

GUSTAVO VILLANI SERRA

**ESPECTRO DE ABSORÇÃO DA LUZ E MORFOLOGIA
FUNCIONAL DAS LENTES CELULARES NO PEIXE
NOTOTHENIA CORIICEPS RICHARDSON, 1844**

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

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Edith Susana Elisabeth Fanta

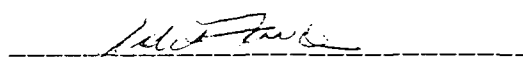
CURITIBA
2002

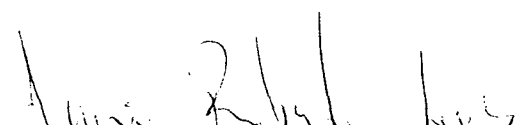
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR


Departamento de Biologia Celular e Departamento de Fisiologia
Setor de Ciências Biológicas
Universidade Federal do Paraná
Instituto de Biologia Molecular do Paraná

PARECER

A Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado “ESPECTRO DE ABSORÇÃO DA LUZ E MORFOLOGIA FUNCIONAL DAS LENTES CELULARES NO PEIXE *NOTOTHENIA CORIICEPS* RICHARDSON, 1844”, de autoria do pós-graduando Gustavo Villani Serra, e com a Banca Examinadora constituída pelos Professores: Dr^a. Edith Susana Elisabeth Fanta (Orientadora e Presidente da UFPR), Dr. Sérgio Roberto Lopes (UFPR) e Dr. Cláudio de Paula Soares Greca – (UFPR). Atribui individualmente as seguintes notas: Dr^a. Edith Susana Elisabeth Fanta, nota: 10,0 (dez); Dr. Sérgio Roberto Lopes, nota: 10,0 (dez) e Dr. Cláudio de Paula Soares Greca, nota: 10,0 (dez). De acordo com as exigências do Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, o candidato foi: aprovado com a nota: 10,0 (dez), para a devida publicação o trabalho deve sofrer as modificações sugeridas. Em Curitiba, 17 de dezembro de 2002.


Dr^a Edith Susana Elisabeth Fanta


Dr. Sérgio Roberto Lopes


Dr. Cláudio de Paula Soares Greca

“A parte da colaboração pessoal do homem na criação do fato científico, é o erro.”

Henri Poincaré

“Que a terra há de comer.

Mas não coma já.

...

A doença não me intimide, que ela não possa chegar até aquele ponto do homem onde tudo se explica.

Uma parte de mim sofre, outra pede amor, outra viaja, outra discute, uma última trabalha, sou todas as comunicações, como posso ser triste? ...”

Carlos Drummond de Andrade

Agradecimentos

Nestas poucas frases de agradecimento, nem a ordem nem o número de linhas gastas corresponde à dívida e aos imensos muito obrigados que devo dar.

Primeiramente me veio à cabeça que devo agradecer à minha Querida Mestra Orientadora: Professora Edith Fanta. Professora muito obrigado pela coragem de aceitar o “patinho feio” da Biologia Celular, um fisico, um verdadeiro estranho no ninho no meio de tantos biólogos. Agradeço a paciência comigo e com meus e-mails. Muito obrigado pela esperança depositada e pelo carinho demonstrado.

Ainda no departamento de Biologia Celular: valeu aos conhecidos, que depois viraram colegas e depois finalmente se tornaram amigos: Gabriel e Luiz Fernando. Muito agradecido pela conversa, conselhos, piadas e principalmente pela amizade, o que foi um dos grandes ganhos nessa minha aventura do mestrado.

Muito obrigado também aos amigos que, se não me ajudaram diretamente a fazer essa tese, com todo certeza me deram um grande apoio psicológico. Pois os momentos de descontração servem para acalmar a mente e deixá-la mais saudável e afiada, situação que é um pré-requisito para qualquer aventura intelectual. Valeu aos amigos-campeões: Marcão, Wanda e Simonão. Muito devo também ao sempre amigo Christian.

Agradeço também aos professores Ciro, Marco e Cláudio, pela ajuda que sempre deram nas horas em que precisei. Valeu também para Marlene e aos demais mestres e funcionários do departamento.

Vale um obrigado também ao “poetinha”, que nas horas mais difíceis sempre foi uma inspiração e uma ilha de calmaria em meio à tempestade, emprestando toda a sua sabedoria e paciência-zen, para nós, os mestrados desesperados.

Importante também é agradecer ao PROANTAR pela espetacular oportunidade que me ofereceu ao fazer a mais linda viagem que fiz. Meus sinceros agradecimentos a todo

peçoal da marinha que deu o apoio necessário para concretizar meu trabalho. Com toda certeza foi uma viagem inesquecível tanto pelo lugar quanto pelas pessoas que lá estiveram.

Um especial agradecimento também, à natureza, a qual aprendi a olhar com outros olhos nessa convivência com os biólogos tanto do departamento quanto da viagem à Antártica.

Claro que devo um muitíssimo obrigado especial aos meus pais, que sempre e a todo momento me apoiaram tanto financeiramente como psicologicamente (antes mesmo “d’eu” saber o que era psicológico). Fiquem sabendo que se consegui isto aqui, devo 99% a vocês. Muito obrigado!

Agradeço também à minha namorada e amante, depois noiva e finalmente esposa: Maria. Valeu pelo carinho e amor. Foi por você também que cheguei até aqui.

Obrigado à minha irmã e ao cunhadão pela amizade dos dois, e por terem me dado o prazer de ser o tio do molecão mais bonito de Curitiba: o meu sobrinho Breno.

Agradecer não é pouco não. Agradecer os outros revela que nós sabemos a grande importância que eles têm em nossa vida, revela que gostamos de sermos ajudados para que assim, saibamos que existem pessoas que nos querem bem. Agradecer os outros é uma forma de dizer: ainda bem que você está do meu lado! Agradecer é uma forma de dizer o quanto gostamos das pessoas, por isso ...

Muito, muito, muito, muito obrigado!!!

Sumário

LISTA DE FIGURAS	VIII
RESUMO	IX
ABSTRACT	X
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Morfologia funcional dos olhos dos peixes	3
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral.....	10
2.2 Objetivos específicos.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 Local de captura dos espécimes.....	11
3.2 Métodos de captura	11
3.3 Laboratório Frio da EACF.....	12
3.4 Material biológico	13
3.4.1 <i>Notothenia coriiceps</i> RICHARDSON, 1844	13
3.5 Processamento histológico.....	14
3.5.1 Coleta de material para estudos morfológicos	14
3.5.2 Medidas no diâmetro das lentes celulares.....	16
3.5.3 Coleta e processamento de material para estudo do espectro de absorvância ...	16
3.5.4 Métodos estatísticos.....	17
4. RESULTADOS.....	23
4.1 Formato da lente celular.....	23
4.2 Tamanho médio das lentes celulares.....	23
4.3 Estudo histológico da lente celular.....	24
4.3.1 Epitélio.....	24
4.3.2 Massa de fibra celular.....	24
4.4 Espectro de absorção da luz.....	25

5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÕES	42
ANEXO	43
1- Soluções e Protocolos	44
Fixadores.....	44
Coloração.....	45
1- Hematoxilina/ Eosina (HE).....	45
2- Hematoxilina Férrica de Heidenhain.....	46
3- Procedimento para microscopia eletrônica.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

Lista de figuras

Figura 01: Continente Antártico	18
Figura 02: Arquipélago das Shetland do Sul	18
Figura 03: Estação Antártica Comandante Ferraz	19
Figura 04: Baía do Almirantado	19
Figura 05: Material de pesca	20
Figura 06: Laboratório frio	20
Figura 07: Vista lateral da <i>N. coriiceps</i>	21
Figura 08: Vista frontal da <i>N. coriiceps</i>	21
Figura 09: Desenho esquemático do olho	22
Figura 10: Eixos da lente celular	22
Gráfico 01: Gráfico comprimento padrão x diâmetro do olho	27
Figura 11: Vista panorâmica da lente celular	28
Figura 12: Epitélio ao redor da lente celular	28
Figura 13: Visão das três camadas do epitélio	29
Figura 14: Visão do epitélio com coloração Hetoxilina-férrica	29
Figura 15: Camada medial do epitélio	30
Figura 16: Camada interna do epitélio	30
Figura 17: Massa de fibras adjacente à camada interna do epitélio	31
Figura 18: Massa de fibras rica em elementos celulares	31
Figura 19: Massa de fibras com coloração Hematoxilina-férrica	32
Figura 20: Fibras em microscopia eletrônica de transmissão	33
Figura 21: Fibras em microscopia eletrônica de transmissão	33
Figura 22: Fibras em microscopia eletrônica de transmissão	34
Figura 23: Elemento celular na região de massa de fibras	35
Figura 24: Perda da simetria e periodicidade na massa de fibras	35
Gráfico 02: Gráfico de absorção no intervalo de 375 a 1075 nm	36
Gráfico 03: Gráfico de absorção no intervalo de 190 a 490 nm	36

