistemas sensoriais. Nas larvas iniciais com 36 hpf (E26), três pares de barbilhões começam a brotar na região da mandíbula e maxila (Fig. 23B). Nesta mesma fase, os neuromastos e primórdios dos órgãos ampulares (eletorreceptores) começam a surgir na região cefálica e do tronco (Fig. 27-28). A pigmentação dos olhos é visível nessas larvas iniciais (Fig. 29E e 30A), embora a estratificação completa da retina seja evidente apenas na larva tardia (E28; Fig. 18 I-K).

A larva eclode com placódios nasais, que gradualmente vão se aprofundando para formar as narinas e assumindo um aspecto ciliado (a partir de 42 hpf, (E26+; Fig 19D-F e Fig. 20).

Durante a fase larval, os barbilhões se alongam (Fig. 23 A-F), passando a apresentar numerosos botões gustativos primordiais em 66 hpf (E27). O lábio inferior se define em 66 hpf, enquanto que o superior se torna evidente 72 hpf (E27+; Fig. 23 C-D e Fig. 24 C), sendo que ambos começam a apresentar botões gustativos 90 hpf (E28). Na larva tardia (E28) também foram observados botões gustativos dispersos na superfície da cabeça (Fig. 24C e 26D).

4.2.3 *Período Pós-larval*

Nas pós-larvas com 13 dias após a fecundação (dpf) (E29+), os barbilhões são bem desenvolvidos e com numerosos botões gustativos sobre eles, bem como nos lábios superior e inferior (Fig 24).

O sistema de linha lateral apresenta-se bem organizado 13 dpf (E29+), com os neuromastos alinhados no tronco (Fig. 27) e poros na região cefálica (Fig. 25). Com 21 dpf (E30), os poros se fundem formando sulcos (Fig. 26), dentro dos quais se encontram os neuromastos. O sulco do tronco começa a se formar a partir de 13 dpf (E29+; Fig 27).

5 DISCUSSÃO

O rápido desenvolvimento embrionário e larval de *Rhamdia quelen* observado no presente estudo permite que 4 ou 5 dias após a eclosão as larvas se tornem exclusivamente exotróficas. Uma vez que suas reservas vitelínicas se esgotam rapidamente e se desenvolvem em ambientes com potencial risco de predação, as larvas de jundiá devem ter como prioridade o rápido desenvolvimento de estruturas alimentares, sensoriais e locomotoras, que possibilitem sua sobrevivência, assim como verificado para outras espécies de peixes (CLAVIJO-AYALA, 2006).

Ao eclodir, as larvas de muitas espécies de teleósteos apresentam olhos despigmentados e muito provavelmente não funcionais (BLAXTER, 1986) o que também ocorre em *R. quelen* já que o mesmo começa a apresentar pigmentação dos olhos no estágio E26 (cerca de 12 horas após a eclosão). Porém, no início da alimentação exógena, a retina, que na maioria das espécies de peixes Teleósteos é constituída exclusivamente de cones, células fotorreceptoras envolvidas na visão de cores e na acuidade visual, já é adequada para a captura de alimento, uma vez que possibilita a visão mesmo em baixas intensidades luminosas (BLAXTER, 1986). Desse modo, aquele autor sugere que diversos resultados que indicam a ocorrência de alimentação no escuro devem ser observados com cautela, pois é provável que tenham subestimado o fato de que a luz pode ter sido suficiente para a visão através dos cones.

Durante o desenvolvimento, no período de transição para uma fonte exógena de alimento, mudanças de hábitat ou modificações em determinados fatores ambientais e sociais que afetem o crescimento, podem ser responsáveis por modificações na estrutura do olho. (NOAKES e GODIN, 1988).

De acordo com as evidências morfológicas observadas, pode se afirmar que o desenvolvimento dos receptores oculares em *Rhamdia quelen* é rápido, mas ainda não fica claro qual é o momento em que inicia a funcionalidade do mesmo, ou de alguns de seus elementos. No período de segmentação corporal (E16, ~9 hpf) se observou a diferenciação das vesículas ópticas, e, pouco

depois (E18, ~11 hpf), se constatou a diferenciação das lentes. Embora isso não tenha sido objeto de estudo no presente trabalho, no momento da eclosão (E25, 24 hpf) não se verificaram respostas a estímulos luminosos (fotofobia/fototaxia), o que também não foi observado em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (CLAVIJO-AYALA,2008)

De acordo com Blaxter (1986) e Noakes e Godin (1998), uma grande parte de larvas de peixes eclodem com os receptores oculares ainda imaturos (não funcionais), só atingindo sua capacidade receptora a partir do momento da pigmentação da retina. Neste estudo observou-se a pigmentação total dos olhos na larva inicial (E26, 36 hpf). De acordo com Junqueira e Carneiro (2008), a retina é a estrutura receptora-integradora do olho, pois apresenta camadas de células especializadas na fotorrecepção, camadas de células bipolares que unem funcionalidade as células especializadas na fotorrecepção, camadas de células ganglionares, que convergem os axônios formando o nervo óptico.

Porém, assim como o *R. quelen*, os bagres de um modo geral são peixes de águas profundas e barrentas, onde o campo visual é limitado e a capacidade mecanorreceptora e quimiorreceptora desses animais é mais eficiente na captura de alimento do que o sistema visual (IWAI,1980). O rápido e intenso desenvolvimento dos elementos quimiorreceptores e mecanorreceptores do sistema sensorial podem indicar a sua prevalência ou complementaridade frente à possível baixa funcionalidade do receptor ocular durante os primeiros dias de vida livre do *R. quelen*.

Uma vez esgotadas as reservas vitelínicas, o crescimento das larvas de peixes dependerá de sua habilidade de capturar alimentos vivos ou inertes. Considerando à possível baixa acuidade visual, o bom desempenho de larvas de *Rhamdia quelen* em cativeiro, com relação ao crescimento e à sobrevivência, dependerá de uma alta palatabilidade do alimento. De forma contrária, a larva deixará de se alimentar, podendo causar sérios prejuízos pelo baixo crescimento (PEREIRA *et al* 2006). Assim, é importante que *R. quelen* tenha estruturas receptoras de paladar bem desenvolvidas.