RESUMO

A luz exerce grande influência sobre os seres vivos em seu habitat. Os olhos dos peixes são o principal órgão fotoreceptor e o mais complexo órgão sensorial existente. As lentes celulares fazem parte deste órgão e são as principais responsáveis pelo grande poder de refração dos olhos em ambientes aquáticos. As lentes celulares são formadas basicamente por uma família de proteínas que correspondem à cerca de 90% do seu peso seco. A estrutura das lentes celulares é tal que fornece uma grande transparência. O peixe antártico *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844 vive em situações de extremas luminosidade, pois na região antártica há períodos de 24 horas/dia de luz (verão), 24 horas/dia de escuridão (inverno) e períodos intermediários entre estes dois extremos nas outras duas estações do ano (outono e primavera). Os peixes estudados foram coletados no período do verão antártico. Indivíduos de 24,5 a 45,5 cm foram sacrificados, e as lentes celulares extraídas após dissecação dos olhos. Observou-se que as lentes celulares são esféricas e possuem simetria sagital. A análise estrutural revelou que as lentes celulares são compostas por duas partes distintas e discerníveis entre si: um fino epitélio que envolve as lentes por completo e uma massa de fibras celulares que compreende cerca de 98% da lente. O epitélio é formado por três camadas: a camada mais externa muito fina sem presença de elementos celulares; a camada medial mais espessa que a camada externa e também sem elementos celulares; e a camada mais interna que está em íntimo contato com a massa de fibras, é rica em elementos celulares e a responsável pelo metabolismo da lente celular. A massa de fibras é composta por fibras simétricas, periódicas e paralelas entre si. Na região da massa de fibras que fica mais próxima ao epitélio encontrou-se a presença de elementos celulares espalhados aleatoriamente entre as fibras. Estes elementos celulares vão se tornando cada vez mais raros próximos à região central. Na região central não se encontrou nenhum destes elementos celulares. Além disso, próxima à região central, a periodicidade e a simetria da lente também vão desaparecendo. Existe uma relação entre a periodicidade e a simetria das fibras e o índice de refração da lente celular. As características da lente favorecem a formação da imagem na retina e conseqüentemente a capacidade visual destes peixes. O espectro de absorção para comprimentos de onda na faixa que vai do infravermelho ao ultravioleta revelou que no intervalo entre 600 a 800 nm há um gradual aumento de absorbância sem a presença de picos relativos. Acima de 800 nm a absorbância tem uma íngreme queda, e próximo de 1000 nm a absorbância pode ser considerada nula. No intervalo de 190 a 400 nm ocorreram dois picos de absorbância: um em torno de 220 nm e outro próximo de 340 nm. Esta análise revela que as lentes celulares funcionam como filtros de luz, deixando passar certos comprimentos de onda e barrando outros. A retenção de raios na faixa do ultravioleta ajuda a proteger a retina do processo degenerativo causado por estas radiações.

ABSTRACT

Light has a great influence on the living beings in their habitats. In fish, eyes are the main photoreceptors and the most complex sensory organs. Cellular lenses are part of the eyes, and are the main responsible for their great refraction power in the aquatic environment. A family of proteins, corresponding to 90% of their dry weight, form the cellular lenses. The structure of the cellular lenses is such that they are highly transparent. The Antarctic fish *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844 lives in variable light conditions because in Antarctica there are periods of constant light during the summer, constant darkness during the winter and intermediate periods of light and darkness in the other seasons of the year. Fish of standard length 24.5cm – 45.5cm were collected during the Antarctic summer. After their sacrifice, the eyes were dissected out, and the lenses sampled. The cellular lens is spherical, with sagittal symmetry. The structure of the lens shows two distinct portions: a thin epithelium that surrounds the lens completely and cellular fibres comprising around 98% of their mass. The epithelium has three layers: a thin external non cellular layer; a thicker medial non cellular layer; and an internal layer that is in close contact with the fibres, rich in cellular elements, and responsible for the metabolism of the cellular lens. The mass of fibres is composed of periodic, parallel and symmetrical fibres. In the region of the mass of fibres that is closer to the epithelium there are cells spread randomly among the fibres. These cell elements become rare closer to the central part of the lens. In the central part of the lens the cells are absent, and there is no more symmetry and periodicity of the fibres. There is a relation between periodicity and symmetry of fibres and the index of refraction of the cellular lenses. The characteristics of the lens favour the construction of the image at the retina and, consequently, the visual capacity of the fish. The absorption spectrum for wavelengths between infrared and ultraviolet revealed a gradual increase in absorbance between 600 and 800 nm, but no relative peaks. Above 800 nm the absorbance decreases rapidly, reaching zero close to 1000 nm. Between 190 and 400 nm two absorbance peaks were observed: one around 220 nm and the other close to 340 nm. This analysis shows that the lenses are light filters, retaining certain wavelengths. The retention of ultraviolet radiation protects the retina from the degenerative process caused by this radiation, and the vision of infrared may allow *N. coriiceps* to detect the presence of their warm-blooded predators.

1. INTRODUÇÃO

Os órgãos dos sentidos são constantemente estimulados por fatores físicos e químicos existentes no meio ambiente, e transmitem tais informações para o sistema nervoso central, responsável em analisar e processar estas informações.

Sistemas químicos, mecânicos e foto sensoriais atuam de diversos modos para permitir que os animais interajam com o meio ambiente (FANTA et al, 1994; LOKKERBORG et al, 1995; MEYER e FANTA, 1998; MONTGOMERY e MACDONALD, 1987; MONTGOMERY e COOMBS, 1992), onde a relação dos estímulos externos aos quais os animais respondem é bastante extensa.

A ampla variedade de estímulos, causados por diferentes formas de energia, como a energia eletromagnética, a energia química e a energia mecânica, irá sensibilizar através de estruturas acessórias, um ou mais neurônios sensoriais, que possuem propriedades em comum. A informação sensorial é então codificada e transmitida como sinais nervosos e novamente decodificada no sistema nervoso central dos animais superiores.

Apenas uma parte do vasto espectro das ondas eletromagnéticas possui a capacidade de estimular certos órgãos sensoriais especializados em captar e transmitir tais estímulos. Esta pequena faixa do espectro eletromagnético recebe o nome de luz visível ou simplesmente luz. Embora diversos órgãos tenham a capacidade para a fotorecepção, como a pele, a coluna vertebral, o cérebro e o complexo pineal (NICOL, 1963 e 1989; TEYKE e SCHAEEDER, 1994; OMURA e OGURI, 1991; SAMEJIMA et al., 1991), o olho é considerado, na grande maioria dos animais, inclusive os peixes, o principal receptor da luz e o mais complexo órgão sensorial (AIDLEY, 1998).

A energia eletromagnética da luz é emitida e absorvida em pacotes discretos de energia conhecidos como fótons (HETCH, 1982). Nos olhos, as células fotossensíveis da retina (os cones e os bastonetes), devido à existência de pigmentos visuais, absorvem os fótons de luz, desencadeando uma série complexa de eventos químicos e neurais que

podem resultar em uma sensação visual (LEVINE E MACNICHOL JR., 1982; SCHNAPF E BAYLOR, 1987; AIDLEY, 1998). Resumidamente pode-se dizer que o olho forma uma imagem do ambiente na sua camada fotoreceptora, a retina, e transmite as informações desta imagem ao cérebro através do nervo óptico (FENDER, 1964; PADGHAM e SAUNDERS, 1975; LIVINSTONE, 1990).