O paladar é percebido por estruturas quimiorreceptoras. Diversos autores enfatizam a dificuldade na discriminação dos estímulos que podem ser percebidos pelo epitélio olfativo daqueles percebidos pelos botões gustativos,

pois ambos os sistemas são sensíveis às substâncias químicas dissolvidas na água (CLAVIJO-AYALA, 2008). No entanto, a seqüência de aparição e localização dos botões gustativos indicam seu papel na identificação química e seleção de alimento (KOTRSCHAL, 2000).

Em *Rhamdia quelen*, foram identificados botões gustativos a partir do estágio de larva média (E27, ~66 hpf), inicialmente sobre os barbilhões e mais tarde (~72 hpf) no epitélio dos lábios, apresentando-se em grande densidade na larva tardia (E28, ~90 hpf).

De acordo com Hansen et al (2002), o epitélio sensorial dos botões gustativos é formado tanto pelas células com uma única terminação apical, quanto pelas células com múltiplas microvilosidades apicais (células claras e escuras, respectivamente, de acordo com sua densidade eletrônica na microscopia eletrônica de transmissão).

Os primórdios dos botões são cobertos por células epiteliais e, alguns dias após a sua formação, as áreas receptoras se tornam expostas ao ambiente. A exposição da área receptora (4-5 dpf) coincide com o início da alimentação exógena no zebrafish (*Danio rerio*, HANSEN et al, 2002) o que também foi observado em *R. quelen*.

Igualmente ao observado no presente estudo, Kotrschal et al (1997) descrevem que nos lábios, os primórdios dos botões gustativos parecem ter uma distribuição aleatória. Por outro lado, nos arcos branquiais, os primeiros botões estão localizados em pequenas saliências espaçadas mais ou menos uniformemente, que marcam as extremidades distais dos rastros branquiais.

Segundo Kotrschal (1997), em vários Siluriformes os botões gustativos podem se encontrar em toda a superfície corporal, e agregarem-se em áreas de freqüente contato e/ou localização de alimento, como lábios, barbilhões e nadadeiras. Por sua vez, Northcut (2005) descreve a presença de botões gustativos na região do tronco de *Ictalurus punctatus*. Tais botões gustativos extra-orais teriam a função de detecção química e mecânica. Nos exemplares de *Rhamdia quelen* analisados neste trabalho não foram encontrados botões gustativos na região do tronco.

Baseado nas informações proporcionadas no presente estudo, pode-se afirmar que o padrão de desenvolvimento do sistema quimiorreceptor em *Rhamdia quelen* é similar ao reportado para *Danio rerio* (Zebrafish) por Hansen

et al (2002), no qual os botões gustativos aparecem depois do desenvolvimento de outros elementos do sistema sensorial como os neurônios quimiorreceptores do epitélio olfatório. Os barbilhões do zebrafish se formam na fase juvenil, cerca de 30-40 hpf, surgindo como proeminências nas quais se localizam áreas receptoras de botões gustativos em formação. Em *R. quelen* os barbilhões surgem bem mais cedo, ainda no período larval (E26, 36 hpf) e desenvolvem-se bem mais que no zebrafish, tornando-se muito alongados.

Durante a formação do barbilhão, os botões gustativos se localizam nas extremidades, sendo seu eixo desprovido dessas estruturas. Posteriormente, novos botões gustativos serão formados ao longo deste eixo. Assim como em *R. quelen* a superfície dos barbilhões das espécies *Mullus surmuletus* e *M. barbatus* se encontra coberta por botões gustativos que, na superfície apical, se encontram isolados e dispostos em fileiras mais ou menos regulares, orientadas perpendicularmente ao longo do barbilhão (HANSEN e ZEISKE, 1993)

A rápida diferenciação dos neurônios quimiorreceptores especializados dos bagres pode indicar a relevância deste mecanismo sensorial no desenvolvimento inicial e a precoce sensibilidade química da espécie (CLAVIJO-AYALA, 2006). Em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) a diferenciação das vesículas olfatórias se inicia no final do período embrionário (17 hpf), e, no momento da eclosão (19 hpf), o epitélio olfatório se encontra exposto, sendo possível identificar células receptoras ciliadas e células receptoras com microvilosidades (CLAVIJO-AYALA, 2008). O presente trabalho também demonstrou que as vesículas olfatórias de *R. quelen* se iniciaram um pouco antes da eclosão, no estágio E24 (19 hpf) e o aparecimento das células ciliadas ocorreu após a eclosão as 42 hpf (E26+).

Tanaka et al. (1991) observaram que larvas recentemente eclodidas de *Pagrus major* apresentam células sensoriais ciliadas no epitélio olfatório e descrevem sensibilidade química com tendência a permanecer perto da fonte do estímulo. A rápida diferenciação das células sensoriais é também assinalada como evidência da funcionalidade do epitélio olfativo por diversos autores (APPELBAUM e RIEHL, 1997; ARVEDLUND et al., 2000; MATSUOKA, 2001).

De acordo com Calvijo-Ayala (2008), da mesma forma que o sistema quimiorreceptor, elementos mecanossensoriais são observados precocemente durante o desenvolvimento embrionário e larval. Em *R. quelen* foram observados neuromastos a partir das larvas iniciais (E26, 36 hpf) que é considerado um surgimento tardio ao compararmos com o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) que possui neuromastos imaturos (sem cúpula) no momento da eclosão (CALVIJO-AYALA, 2008). Na verdade, os neuromastos do pacu começam a se formar ainda no período embrionário (ao final da organogênese embrionária). Nesta espécie, a ausência da cúpula permitiu a observação de quatro eixos de sensibilidade dos cinécílios (crânio-caudal e dorso-ventral) por meio de MEV (CALVIJO-AYALA, 2008), o que não foi observado nos exemplares de *R. quelen* do presente estudo.

Os neuromastos podem ser encontrados associados à linha lateral, distribuídos livremente no epitélio ou, em alguns casos, formando linhas de neuromastos livres na cabeça, inclusive constituindo parte de canais sensoriais craniais (LIEM et al., 2001). A rápida aparição dos neuromastos, e a sua distribuição tanto na cabeça quanto nas regiões dorsal e lateral do corpo, pode indicar a importância da mecanorrecepção no desenvolvimento inicial de *Rhamdia quelen*.

De acordo com Liem et al. (2001), a mecanorrecepção tem um papel fundamental na adaptação das larvas a águas abertas após a eclosão, e participa na detecção de estímulos mecânicos, identificando a aproximação de partículas móveis aos seu redor. Isto é fundamental para larvas recém-eclodidas, as quais ainda não têm desenvolvido a fotorrecepção e capacidade visual, ou para aquelas que se desenvolvem em ambientes com pouca ou nenhuma luminosidade, como os bagres.