É através da visão que os peixes percebem à distância predadores ou co-específicos, que localizam alimentos ou presas, procuram por refúgios (FANTA et al, 1991, FANTA e MEYER, 1998) e, além disso, é através da visão que se forma a percepção espacial do meio onde o animal está.

A luz é, portanto, entre os fatores abióticos que determinam as condições físico-químicas do ambiente aquático, a responsável, direta ou indireta, por uma grande variedade de processos vitais. O desenvolvimento do sistema reprodutivo, as migrações verticais, as atividades motoras, as reações de ataque e defesa, a capacidade de percepção da natureza da comida bem como a intensidade de sua presença, o comportamento intraespecífico e interespecífico são alguns exemplos da influência da luz (NICOL, 1963; LEVINE e MACNICHOL JR., 1982; TEYKE e SHAERER, 1994; WHEELER, 1982 e 1979; COLLIN, 1993; HORRIDGE, 1987; FANTA et al., 1991 e 1994; ALI et al., 1968; WOHL, 1990; LOUKASHKIN e GRANT, 1959).

Os peixes em seu habitat estão sujeitos a condições diversas de luz que vão desde o escuro total até ambientes iluminados e coloridos. No primeiro caso temos as cavernas, as regiões abissal ou polar durante o inverno, e no segundo caso temos os ambientes que correspondem à profundidade limite da região fótica, ou seja, até 180 metros de profundidade. O ambiente depende também da cor das águas e das características do fundo e da vegetação.

A evolução histórica dos peixes revela o sucesso de se adaptarem a ambientes com diversos níveis de iluminação e intervalos de espectros da luz (FERNALD, 1993; NICOL, 1963).

Os olhos dos peixes são suficientemente similares àqueles dos vertebrados terrestres de tal modo que várias descobertas nestes animais podem ser extrapoladas, instruindo sobre a estrutura e função dos olhos em outros animais (FERNALD, 1993).

1.1 Morfologia funcional dos olhos dos peixes

Os olhos dos vertebrados podem ser considerados como uma lente dupla convergente que projeta uma imagem real sobre uma superfície sensível à luz (HECHT, 1990). Uma lente convergente é qualquer lente que seja mais espessa no centro do que nas bordas desde que o índice de refração da lente seja maior do que o índice de refração do meio circundante. Com isso na equação dos fabricantes de lentes ter-se-á uma distância focal positiva (daí a lente convergente ser chamada também de lente positiva) (TIPLER, 1995).

A anatomia dos olhos dos peixes tem estrutura básica comum à de todos os vertebrados (WALLS, 1942; MUNZ, 1971). Entretanto uma comparação cuidadosa do tamanho, posição e composição revela diferenças consideráveis entre os animais vertebrados e entre as diversas espécies de peixes (HIBIYA, 1982). As variações que ocorrem nos olhos dos peixes vão desde reduções que tem como consequência a cegueira, até aquelas que possibilitam tanto a visão aquática quanto a visão no ar (MUNZ, 1971).

Os olhos dos peixes são compostos por um notável globo ocular, a córnea transparente, a íris, a retina, a cápsula esclerótica com os humores aquosos, a existência de três pares de músculos oculomotores e as lentes celulares esféricas (LAGLER et al., 1962; GRÖTZNER e FANTA, 1998).

A córnea é formada por fibras colágenas embutidas numa matriz extracelular que contém água, colágenos não fibrosos, proteoglicanos, glicoproteínas, outras proteínas solúveis, sais inorgânicos e células plano-alongadas dispostas geralmente entre as lamelas da córnea chamadas de queratócitos (MEEK E QUANTOCK, 2001).

A superfície transparente e curva da córnea é levemente achatada, diminuindo dessa forma as aberrações esféricas e servindo como um primeiro e mais forte elemento de convergência do sistema de lentes para os animais terrestres (HECTH, 1990). Já, nos olhos dos animais aquáticos não existe o benefício óptico da interface ar-córnea, pois o índice de refração da água ($n_{\text{água}} \approx 1,33$) é muito próximo ao índice de refração da córnea ($n_{\text{córnea}} \approx 1,37$). Desse modo, para os animais aquáticos, o poder de refração da córnea é quase totalmente neutralizado e as lentes devem providenciar toda a potência necessária (HECTH, 1990; FERNALD, 1993; GOSWAMI, et al., 2000).

A retina nos peixes possui na região mais interna os vários elementos neuronais e gliais, que são relativamente transparentes. A luz passa através destes atingindo as células fotorreceptoras ou visuais. Na porção mais externa adjacente à coróide, fica o epitélio pigmentar. Naturalmente, pequenas variações são encontradas entre elasmobrânquios e teleósteos, quanto às proporções de cones e bastonetes e relacionado à ausência de algum destes elementos em determinados grupos ou espécies (WALLS, 1942; ROCHON-DUVIGNEAUD, 1958; GRUBER et al., 1963; HAMASAKI & GRUBER, 1965; TAMURA & NIWA, 1967).

Teleósteos típicos têm tanto cones quanto bastonetes. Entretanto, além dos cones simples ainda podem possuir cones duplos, triplos e quádruplos (ENGSTRÖM, 1963; JANUSHKA et al., 1987; GRÖTZNER e FANTA, 1998; FANTA, 2001 – COMUNICAÇÃO PESSOAL). Em alguns teleósteos não há cones simples (TAMURA, 1957; O'CONNELL, 1963), e em muitos peixes de profundidade os cones estão ausentes (MUNZ, 1971; FANTA et al., 1994).

É conhecido que células visuais não são uniformemente distribuídas na retina. Normalmente há áreas especializadas com concentrações de cones. A organização dos cones na retina pode ser relacionada aos hábitos alimentares das espécies, ou seja, a região de seu campo visual aonde deve ser detectado o alimento (AHLBERT, 1976).

Existem também variações quanto às proporções e densidades de cones e bastonetes na organização geral da retina, que dependem da filogenia do peixe e modificam-se dentro de certos limites, de acordo com a ecologia de cada animal

(AHLBERT, 1976; ENGSTRÖM, 1963; KOHBARA et al., 1987; MUNK, 1989; GRÖTZNER e FANTA, 1998; ALI et al., 1968; MEER, 1992).

As células em bastonetes são especialmente adaptadas para a iluminação de baixa intensidade (visão escotópica), e funcionam para visão periférica e noturna sendo que usualmente contêm apenas um tipo de pigmento visual (LEVINE e MACNICHOL JR, 1982; KUSMIC E GUALTIERI, 2000). Já as células em cones estão adaptadas para iluminação diurna (visão fotópica) e estão relacionadas com a percepção de detalhes e da visão cromática, sendo que nos cones há existência de diversos pigmentos visuais (LEVINE e MACNICHOL JR, 1982; NICOL, 1963; PAULUS et al., 1986; KUSMIC E GUALTIERI, 2000; PAUPOO et al., 2000).

Há ainda alterações no mosaico de cones e bastonetes (KUNZ, 1980). As células da camada mais externa à retina, que constituem o epitélio pigmentar, possuem longos processos que se estendem entre as células visuais e se interdigitam com seus segmentos externos (WALLS, 1942; BRETT, 1957; NICOL, 1963). Em olhos adaptados ao escuro, os grânulos de melanina que estão nestes prolongamentos afastam-se das células visuais. Exposição à luz é seguida rapidamente por migração dos pigmentos para o interior dos processos (BRIDGE, 1972). Além disso, as células visuais possuem uma região contrátil, o mióide, próximo ao elipsóide de bastonetes e cones. Assim, ativamente os bastonetes podem migrar de encontro ou se afastar do epitélio pigmentar, como reação às condições de luz (WELSH & OSBORN, 1937; LEVINSON & BURNSIDE, 1981).

As lentes, chamadas geralmente de “cristalino”, foram primeiramente referidas por Celsus no século primeiro (SPENCER, 1938). As células das lentes desenvolvem-se a partir de células da ectoderme invertida (GRAINGER, 1992), que perdem núcleo, mitocôndrias, complexo de Golgi, retículo endoplasmático e outras estruturas intracelulares grandes o suficiente para espalhar a luz e contribuir para a opacidade da lente (KUWABARA e IMAIZUMI, 1974; PIATIGORSKY, 1981; BASSNETT e BEEBE, 1992). Entretanto GOSWAMI et al. (2000) mostraram a existência de grânulos esféricos distribuídos aleatoriamente nas lentes, cujos tamanhos e distribuição atuam no espalhamento esférico da luz (RAYLEIGH, 1911).

A habilidade de organizar proteínas celulares em um elemento óptico parecido com vidro transparente é única, e surge no desenvolvimento das lentes (CLARK, et al., 1999).

As lentes contêm dois compartimentos morfológicamente distintos e facilmente discerníveis: o epitélio e a massa de fibras celulares. A massa de fibras proporciona às lentes celulares seu fenótipo, função e transparência. Porém, metabolicamente em comparação com as fibras celulares o epitélio das lentes é o compartimento mais ativo (BHAT, 2001).

É preciso ressaltar que, apesar do nome cristalino, estas proteínas não possuem formação de rede cristalina, ou seja, formação de cristais (CLARK, et al., 1999). Entretanto, as fibras das lentes celulares apresentam arranjos simétricos e periódicos (KUSAK, 1995).

A família de proteínas cristalino são encontradas em todas as lentes dos vertebrados sob suas formas: α -, β - e γ - cristalinos (WISTOW e PIATIGORSKY, 1988; BOEMENDAL e de JONG, 1991; de JONG et al, 1994). As lentes celulares são uma incrível estrutura que, apesar da sua alta transparência, são compostos por 30% do seu peso total em proteína (AIDLEY, 1998). Considerando-se apenas o peso seco das lentes, tem-se que cerca de 90% desse peso é devido às proteínas cristalino (SLINGSBY, 1997; CLARK, et al, 1999).

A rápida formação e a alta concentração das proteínas cristalino favorecem uma agregação de proteínas. Em células normais essa energia de interação entre proteínas citoplasmáticas favorece o surgimento de uma fase única, homogênea e transparente (CLARK e BENEDEK, 1980; CLARK, 1994; HIRAOKA et al, 1996).

A potência de uma lente (também chamada de dioptria) mede a sua capacidade de focalizar numa certa distância, a luz paralela que atinge a lente. Por definição quanto maior a dioptria menor será a distância para a focalização em um ponto ou anteparo (HETCH, 1990), e menor, portanto, será a distância córnea - retina. Como as dioptrias de uma lente são inversamente proporcionais à sua distância focal, as lentes celulares devem possuir uma curta distância focal, dessa forma aumentando sua potência e assim minimizando o

tamanho do olho, preservando, portanto, a hidrodinâmica do peixe. Para isso as lentes devem possuir um alto poder de refração (HECTH, 1990; FERNALD, 1993; TIPLER, 1995).

As lentes celulares dos vertebrados possuem um gradiente interno de refração que reduz as aberrações esféricas e aumenta o poder médio de refração das lentes (CAMPBELL e HUGHES, 1981). Este gradiente alcança seu máximo nos olhos dos peixes, cujas lentes são esféricas, com alta claridade e excelente exatidão nas imagens (GORDON, 2000; KRÖGER, et al., 2001).

Além da sua função normal de refração, as lentes atuam como filtros de interferência no olho, reduzindo a reflexão na superfície do olho, ajudando na seleção dos comprimentos de onda e refletindo a luz das regiões fora do espectro de absorção dos fotorreceptores da retina (KENNEDY e MILKMAN, 1956; BERNHARD, et al., 1965; SOMYA, 1976).

A acomodação ou focalização, em peixes, quando ela ocorre, resulta do movimento das lentes esféricas dentro do globo, e não pela mudança do formato das lentes, como ocorre com os vertebrados terrestres. Na maioria dos peixes estudados, a lente move-se aproximadamente paralela ao plano da pupila ao longo do eixo da excentricidade pupilar (FERNALD, 1990).

As características da água afetam a intensidade, a qualidade espectral e a distribuição direcional dos feixes luminosos. Além disso, a água é um canal de transmissão e um suporte entre um estímulo e o detector desse estímulo (MUNTZ, 1990).

A luz do sol, da lua e das estrelas são filtradas pela atmosfera antes de entrar na água. Ao se chocar com a superfície da água a luz pode ser refratada, refletida e também polarizada pela interface ar-água antes de se tornar viável para os peixes. Estas transformações físicas da luz dependem criticamente da interface ar-água (FERNALD, 1993), sendo que no caso da região antártica, a radiação solar é atenuada pela neve, gelo e por comunidades microbiológicas que lá habitam (SULLIVAN et al., 1984).

O ângulo de incidência da luz também é um fator importante na determinação de qual faixa do espectro irá ser refletida ou transmitida. Assim ao amanhecer e ao anoitecer quando a luz incide com ângulos maiores em relação à normal à superfície, a intensidade da luz é menor, deslocando o espectro para comprimentos de onda menores (MUNZ e MCFARLAND, 1977). Interessantemente até comprimentos de onda na faixa do ultravioleta (UV) podem ser detectados e usados por alguns peixes (MCFARLAND, 1986; AVERY et al., 1983).

A região Antártica, devido à sua localização em altas latitudes, está sujeita a diferentes fotoperíodos ao longo do ano e à luminosidade variável, dependendo das condições climáticas. Assim, os animais deverão se adaptar, ajustando suas estratégias de vida (FANTA, et al., 1990).

As condições da Ilha do Rei George, no Arquipélago das Shetland do Sul, apesar de estar localizada ao norte da Península Antártica, propiciam uma rara composição de fenômenos físicos para examinar os notothenioides e as implicações ecológicas dos seus fenótipos (EASTMAN, 1988). Os olhos devem se adaptar a situações extremas de 24 horas de luz durante o verão e dias com 24 horas de escuridão durante o inverno, e aos fotoperíodos intermediários nas duas outras estações, o outono e a primavera. Assim sendo, os peixes que ali se encontram apresentam diversos ritmos de atividades de acordo com o regime de luz (FANTA et al., 1994 e 2000).

A fauna de peixes antárticos é composta por uma única subordem, Nototheiinoidei (DEWITT, 1971; IWAMI, 1985), fazendo parte desta fauna os peixes *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844 não apresentam evidências morfológicas de extremas especializações ou reduções no que diz respeito à visão (EASTMAN, 1988; GRÖTZNER e FANTA, 1998; DONATTI e FANTA, 1999).

Com exceção dos estudos na organização da retina (MEYER-ROCHON e KLINE, 1982; GRÖTZNER e FANTA, 1998; DONATTI e FANTA, 1999), movimento dos olhos (MONTGOMERY e MACDONALD, 1984; MONTGOMERY e MCVEAN, 1987) e anti-congelantes oculares (TURNER et al., 1985) pouco é conhecido sobre os olhos dos

notothenioides. Esta carência é mais acentuada ainda no que diz respeito à morfologia funcional das lentes celulares.

A estrutura individual, bem como o arranjo resultante das interações das proteínas das lentes, são de grande importância no entendimento das bases moleculares da transparência das lentes (BENEDEK, 1971) e no surgimento da catarata (HARDING, 1991).

A avaliação das características morfológicas que possibilitam a atuação física das lentes celulares é fundamental para que se compreenda melhor as possibilidades da visão em peixes antárticos em seu habitat.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Estudo da morfologia funcional das lentes celulares no peixe antártico *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844.

2.2 Objetivos específicos

- Análise histológica da lente celular do peixe antártico *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844 através de microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão;
- Determinação do espectro de absorção da lente celular do peixe antártico *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844;
- Relacionar os dados morfológicos obtidos com suas respectivas consequências físicas no espectro de absorção da lente celular do peixe antártico *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de captura dos espécimes

Compreendendo todas as terras ao Sul do paralelo de 60° S, a região antártica tem cerca de 14 milhões de Km^2 , equivalente à área correspondente da soma dos territórios do Brasil, Argentina, Uruguai, Chile, Peru e Bolívia (figura 01). Está isolada dos outros continentes pelas regiões austrais dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico.

Na região antártica encontramos uma das mais abundantes comunidades biológicas marinhas do planeta.

A Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) está localizada na Península Keller, na Baía do Almirantado, na Ilha do Rei George, arquipélago das Shetland do Sul, na posição de latitude $62^{\circ} 05' \text{ S}$ e longitude $58^{\circ} 24' \text{ W}$ (figuras 02, 03 e 04).