Appelbaum e Riehl (1997) destacam o papel da mecanorrecepção na detecção de partículas móveis e, portanto, na captura de alimento. Por outro lado, Cestaroli (2005) concluiu que a mecanorrecepção não deve ocupar posição relevante para a alimentação de larvas de *Pseudoplatystoma coruscans*, uma vez que os canais da linha lateral cefálica e os neuromastos superficiais dessa espécie somente se encontram bem desenvolvidos na época da metamorfose, aos 16 dpe. Moyle e Cech (2004) destacaram o papel de mecanorrecepção na orientação espacial dentro da água e, no trabalho de Liu

et al. (2008), ficou demonstrada a importância dos receptores da linha lateral na orientação e natação de peixes nos cardumes.

Receptores elétricos, aparecem nas larvas de *R. quelen* disseminada pela superfície epidérmica. Receptores elétricos, ampuliformes ou tuberosos, são conhecidos somente em vertebrados aquáticos, ocorrendo em apenas quatro das mais de 30 ordens de teleósteos (ZAKON, 1988).. Uma delas é a dos Siluriformes, que possui apenas receptores ampuliformes (ZAKON,1988).

As características morfológicas visíveis do receptores ampuliformes em larvas de *Rhamdia quelen*, são feixes de terminações que se projetam em direção ao meio externo, os quais formam aglomerados de aspecto circular. De acordo com Zakon (1988), essas terminações são as microvilosidades das células receptoras implantadas em um epitélio de células de suporte. Em *Rhamdia quelen* são facilmente identificáveis por meio de MEV, uma vez que sua estrutura é bastante singular.

Na pós-larva (estádio E29+) o receptor ampuliforme adquire as características morfológicas de uma estrutura quase madura, assemelhando-se a uma bolsa, simples ou multilobada, a ampola propriamente dita, que, nessa fase, sofre um ligeiro aprofundamento na epiderme, não suficiente para formar um canal, de modo que ainda mantém quase toda a área sensorial exposta às correntes que banham a superfície do corpo. Na base dessa bolsa está o epitélio que contém as células receptoras, cujo número, dentro de cada ampola pode variar (Cestarolli, 2005)

Zakon (1988) afirma que, em *Gymnarchus*, um Gimnotiforme, ocorre uma única célula, enquanto que no bagre *Kryptopterus* aparecem vinte delas. Em *Rhamdia quelen* pode ser observada a ocorrência de mais de um conjunto dessas terminações, onde formações com um, dois, dez e até quinze feixes são detectados na área sensorial.

Enquanto não haja evidência experimental, é possível supor que o eletrorreceptor constituído de um único feixe sensorial seja a unidade básica para a formação de estruturas mais complexas, que poderiam responder por uma sensibilidade mais aguçada, nessa espécie. A elevada densidade desses receptores, ao redor de $500.\text{mm}^{-2}$ na área labial, pode corroborar essa hipótese (CESTAROLLI, 2005).

O órgão do sistema sensorial que se desenvolve mais rápido é o ouvido interno do *Rhamdia quelen*. No embrião em segmentação (E17, ~9 hpf) se observou a diferenciação dos placódios óticos, sendo possível identificar os otólitos ao final desse período (E21, ~15 hpf). Nesta mesma fase, observou-se a diferenciação celular das máculas constituídas por células sensoriais e células de sustentação. Assim, mesmo antes da eclosão o jundiá apresenta os elementos sensoriais fundamentais do ouvido interno. Os otólitos associados às células sensoriais das máculas permitem a captação de vibrações na água, além de participar da sensibilidade gravitacional, localização espacial e equilíbrio da larva. Por sua vez, as células sensoriais das cristas participam na captação de sons (NELSON, 2006; CLAVIJO-AYALA, 2008).

Apesar dos avanços no conhecimento do desenvolvimento inicial do sistema sensorial de *Rhamdia quelen* derivados deste estudo, diversos aspectos anatômicos, morfológicos, estruturais, ultra-estruturais e funcionais permanecem ainda sem o adequado detalhamento. Porém, a tarefa de descrever a ontogenia inicial do sistema sensorial de qualquer espécie precisa de múltiplos esforços, e de equipes de especialistas em distintas áreas.

O estudo do desenvolvimento inicial, da ontogenia das estruturas sensoriais, e das mudanças no comportamento larval é fundamental para o entendimento de múltiplos aspectos da ecologia larval em águas abertas, assim como para o desenvolvimento de técnicas adequadas a implementar durante a incubação e larvicultura de peixes.

No entanto, pode-se afirmar com veemência, que muitos dos aspectos fundamentais da ontogenia inicial do sistema sensorial da espécie são apresentados pela primeira vez, neste estudo, embora outros permaneçam, ainda como uma incógnita. Essa certeza estimula a continuidade dos estudos nesta área, não só com o *Rhamdia quelen*, mas também em outras espécies.

6 CONCLUSÕES

De acordo com a análise dos resultados obtidos neste estudo e da discussão feita à luz das informações disponíveis relativa ao desenvolvimento do sistema sensorial em peixes, pode-se concluir que:

- O rápido desenvolvimento e especialização das estruturas sensoriais em *Rhamdia quelen* é prioritário para a sobrevivência larval da espécie;

- Após a eclosão se observa um epitélio olfatório diferenciado com células quimiorreceptoras especializadas (neurônios sensoriais ciliados e neurônios sensoriais com microvilosidades). Essa rápida diferenciação do epitélio olfatório pode indicar a precoce funcionalidade do mesmo;

- O desenvolvimento do sistema mecanorreceptor é notório durante os primeiros dias após a eclosão, indicando que podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento inicial das larvas da espécie;

- O desenvolvimento do ouvido interno é rápido poucos dias após a eclosão podendo indicar a precoce sensibilidade de larvas de *R. quelen* a sons e o papel do ouvido interno na localização espacial, controle direcional e equilíbrio, já que nesse momento do desenvolvimento se observa larvas com claras habilidades natatórias;

- Embora diversos elementos do receptor ocular se desenvolvam rapidamente, não é possível com esses estudos demonstrar a funcionalidade do receptor visual;

- No momento em que começa esgotar suas reservas vitelinas, o *R. quelen* aparentemente adquire capacidade potencial em perceber, identificar, perseguir e capturar presas, o que possibilita seu crescimento e, ao mesmo tempo, perceber, identificar e fugir de potenciais predadores e/ou situações de desconforto, convertendo-se em um organismo exclusivamente exotrófico .