Instalada em seis de fevereiro de 1984 a EACF, atualmente, é composta por mais de 60 módulos do tipo contêineres de aço corrugado, compreendendo além dos módulos de vivência, laboratórios adequados para a manutenção de organismos marinhos vivos e para a realização de estudos com material biológico.

Os espécimes foram coletados em diversas localidades na Baía do Almirantado: Refúgio 1 e 2, Punta Ulmann (na enseada Makellar), Ipanema (próximo à península Keller), Punta Stenhouse (na enseada Martel), Arctowsky (junto à estação polonesa) e Smok Point (lado oposta à estação Comandante Ferraz na enseada Martel) (figura 04).

3.2 Métodos de captura

As coletas foram realizadas de 3 formas: com rede de espera, com rede do tipo arrasto e através de pesca com linha e anzol (figura 05).

As coletas com rede de espera foram feitas com uma rede tri-malha do tipo “feiticeira”, deixada em profundidade de 50 a 80 metros, por um período mínimo de 18 horas.

A pesca com rede tipo arrasto realizou-se nos mesmos locais da rede de espera, porém com profundidade máxima alcançada pela rede durante o arrasto de 20 metros. Esse tipo de pesca acarretou a captura de poucos peixes em raras ocasiões.

A pesca com linha e anzol foi realizada somente em Arctowsky, porém foi a modalidade de pesca em que mais peixes da espécie *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844, foram coletados.

Os espécimes coletados eram levados vivos à EACF em tambores plásticos com capacidade de 50 litros, com água constantemente aerada.

3.3 Laboratório Frio da EACF

Os peixes coletados foram separados por espécies e transportados para o laboratório frio da EACF que é constituído por módulos do tipo contêiner contendo três tanques com capacidade de 1000 litros e um sistema de refrigeração de ar, onde ajustou-se a temperatura ambiente para $0^{\circ}\text{C} (\pm 0,5^{\circ}\text{C})$ (figura 06).

Os tanques têm um suprimento de água direto do mar feito através de uma bomba de sucção com mangueira coletora colocada à 10 metros de profundidade na linha de frente ao laboratório. Esse sistema permitiu que a água dos tanques fosse trocada diariamente. A aeração foi mantida constante através de um compressor de ar com duas saídas para cada tanque.

A alimentação dos peixes foi fornecida diariamente na forma de anfípodos vivos coletados em frente a EACF e filetes de peixes sacrificados.

No laboratório frio a luminosidade foi controlada com o auxílio de um temporizador programado para 22 horas de luz e 2 horas de escuro, simulando dessa forma as condições naturais do verão Antártico.

A avaliação da condição da água nos tanques era realizada diariamente, medindo-se a temperatura, a salinidade, as concentrações de nitrito/nitrato e a concentração de amônia. Verificou-se que o pH manteve-se entre 7,2 e 8,0; a salinidade ficou quase sempre constante, em torno de 35 ± 1 ‰; e os níveis de nitrito/nitrato e amônia ficaram na faixa de 0 ± 1 ‰, o que corresponde ao ideal de concentração.

3.4 Material biológico

A fauna dos peixes Antárticos é composta por uma única sub-ordem, Notothenioidei (DEWITT, 1971; IWAMI, 1985), caracterizados por possuírem barbatanas pélvicas cada uma com uma espinha e cinco raios ramificados; uma narina de cada lado, três espículos peitorais. A sub-ordem Notothenioidei é composta por quatro famílias e aproximadamente 100 espécies (NELSON, 1984).

A família Nototheniidae é caracterizada por possuir membranas das guelras unidas; boca protáctil; espinha dorsal das barbatanas presentes. A subfamília Nototheniinae apresenta o corpo coberto de escamas, as membranas das guelras formam uma cobertura sobre o istmo e é composta por cinco gêneros com aproximadamente 48 espécies.

3.4.1 *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844

Identificado e classificado sistematicamente da seguinte forma (NELSON, 1984; FISHER e HUREAU, 1985):

Classe: Osteichthyes

Subclasse: Actinopterygii

Ordem: Perciformes

Sub-ordem: Notothenioidei

Família: Nototheniidae

Subfamília: Nototheniinae

Gênero: *Notothenia*

Espécie: *N. coriiceps*

O corpo é robusto e bastante largo nos espécimes maiores, cabeça grande e ligeiramente achatada (figura 07 e 08). Possui cor cinza escura, amarronzada na parte superior sendo mais clara na região ventral, com marcas irregulares cinza-escuro na região posterior e nas laterais.

É encontrado, geralmente desde águas profundas até águas rasas próximas à praia, na maioria das costas das ilhas sub-Antárticas (FISHER e HUREAU, 1985).

Não é comercialmente explorado até o presente momento, porém com grande potencial.

3.5 Processamento histológico

3.5.1 Coleta de material para estudos morfológicos

Após um período de 10 dias de aclimatação 44 animais foram sacrificados com seccionamento da medula espinhal, seguida de descerebração.

Em seguida foram realizadas medidas anatômicas em cada espécie, sendo coletado: peso (entre 1600 e 212 g), comprimento total (entre 45,0 e 24,5 cm), comprimento padrão (entre 20,4 e 40,5 cm), comprimento da cabeça (entre 7,97 e 5,4 cm), distância intraorbital (entre 3,41 e 2,00 cm), comprimento da cabeça (entre 7,97 e 5,64 cm), largura da cabeça (entre 9,82 e 5,64 cm), comprimento do focinho (entre 1,80 e 0,70 cm), largura da boca (entre 6,09 e 4,75 cm), diâmetro do olho (entre 1,51 e 0,89 cm), comprimento da nadadeira peitoral (entre 10,17 e 5,02 cm), comprimento da nadadeira pélvica (entre 5,80 e 2,60 cm), altura da nadadeira pélvica (entre 2,91 e 2,60 cm), altura do corpo (entre 8,88 e 4,55 cm), altura do pedúnculo caudal (entre 4,26 e 2,01 cm).

Foram feitas também contagens do número de raios das nadadeiras 1º dorsal (5 ± 1), 2º dorsal (35 ± 2), anal (28 ± 2), peitoral (14 ± 2), pélvica (6 ± 1) e caudal (17 ± 2).

Verificou-se, também, que havia presença de escamas no corpo, e não foram encontradas escamas na cabeça.

Na seqüência, os olhos eram retirados juntamente com o nervo óptico e os três pares de músculos oculares (figura 09). Após a remoção dos olhos era realizado novo corte, agora contra a córnea, para a remoção da lente celular.

A remoção cirúrgica das peças foi a mais rápida possível para que as estruturas retiradas não sofressem alterações como a autólise, o ataque bacteriano e a degeneração protéica. As peças retiradas eram lavadas em Solução Salina de Cortland.

As lentes celulares dos olhos direitos foram preparadas para Microscopia Óptica e as lentes celulares dos olhos esquerdos para Microscopia Eletrônica de Transmissão.

As lentes celulares eram fixadas em Fluido de Bouin para a microscopia óptica e em Karnovsky para a microscopia eletrônica de transmissão. O meio de inclusão utilizado para a microscopia óptica foi "Paraplast Plus"® (Sigma) e para a microscopia eletrônica foi Epon-812.

Os cortes realizados para microscopia de luz foram feitos de modo seriado, utilizando o micrótomo Leica – RM2145, com cortes entre 2 a 4 micrômetros, podendo-se assim, separar as regiões mais periféricas das regiões centrais.

Os cortes semi-finos (0,2 micrômetros) e ultrafinos (50 nanômetros) para a microscopia eletrônica de transmissão foram obtidos no ultramicrótomo Leica – Ultracut UCT, com utilização de navalhas de vidro e diamante. Os cortes ultrafinos foram colhidos em telas de cobre de malha 200.

Os protocolos utilizados para os estudos morfológicos são aqueles seguidos pelo laboratório do Grupo de Estudo de Impacto Ambiental (GEIA) do departamento de

Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná. Os protocolos seguidos bem como os preparos das soluções utilizadas encontram-se em anexo.