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, M.A.; ANCTII, M. **Retinas of Fishes. An Atlas.** New York: Springer Verlag, 1976.
- ALI, M.A. **Vision in Fishes: New Approaches in Research.** New York: Plenum Press, 1974.
- Ali, M.A., Klyne, M.A. **Vision in Vertebrates.** New York-London: Plenum Press, 1985.
- APPELBAUM, S.; RIEHL, R. Scanning electron microscopic observations of the chemo and mechanoreceptors of carp larvae (*Cyprinus carpio*) and their relationship to early behavior. **Aquatic Living Resources**, v.10, p.1-12, 1997.
- ARVEDLUND, M.; LARSEN, K. ; WINSOR, H. The embryonic development of the olfactory system in *Amphiprion melanopus* (Perciformes: Pomacentridae) related to the host imprinting hypothesis. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**. v.80, p. 1103-1109, 2000.
- BEHR, E. R.; NETO, J. R. TRONCO, A. P. FONTANA, A. P. Influência de diferentes níveis de luminosidade sobre o desempenho de larvas de Jundiá (*Rhamdia quelen*) (Quoy e Gaimard, 1824) (Pisces: pimelodidae) **Acta Scientiarum (Biological Sciences)**, v. 21, p.325-330, 1999.
- BITTENCOURT, S. Microscópio Eletrônico de Transmissão. Laboratório de Neurofisiologia. UNIFESP. Disponível em: < <http://www.neurofisiologia.Unifesp.br/eletronica.htm>>. Acesso em: 15/10/2011.
- BLAXTER, J.H.S. Development of sense organs and behaviour of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.115, p. 98–114, 1986.
- BLAXTER, J.H.S.; GRAY, J.A.B.E.; BEST, A.C.G. Structure and development of the free neuromasts and lateral line system of the herring. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 63, p.247-260, 1983.
- BLECKMANN, H. Role of lateral line in fish behavior. In: PITCHER, T.J. (Ed.) **Behaviour of Telost Fishes**. London: Chapman & Hall, p. 201-246, 1993.
- BOUEF, G.; LE BAIL, P.Y. Does light have an influence on fish growth? **Aquaculture**, v. 177, p. 129–152, 1999.
- CAJAL S.R.Y. La re´tine des vertebr´s. **La Cellule**, v. 9, p.121–255, 1893.
- CAMBRAY, J.A. Effects of turbidity on the neural structures of two closely related redfin minnows *Pseudobarbus afer* and *P. asper*, in the Gamtoos river system, South Africa. **South African Journal of Zoology**, v.2, p. 126-131, 1994.

CARNEIRO, P.C.F. Jundiá: um grande peixe para a região sul. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 69, p. 41-46, 2002.

CATANIA, S.; GERMANA, A.; LAURA, R.; GONZALEZ-MARTINEZ, T.; CIRIACO, E.; VEJA, J.A. The crypt neurons in the olfactory epithelium of the adult Zebrafish express TRKA-like immunoreactivity. **Neuroscience Letters**, v.350, p. 5-8, 2003.

CESTAROLLI, M. A. **Larvicultura do pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829): aspectos da alimentação inicial e do desenvolvimento de estruturas sensoriais.** Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura da UNESP/Jaboticabal, 2005.

CLARK, G. **Staining procedures.** Wiliam & Wilkins; London, p. 512, 1981.

CLAVIJO-AYALA, J. A. **Ontogenia do sistema sensorial de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Holmberg, 1887) (Characidae: Serrasalmidae).** Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

CLAVIJO-AYALA, J. A.; VETORELLI, M.P.; PORTELLA, M.C. Desenvolvimento inicial e caracteres de identificação de larvas vitelinas de Pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), **CIVA**, p.819-828, 2006.

CUNHA, J.M.F.L. da **Biodiversidade e sistemática Molecular de Phereatobiidae (Ostariophysi, Siluriformes) – como uma proposta sobre sua posição filogenética em Siluriformes e uma discussão sobre a evolução do hábito subterrâneo.** Tese (doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

DAVIS, B.J.; MILLER, R. J. Brain patterns in minnows of the genus *Hybopsis* in relation to feeding habits and habitat. **Copeia**, v.1967, p. 1-39, 1967.

DIAZ, J.P.; PRIÉ-GRANIÉ, M.; KENTOURT, S.; VARSAMOS; CONNES, R.. Development of the lateral line system in the sea bass. **Journal of Fish Biology** v. 62, p. 24-40, 2003.

DIJKGRAAF, S. The functioning and significance of the lateral line organs. **Biological Reviews** v.38, p. 51-105, 1963.

Duque-Osório, J. F. Crestas neurales y arcos branquiais: Una revisión evolutiva y embriológica de datos básicos y recientes. **Revista de La Academia Colombiana de Ciencia.** v.27, p. 291-307, 2003.

EKSTRÖM VON LUBITZ, D. K. J. Ultrastructure of the lateral line sense organs of the catfish, *Chimaera monstrosa*. **Cell and Tissue Research**, v.215, p.651-665, 1981.

ENCICLOPÉDIA BRITANNICA. Lateral Line system of a fish. Disponível em: <<http://www.britannica.com/EBchecked/media/48248/lateral-line-system-of-a-fish>> acesso em: 21/06/2011.

EVANS, M.E. **Aquarium fish**. Smell you later: olfaction in aquarium fishes. Disponível em: <<http://www.advancedaquarist.com/2007/5/fish>>. Acesso em: 20/08/2011.

FISHELSON, L.E.V.; BARANES, A.V.I. Ocular development in the Oman Shark, *Lago omanensis* (Triakidae), Gulf of Aqaba, Red Sea. **The Anatomical Record**, v. 256, p.389–402, 1999.

FLOCK, A. Electron microscopic and electrophysiological studies on the lateral line organ. **Acta Oto-Laryngologica** (Suppl.) v.199, p.1-90, 1965.

FLOCK, A. ; WERSALL, J. A study of the orientation of the sensory hairs of the receptor cells in the lateral line organs of fishes, with special reference to the function of the receptors. **Journal of Cell Biology**, v.15, p. 19-27, 1962.

FRACALOSSO, D. M. No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 74, p. 43-49, 2002.

FRACALOSSO, D.M. Desempenho o Jundiá, *Rhamdia quelen* e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil **Acta Scientiarum. Biological Sciences** (Maringá), v. 26, n. 3, p. 345-352, 2004.

FUORTES M.G.F. The handbook of sensory physiology. Berlin: **Springer Verlag**, 1972.

GAM,P. **Ictiologia** .Disponível em: < <http://clientes.netvisao.pt/pedrogam/ictiologia.htm>>. Acesso em: 19/07/2011.

GARCIA, C. **Estudos cromossômicos e moleculares em *Rhamdia* (Pisces, Siluriformes, Heptapteridae)**: análise de relações evolutivas. 2009. Tese (Doutorado em Biologia (Genética)) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

GILBERT, S. F. **Biologia do Desenvolvimento**. 5^o edição. Desenvolvimento do olho em vertebrados. Editora FUNPEC, p. 279-281, 1997.

GHIRALDELLI, L.; MACHADI, C.; FRACALOSSO, D. M. ZANIBONI-FILHO, E. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**. V.29, n.4, p.349-356, 2007.

GHYSEN, A.; CHAUDIÈRE, D. C. Development of the zebrafish lateral line. **Current Opinion in Neurobiology**, v,14, p.67–73, 2004.

GOMES, L.C. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae): uma revisão. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 30, p. 179-185, 2000.

GRAW, J. The genetic and molecular basis of congenital eye defects. **Nature Reviews Genetics**. v. 4, p. 876-888, 2003.

GRAZIADEI, P. P.; KARLAN, M.S.; GRAZIADEI, G.A.; BERNSTEIN, J.J. Neurogenesis of sensory neurons in the primate olfactory system after section of the fila olfactoria. **Brain Research**. v.186, p. 289- 300,1980.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia spp.*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1980.

HADDON, C.; LEWIS, J. Early ear development in the embryo of the zebrafish, *Danio rerio*. **Journal of Comparative Neurology**; v. 365, p. 113-128, 1996.

HADDON, C.; MOMBRAY, C.; WHITFIELD, T.; JONES, D.; GSCHMEISSNER, S.; LEWIS, J. Hair cells without supporting cells: further studies in the ear of the zebrafish mind bomb mutant. **Journal Neurocytology**, v.28, p. 837-850, 1999.

HAMA, K. Some observations on the fine structure of the lateral line organ of the Japanese sea eel, *Lincozymba nystromi*. **Journal of Cell Biology**, v.24, p.193-210, 1965.

HAMDANI, E. H.; LASTEIN S.; GREGERSEN, F.; DØVING K. B. Seasonal variations in olfactory sensory neurons— Fish sensitivity to sex pheromones explained? **Chemical Senses**, v.12, p.40-52, 2007.

HAMDANI, E.H.; LASTEIN, S.; GREGERSEN, F.; DØVING, K.B. Seasonal variations in the appearance of crypt cells in the olfactory epithelium of the crucian carp [abstract]. In: 17th European Chemoreception Research Organization Congress, Granada, Spain. **Chemical Senses**. v. 31, p- 32-54, 2006.

HANKEN, B.V.; MEYER, A.A.N.; OLIVEIRA, E. Análise histológica de estruturas sensoriais de *Centropomus parallelus* (Poey, 1896) (Centropomidae) relacionadas ao hábito alimentar. **RUBS**, Curitiba, v.1, n.2, p.16-23, 2008.

HANSEN A.; ZEISKE, E. Development of the olfactory organ in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. **The journal of Comparative Neurology**. 333: 289–300, 1993.

HANSEN, A.; ELLER, P.; FINGER, T.E.; ZEISKE, E. The crypt cell: a microvillous ciliated olfactory receptor cell in teleost fishes. **Chemical Senses**, v. 22, p.694–695, 1997.

HANSEN, A.; FINGER, T.E. Phyletic distribution of crypt-type olfactory receptor neurons in fishes. **Brain Behavior and Evolution**, v.5, p.100–110, 2000.

HANSEN, A.; REUTTER, K.; ZEISKE, E. Taste bud development in the Zebrafish, *Danio rerio*. **Development Dynamics**, v.223, 483 – 496, 2002.

HARA, T. J. Effects of pH on the olfactory responses to amino acids in rainbow trout, *Salmo gaudneri*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 54, p. 37-39, 1976.

HAWKINS, A. D. Underwater sound and fish behavior. **Behavior of teleost fishes**. 2^o edição, Editora Chapman & Hall, p. 412, 1993.

HILDEBRAND, J. G.; SHEPHERD, G. M. Mechanisms of olfactory discrimination: converging Evidence for Common Principles Across Phyla. **Annual Review of Neuroscience**. V. 20, p. 595-631, 1997.

HOSS, D.E.E.; BLAXTER, J.H.S. Development and function of the swimbladder inner ear-lateral system in the Atlantic menhaden *Brevoortia tyrannus* (Latrobe). **Journal of Fish Biology**, v. 20, p. 131-142, 1982.

HUDSPETH, A. J. How the ear's works work. **Nature**, v.314; p. 397-404; 1989.

IWAI, T. Development of lateral line cupulae in the Gobioid fish, *Tridentiger trigonocephalus* (Gill). **Bulletin of the Misaki Marine Biological Institut**, Kyoto University v. 4 p. 1-20, 1963.

IWAI, T. Sensory anatomy and feeding of fish larvae. In: **Iclarm conference**, 5th, Manila, Philippines. Fish behaviour and its use in the capture and culture of fishes: proceedings. Manila, v. 5, p. 124–145; 1980.

JORGENSEN, J.M. On the fine structure of lateral-line canal organs of the herring (*Clupea harengus*). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v.65, p.751-758, 1985.

JUNQUEIRA, L. C. CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11^o edição, Editora Guanabara koogan, p. 452-455, 2008.

KINNAMON, S.C. CUMMINGS, T. A. Chemosensory transduction mechanisms in taste. **Annual Review of Physiology**. V. 54, p. 715-731, 1992.

Kitajima, E.W.; Leite, B. Curso introdutório de microscopia eletrônica de Varredura. NAP/MEPA. **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo**, p.46, 1999.

KOTRSCHAL, K. Taste (s) and olfaction (s) in fish: a review of sub-systems and central integration. **Pflügers Archiv European Journal Of Phisiology**. V. 439, n. 7 p. 178-180, 2000.

KOTRSCHAL, K.; KRAUTGARTNER W.D.; HANSEN, A. Ontogeny of the solitary chemosensory cells in the zebrafish, *Danio rerio*. **Chemical Senses**, v.22, p.111–118, 1997.