3.5.2 Medidas no diâmetro das lentes celulares

Através de paquímetros foram feitas medidas no diâmetro das lentes celulares dos olhos esquerdos e direitos em 13 diferentes peixes da espécie, *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844. As medidas eram realizadas ao longo de 2 eixos ortogonais entre si que passavam no centro da lente (figura 10). Cada medida era feita por dois paquímetros e dos 4 valores resultantes (2 de cada eixo) foi tirado uma média do diâmetro da lente.

3.5.3 Coleta e processamento de material para estudo do espectro de absorbância

Após o sacrifício dos animais ($n = 5$) as lentes eram removidas conforme descrito no sub-ítem 3.5.1. As lentes utilizadas para o experimento do espectro de absorbância foram conservadas em glicerina.

No procedimento adotado para a leitura no espectrofotômetro as lentes foram colocadas em cubetas de quartzo com glicerina sendo o controle de leitura uma cubeta sem a lente celular contendo apenas glicerina.

Após as leituras serem realizadas construiu-se dois gráficos com os valores de todas as 5 lentes.

A divisão em dois gráficos nasceu da existência de duas fontes de luz distintas no espectrofotômetro utilizado. A mudança de fonte de luz ocorre quando o comprimento de onda fica em torno de 375 nm.

O espectrofotômetro empregado (Hitachi – U-2001) utiliza uma fonte de luz, que irradia comprimentos de onda no intervalo compreendido entre 190 a 490 nm, e uma diferente fonte de luz que irradia comprimentos de onda no intervalo que vai desde pouco abaixo de 370 até acima de 1000 nm.

Dessa forma foi permitido fazer leituras de absorvância que vão desde o ultravioleta, comprimentos de luz inferiores a 200 nm, até comprimentos de luz que correspondem ao infravermelho (comprimentos superiores a 1000 nm).

3.5.4 Métodos estatísticos

Os dados das medidas coletadas foram transportados para o software Microsoft[®] Excel 2002, onde se calculou os desvios padrões e médios dos valores encontrados.

Fig. 01: Continente Antártico compreendendo todas as terras ao sul do paralelo 60° S, que somam cerca de 14 milhões de km², rodeado pelo oceano Austral.

Fig. 02: Ilha do Rei George, arquipélago das Shetland do Sul na posição: latitude 62° 05' S e longitude 58° 24' W (seta).

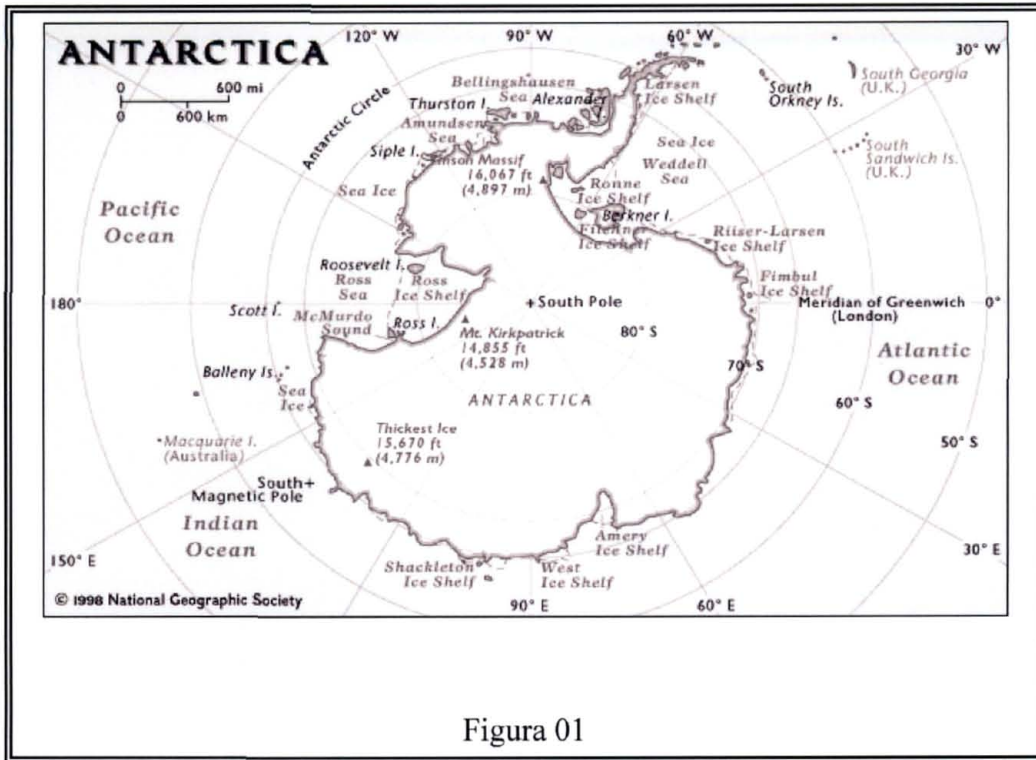


Figura 01

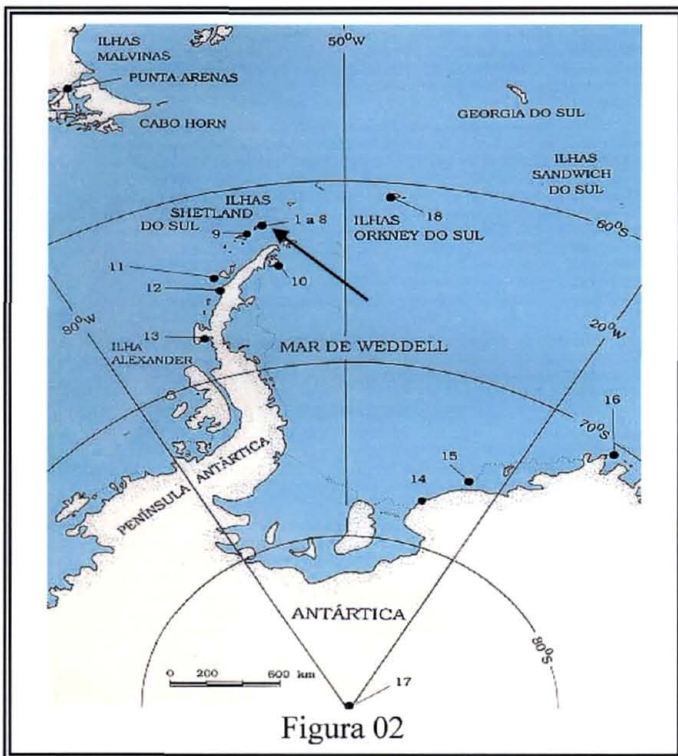


Figura 02

Fig. 03: Vista panorâmica da Estação Antártica Comandante Ferraz.

Fig. 04: Esquema dos pontos de captura próximo à Estação Antártica Comandante Ferraz. Setas indicam os locais de captura da *Notothenia coriiceps* na Baía do Almirantado.

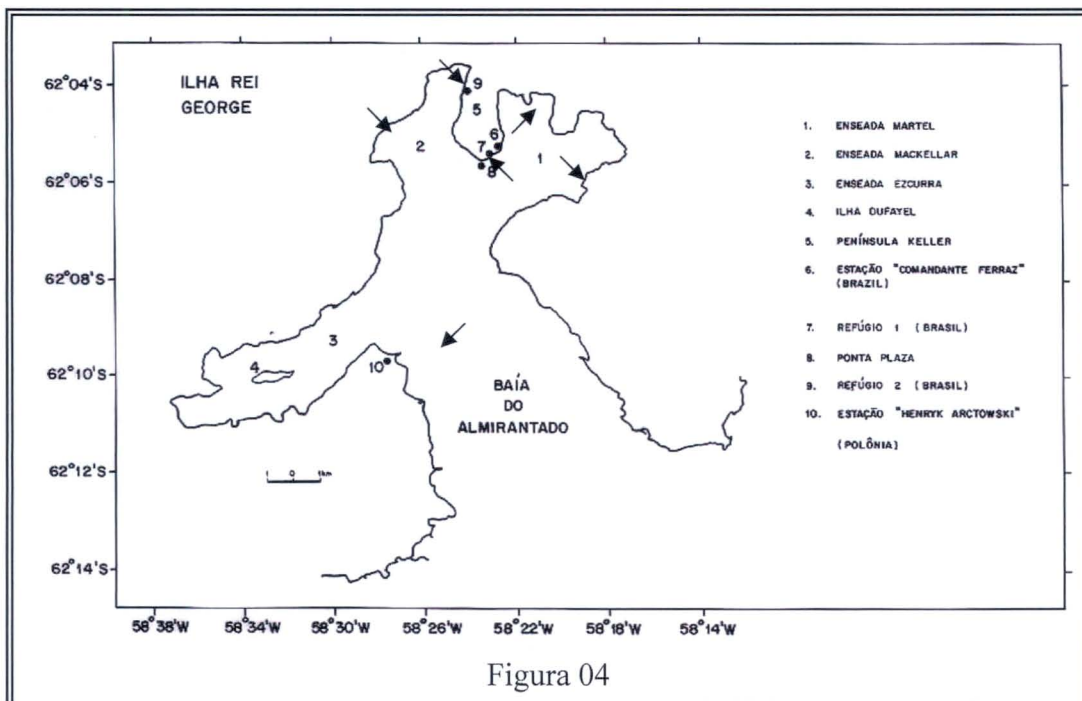


Fig. 05: Material usada para fazer a coleta: pendurado na parede está a rede tipo arrasto (seta), na caixa de “eternit” branca (estrela) está enrolada e pronta para lançar a rede do tipo espera.