KOTRSCHAL, K. Ecomorphology of solitary chemosensory systems in fish: a Review. **Environmental Biology of Fishes**, v.44, p. 143-155, 1995.

KRAAIJ, D. A.; SPEKREIJSE, H.; KAMERMANS, M. The open – and closed – loop gain – characteristics of the cone/horizontal cell synapse in goldfish retina. **Journal of Neurophysiology**.v. 84, n. 3, p. 1256-1265, 2000.

LI, Z.; JOSEPH, N.M., EASTER, S.S JR. The Morphogenesis of the Zebrafish Eye, Including a Fate Map of the Optic Vesicle. **Developmental Dynamics** v.218, p. 175–188, 2000.

LIEM, K. F., BEMIS, W. E., WALKER, JR. W.F., GRANDE, L. **Functional anatomy of vertebrates. An evolutionary perspective.** 3 ed. Thomson Belmont, p.703, 2001.

LIU, Q LONDRVILLE R., JAMES, MARRS A., AMY L. Cadherin-6 Function in Zebrafish Retinal Development **Developmental Neurobiology.** v.68, p.1107–1122, 2008.

LIVINGSTON, M.E. Morphological and sensory specializations of five New Zealand flatfish species, in relation to feeding behaviour. **The Fisheries Society of the British Isles.** v.2, p.775-795, 1987.

LUFT, J.H. Improvements in epoxy resin embedding methods. **Journal of Biochemistry,** V.9, p.409, 1961.

MACIEL, C. M. R. R. **Ontogenia de larvas de piracanjuba, *Brycon orbignyamus Valenciennes (1849) (Characiformes, Characidae, Bryconinae)*** tese de doutorado, UFV, Viçosa –MG, 2006.

MARCHIORO, M.I. **Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy e Gaimard, 1824, Pisces, Pimelodidae) à variação de pH e salinidade da água de cultivo.** 87p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria - RS, 1997.

MARGULIES, D. Size-specific vulnerability to predation and sensory system development of white sea bass, *Atractoscion nobilis*, larvae. **Fish Bulletin.** v. 87, p.537-552, 1989.

MARSHALL, N. J. Structure and general distribution of free neuromasts in the black goby, *Gobius niger*. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** v.66, p.323-333, 1986.

MATSUOKA, M. Development of sense organs in the Japanese sardine *Sardinops melanosticus*. **Fisheries Science.** v. 67, p. 1036-1045, 2001.

MCCORMICK, M. I. Development and changes at settlement in the Barbel Structure of the Reef fish, *Upeneus tragulla (Mulidae)*. **Environmental Biology of fishes** v.37,p. 269-282, 1993.

MELDAU, D.C. Retina. Disponível em: < <http://www.infoescola.com/visao/retina/>> acesso em: 10/10/2011.

MELLO, A. M.M.M.; AMBROSANO, E. Piscicultura orgânica. Disponível em: < http://www.aptaregional.sp.gov.br/artigo.php?id_artigo=500> acesso em: 23/09/2011.

- MONTGOMERY, J. C., MCDONALD, F., BAKER, C. F., CARTON, A. G. AND LING, N. Sensory integration in the hydrodynamic world of rainbow trout. **Proceedings The Royal Society** v.270, p.195-19, 2003.
- MOORMAN, J. STEPHEN. Development of Sensory Systems in Zebrafish (*Danio rerio*), **ILAR Journal** v. 42, p. 15-21, 2001.
- MOULTON DG. Dynamics of cell populations in the olfactory epithelium. **Annals of the New York Academy of Sciences.** v. 237, p.52–61, 1974.
- MOYLE, P. B., AND J. J. CECH. **Fishes: an introduction to ichthyology** 15^o edição. Editora Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey,. p.173-275, 2004.
- MÜLLER H. Zur Histologie der Netzhaut. **Z Swiss Zool** 3:234–237, 1851.
- MUNK, O. Ocular anatomy of some deep-sea fishes. **Dana-Report Carlsberg Foundation** 70, 1966.
- MUNK, O. On the visual cells of some primitive fishes with particular regard to the classification of rods and cones. **Vidensk Meddr Dansk naturh Foren**, v. 132, p. 25-30, 1969.
- NAKAMUTA, S.; NAKAMUTA, N.; TANIGUCHI, K. Ultrastructure of the Olfactory Epithelium in a Flatfish, Barfin Flounder (*Verasper moseri*), **Journal of Veterinary Medical Science** v. 72, p. 801–804, 2010.
- NAKATANI, K.; Agostinho, A. A.; Baumgartner, G.; Bialetzki, A.; Sanches, P. V.; Makrakis, M. C.; Pavanelli, C. S. **Ovos e Larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação.** Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá. P. 365, 2001.
- NELSON, J. S. **Fishes of the World.** 4^o edição. John Wilwy & Sons, New jersey, p. 601, 2006.
- NICOLSON, T. The genetics of hearing and balance in zebrafish. **Annual Review of Genetics**, v. 39, p. 9-22, 2005.
- NOAKES, D.L.G.; GODIN, J.J. **Ontogeny of behavior and concurrent developmental changes in sensory systems in teleost fishes**, in : hoar, W. S. Randall, D. J. ed. Fish physiology v. I XI B, p. 345-394, Academic Press, Inc. London, 1988.
- NORTHCUTT, R. G., HOLMES, P. H.; ALBERT, J. S. Distribution and innervation of lateral line organs in the channel catfish. **Journal of Comparative Neurology**, v.421, p.570-592, 2000.
- NORTHCUTT, G. Development of the lateral system in the channel catfish. **The Big Fish Bang**, p. 138-159, 2003.
- NORTHCUTT, G. Taste Bud Developmental in the channel Catfish. **The journal of Comparative Neurology**, v. 482, p. 1-16, 2005.

OTO (Otolith Training Online) Anatomical location. Disponível em: <<http://www.marine.ie/oto/form+and+structure/anatomical+location/index.htm>> Acesso em: 24/07/2011.

OTSUKA, M.; NAGAI, S. I. Neuromast formation in the prehatching embryos of the codfish, *Gadus macrocephalus* Tilesius. **Zoological Sciences**, v.14,p. 475-481, 1997.

PEREIRA, C. R.; BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L.; QUEVEDO, M., RITTER, F.; SILVA, L. B. Embryonic and Larval development of Jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy e Gaimard, 1824, *pisces, teleostei*), a South American Catfish, **Brazilian Journal of Biology**, v.66, p. 1057-1063, 2006.

PIAIA, R., TOWNSEND, C.R., BALDISSEROTTO, B. Growth and survival of fingerlings of *Rhamdia quelen* exposed to different light regimes. **Aquaculture International** v. 7, p.201-205, 1999.

PITCHER, T. J. **Behavior of teleost fishes**. 2ª Ed. Chapman e Hall. London , p.480, 1993.

POLING, K. R.; FUIMAN, L. A. Sensory development and concurrent behavioural changes in Atlantic croaker larvae. **Journal of Fish Biology**, v. 51, p. 402-421, 1997.

POPPER, A.N.; FAY, R.R. Sound detection and processing by fish: critical review and major research questions. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 41 p. 14-38, 1993.

POUGH, H.; Janis, C. M.; Heiser, J. B. **A vida dos Vertebrados**. 3º edição Parte II Cap. 4. p. 89 – 95, São Paulo, 2003.

RAMEL, G. Sight in fish. Disponível em: < <http://www.earthlife.net/fish/sight.html> acesso em: 10/09/2011.

REIS, F. Morfologia externa e sistema sensorial em peixes. Disponível em: < <http://www.pucrs.br/fabio/reis/Jerep.pdf>. > acesso em: 20/08/2011.

RILEY, B. B.; ZHU, C.; JANETOPOULOS C.; AUFDERHEIDE K. J. A critical period of ear development controlled by distinct populations of ciliated cells in the zebrafish. **Developmental Biology**, v. 191; p. 191-201, 1997.

RODRIGUES-GALDINO, A. M.; MAIOLINO, C.V.; FORGATI, M.; DONATTI, L.; MIKOS, J.; CARNEIRO, P. C. F.; RIOS, F. S. Development of the neotropical catfish *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) incubated in different temperature regimes; **Zygote** p. 1-14, 2009.

ROHEN J.W.,. The Structure of The Eye. **II Symposium F.K. Stuttgart :Schattauer-Verlag**, Alemanha, 1965.

ROPER, S.D. Synaptic interaction in taste buds. In: SIMON SA, ROPER SD, editors. **Mechanisms of taste transduction**, Boca Raton: CRC Press. p 275–293, 1993.

SAITO, S.; YAMAMOTO, Y.; MORI, M.; AMANO, M.; YAMANOME, T.; TANIGUCHI, K.; YAMAMORI, K.. Morphogenesis of the Olfactory Pit in a Flatfish, Barfin Flounder (*Verasper moseri*); **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 66, p.1275-1278, 2004.

Schiefferdecker P. Studien zur vergleichenden Histologie der Retina. **Arch Mikr Anat Mech**, v. 28, p.305–396, 1886.

SCHMIDT, R. E. Variation in Barbels of *Rhinichtys cataractae* (Pisces: Cyprinidae) in Souththeastern New York with Comments on Phylogeny and Functional Morphology . **Developmental Dynamics**, v.15, p.239-246, 1983.

SCHULTZE M. Zur Anatomie und Physiologie der Retina. **Arch Mikr Anat Mech**, v.2,165–286, 1886.

SCHULZ, U.H.; LEUCHTENBERGER, C. Activity patterns of South American silver catfish *Rhamdia quelen*. **Brazilian Journal Biology**, São Carlos, v. 67, p. 565-574, 2006.

SCHWOB, J.E. Neural regeneration and the peripheral olfactory system. **Anatomical Record**, v.269, p.33–49, 2002.

SILFVERGRIP, A.M.C. **A systematic revision of the neotropical catfish genus Rhamdia (Teleostei, Pimelodidae)**.. 156 f.Thesis (PhD in Zoology)–Stockholm University, Stockholm, 1996.

SORENSEN, P. W.; CAPRIO, J. Chemoreception in fish. **The Physiology of Fishes**. 2º edição. Editora Evans, Florida, p. 375–406, 1998.

SOULES, K.L. AND LINK, B.A.. Morphogenesis of the anterior segment in the zebrafish eye. **BMC Developmental Biology**, v.5, p. 7-12, 2005.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **Na Atlas of fish histology: normal and pathological features**, 2º ed., p.121, 1998.

TATSUOKA, H. ; HAMA, K. Freeze-fracture study of lateral line canal organ of the Japanese sea eel, *Lincozymba nystromi*. **Cell and Tissue Research**, v.249, p.523-531, 1987.

THOMMESEN G. Morphology, distribution, and specificity of olfactory receptor cells in salmonid fishes. **Acta Physiologica Scandinavica**, v.117, p.241–249, 1983.

TORRES, M., GIRÁLDEZ, F. 1998. The development of the vertebrate inner ear. **Mechanisms of Development**. v. 71, p. 5-21,1998.

WALLS, G.L. The vertebrate eye and its adaptive radiation. **Canbrook Institute of Science**, Blomfield Hills, MI, USA, Bull 19, 1942.

WHITFIELD, T. T.; RILEY, B. B., CHINAG, M.Y., PHILLIPS, B. Development of the zebrafish inner ear. **Dev Dyn**; v. 223; p. 427-458; 2002.

WHITFIELD, T.T. Zebrafish as a model for hearing and deafness. **Journal of Neurobiology**, v.53, p.157–171, 2002.

WILKENS, H. Convergent Adaptations to Cave Life in the *Rhamdia Laticauda* Catfish Group (Pimelodidae, Teleostei). **Environmental Biology of Fishes**, v. 62, p.251-261, Numbers 1-3, 2001.

YAMAMOTO, M.; UEDA K. Comparative morphology of fish olfactory epithelium Perciformes, Beryciformes, Scorpaeniformes, and Pleuronectiformes. **J Fac Sci Tokyo Univ sect IV**. v.14, p.273–297, 1979.

YONKOS, L. T., FISHER, D.J., REIMSCHUSSEL, R.; KANE, A.S. 2000. **Atlas of fathead minnow normal histology**. An online publication of the university of Maryland Aquatic Pathobiology Center. Disponível em: <<http://aquaticpath.umd.edu/fhm>> acesso em: 17/08/2011.

ZAKON, H.H. The electroreceptors: diversity in structure and function. In ATEMA, J. FAY, R.R.; POPPER, A. N.; TAVOLGA, W.N. (Ed.) **Sensory Biology of aquatic animals**, New York: Springer-Verlag, p. 813-850, 1988.