Fig. 06: Laboratório frio da EACF que é constituído por módulos do tipo contêiner contendo três tanques com capacidade de 1000 litros (estrelas) e um sistema de refrigeração de ar (seta curva) mantido a temperatura constante de 0°C ($\pm 0,5^{\circ}\text{C}$).



Figura 05

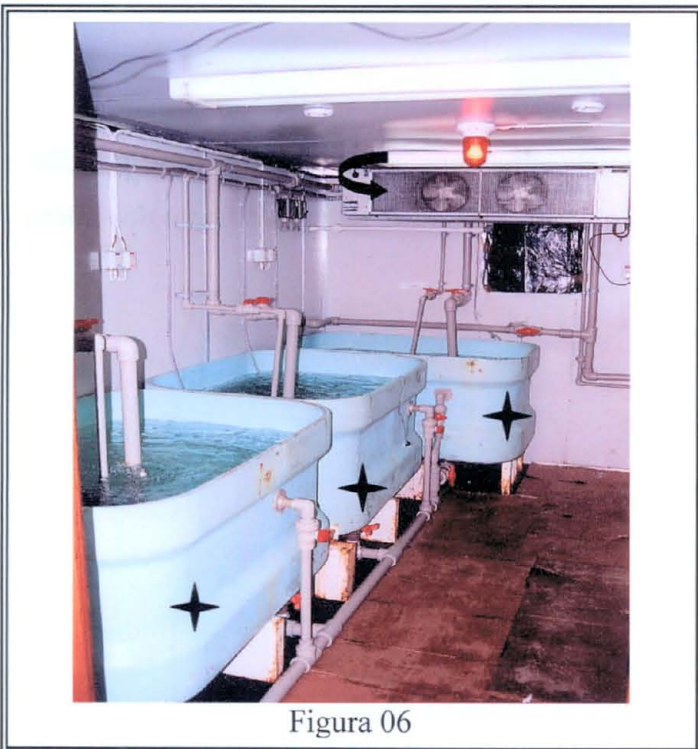


Figura 06

Fig. 07: *N. coriiceps* onde se observa o corpo robusto e bastante largo, possuindo tamanho médio de 30 cm e cor cinza escura amarronzada na parte superior sendo que mais claro na região ventral, marcas irregulares cinza-escuro na parte traseira e nos lados. Setas indicam posição dos olhos.

Fig. 8: A *N. coriiceps* possui cabeça grande e ligeiramente achatada. Notar a posição dos olhos que irá afetar diretamente o campo visual. Setas indicam posição dos olhos.

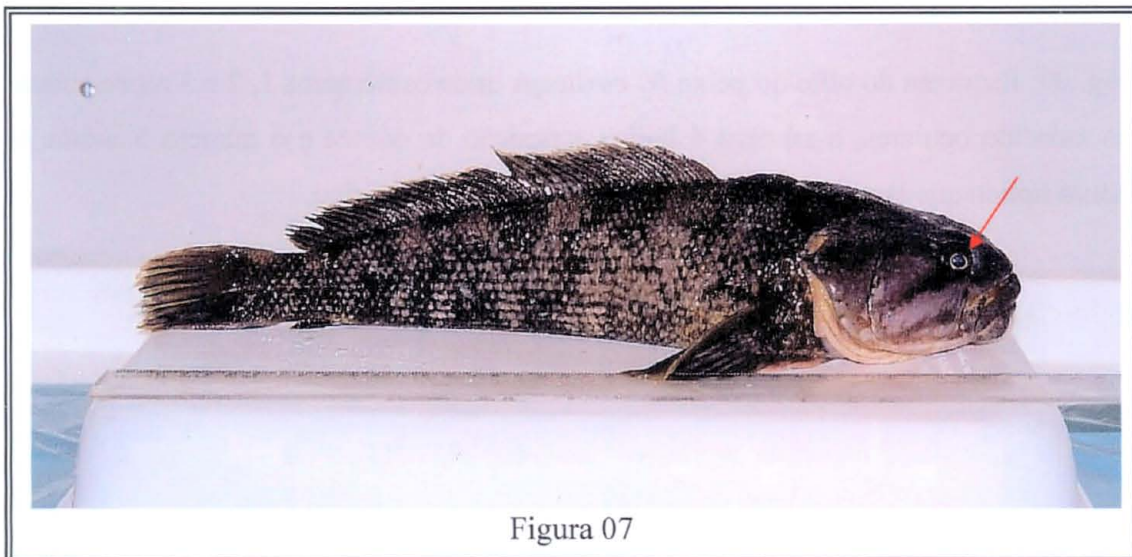


Figura 07

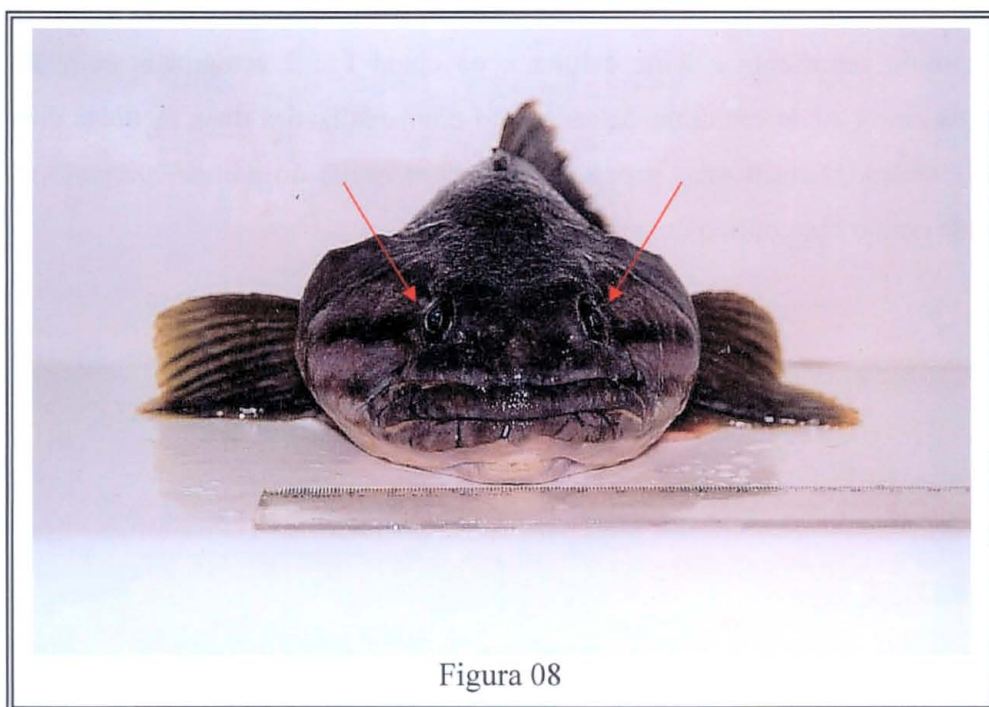


Figura 08

Fig. 09: Esquema do olho do peixe *N. coriiceps* onde os números 1, 2 e 3 representam os músculos oculares, o número 4 indica a posição da córnea e o número 5 indica o nervo óptico que também foi seccionado para a retirada do olho.