ZANIBONI-FILHO, E.; SCHULZ, U.H. Migratory fishes of the Uruguay River. In: CAROLSFELD, J. (Ed.). **Migratory fishes of South America: biology, social importance and conservation status**, Washington, D.C.: The World Bank, p. 135-168, 2003.

ZINE, A.; Romand, R. Developmental of the auditory receptors of the rat: a SEM study. **Brain Research**.; v.721, p. 49-58, 1996.

ANEXOS

Anexo 1. Tabela mostrando os principais eventos ontogênicos de *Rhamdia quelen*, extraída de Rodrigues-Galdino *et al.*, (2009).

Stages of *R. quelen* development

3

Table 1 Periods and stages of development of *Rhamdia quelen* incubated at 21, 24, 27 and 30°C.

Period	Stage	Hours post fertilization (hpf)				Description
		21°C	24°C	27°C	30°C	
Embryo						
Zygote	1	0:00	0:00	0:00	0:00	1 cell - cytoplasm streams toward animal pole to form the blastodisc
Cleavage	2	0:40	0:40	na	na	2 cells - partial cleavage
	3	1:00	1:00	1:00	na	4 cells - 2 x 2 array of blastomeres
	4	1:30	1:15	1:10	1:00	8 cells - 2 x 4 array of blastomeres
	5	2:00	1:30	1:20	1:10	16 cells - 4 x 4 array of blastomeres
	6	2:20	1:40	1:30	1:20	32 cells - 4 x 8 array of blastomeres, cells starts to compact
	7	2:40	1:50	1:45	1:30	64 cells - 2 layers of 32 blastomeres, YSL forms
	Blastula	8	3:00	2:00	2:00	1:45
9		4:00	3:00	2:30	2:00	Mid blastula - 512 blastomeres or more
10		5:00	4:00	3:00	2:30	Late blastula - blastodisc flattening
11		5:30	5:00	4:45	4:00	30% Epiboly - blastoderm highly flattened with uniform thickness; margin reaches 30% of distance between the animal and vegetal poles
Gastrula	12	6:00	6:00	5:15	5:00	50% Epiboly - margins of the blastoderm reaches 50% of distance between the animal and vegetal poles; germ ring and, after, embryonic shield is visible 75% Epiboly - blastoderm covers 75-80% of the embryo; dorsal side is thicker
	13	9:30	6:30	6:00	5:30	Yolk plug - yolk plug in the vegetal pole
	14	10:00	7:30	7:00	6:00	Neurula - blastoderm fully covers the yolk plug closure; neural groove visible; embryo become elliptical
	15	11:00	9:00	8:00	7:00	
	16	11:30	9:30	8:30	7:30	2-3 Somites - the first pairs of somites and optic primordium are visible
Segmentation	17	15:00	11:15	9:00	8:00	6 Somites - brain neuromeres, optic vesicles, nostrils (primordial olfactory organ), and notochord visible
	18	15:30	12:00	10:00	8:30	10 Somites - Kupfer's vesicle and otic placode formation. Optic vesicle more evident 14 Somites - mesencephalon slightly prominent, optic lens, YE barely forming
	19	16:30	13:00	11:00	9:00	18 Somites - otic vesicle, at least 3 hindbrain neuromeres, tail bud begins to protrude, first muscular twitches
	20	17:30	14:00	11:30	10:30	25 Somites - V-shaped trunk somites, side-to-side flexures, tail and YE well extended, otoliths in the otic vesicle, dorsal aorta visible, Kupfer's vesicle disappeared
	21	20:30	15:30	15:00	12:30	
Pharyngula	22	26:00	17:00	16:00	14:30	Early pharyngula - ~30 myomeres, intense motility (embryo rotate inside the chorion), foregut development (but the mouth and the anus remained closed), pericardial cavity visible, mesencephalon divided in two hemispheres
	23	40:00	19:00	18:00	16:00	Mid pharyngula - heartbeat (65-69 bpm), weak circulation, midgut visible, YE disappeared, embryonic fin (dorsal continuous with caudal and anal)
	24	41:00	21:00	19:00	18:00	Late pharyngula - strong afferent and efferent circulation (~80 bpm), ~40 myomeres, embryos folded (1/2 trunk) inside the chorion; chorion deforms with embryo movements, gaps correspondent to the mouth and operculum are visible, midgut visible
Hatching	25	43:00	26:00	20:00	19:00	Hatching - low motility just before hatching, ~100 bpm, no pigmentation
Larvae	26	na	36:00	na	na	Early larva - eye became pigmented, the mouth is a elliptical gap, barbells buds (3 pairs), anal pore and opercula open, pharyngeal pouches start to develop, neuromasts present in trunk and cephalic region

Table 1 (Cont.)

Period	Stage	Hours post fertilization (hpf)				Description
		21°C	24°C	27°C	30°C	
	27	na	66:00	na	na	Middle larva – body became pigmented, longer barbells with small and numerous protuberances (primordial taste buds), maxillary barbells larger than mental barbells, inferior and superior lips become defined
	28	na	90:00	na	na	Late larvae – barbells well developed, taste buds on barbells and lips, protruded jaws, deep nostrils with ciliated cells, yolk sac very reduced, swim bladder inflated, and beginning of exogenous feeding
Post-larvae	29	na	7 dpf	na	na	Yolk sac absent, barbells and fins well developed
Juvenile	30	na	21 dpf	na	na	Buccal and pharyngeal teethes, presence of large thymus, lateral line pores

hpf = hours postfertilization; dpf = days postfertilization YE = yolk extension, YSL = yolk syncytial layer; na = not analysed.

Anexo 2. Certificado de aprovação no Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPR.



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comitê de Ética em Experimentação Animal
(CEEA)



Nº 316

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEEA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno do CEEA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEEA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

PROCESSO: 23075.019887/2008-05

APROVADO:

17/06/2008 – R.O. 05/2008

TÍTULO: Desenvolvimento embrionário e pós-embrionário de peixes: descrição morfológica e estudo dos efeitos das condições ambientais no desenvolvimento de peixes

AUTORES: Flavia Sant'Anna Rios, Lucélia Donatti, Alana Marielle R. Galdino, Paulo César F. Carneiro, Peter Kirschnik, Lúcia Elvira Álvares, Mariana Forati, Camila Valente Maiolino

DEPARTAMENTO:

Biologia Celular

Prof.ª Dr.ª Ana Maria C. Filadelfi
Coordenadora do CEEA