Fig. 10: O círculo representa a lente celular e os eixos 1 e 2 ortogonais entre si representam os eixos, onde em cima de cada eixo eram realizadas duas medidas dos diâmetros das lentes. O risco mais grosso representa a retina do animal, portanto o eixo 2 coincide com o eixo óptico do peixe.

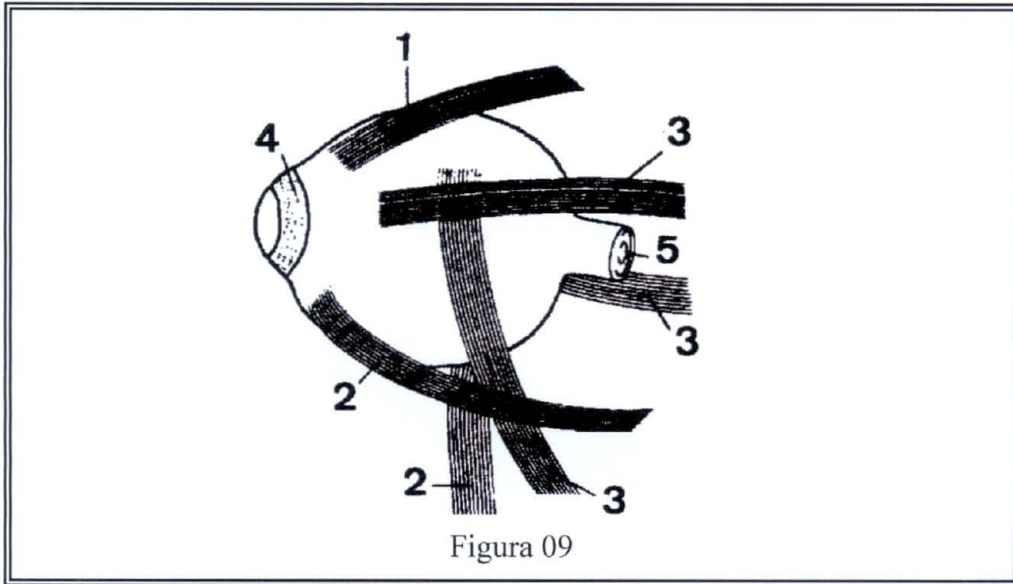


Figura 09

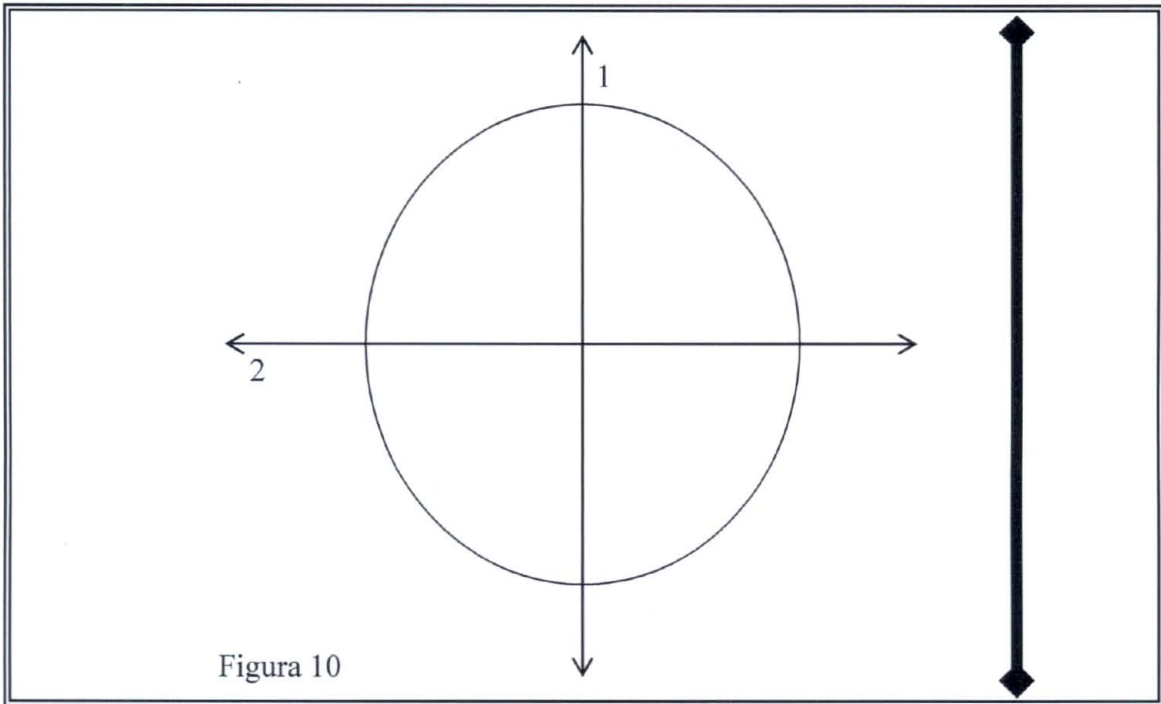


Figura 10

4. RESULTADOS

4.1 Formato da lente celular.

As lentes celulares no peixe *Notothenia coriiceps* possuem forma esférica com excentricidade supostamente igual a zero, já que as medidas nos dois eixos revelaram-se muito próximas uma da outra, com desvio médio inferior a 0,005. Isso mostra que a lente celular do peixe *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844 pode realmente ser considerada uma esfera perfeita.

4.2 Tamanho médio das lentes celulares

A diferença máxima encontrada entre o diâmetro da lente do olho esquerdo com a lente do olho direito foi inferior à 0,006 cm, o que gerou um desvio padrão máximo inferior a 0,007.

Foi encontrado um valor máximo no diâmetro da lente celular de $0,536 \pm 0,001$ cm, quando o comprimento padrão do peixe era de 42 ± 1 cm. O menor valor encontrado foi de $0,359 \pm 0,001$ cm, quando o comprimento padrão do peixe era de 22 ± 1 cm.

As medidas obtidas mostraram uma relação entre o tamanho das lentes e o comprimento padrão do peixe. O gráfico 01 mostra os valores encontrados para as lentes dos olhos direitos com a sua respectiva curva de tendência. A reta formada demonstra que o diâmetro da lente é diretamente proporcional ao comprimento padrão do peixe.

Esta curva de tendência apresenta uma inclinação com valor aproximado de 0,0086. Este valor representa a taxa de variação entre o comprimento padrão do peixe e o diâmetro da lente.

4.3 Estudo histológico da lente celular

4.3.1 Epitélio

Através da microscopia de luz utilizando as colorações: Hematoxilina-Eosina (HE) e Hematoxilina Férrica observou-se a presença de um epitélio fino que envolve toda a parede externa da lente celular (figura 11 e 12). Imediatamente adjacente ao epitélio fica a massa de fibras.

O epitélio das lentes celulares é formado por 3 camadas distintas: a externa, a medial e a interna.

A camada mais externa aparece com uma coloração azul claro transparente quando corada com HE (figura 13). É a camada mais fina das três, desprovida de elementos celulares. Em hematoxilina-férrica (figura 14) esta camada é de difícil visualização devido a sua pequena espessura e nesta coloração confundir-se com a camada medial.

A camada medial é acelular, corando-se em rosa claro com HE (figura 13 e 15) e em cinza-musgo com hematoxilina-férrica. (figura 14). Esta camada possui uma espessura maior que a camada externa.

A camada mais interna cora-se de azul com HE e de um preto transparente em hematoxilina-férrica (figura 14 e 16). Esta camada mantém íntimo contato com a massa de fibras celulares, sendo a mais espessa das três camadas que constitui o epitélio (figura 16). Pode-se perceber claramente os elementos celulares que compõem esta camada tanto em HE quanto com hematoxilina-férrica (figura 14 e 16).

4.3.2 Massa de fibra celular

Em contato direto com a camada epitelial mais ativa metabolicamente e contribuindo com o maior volume da lente celular no peixe *Notothenia coriiceps* encontra-se a massa de fibras (figura 17).

Observa-se em quase toda essa massa a formação de fibras periódicas, simétricas e paralelas entre si. Estas fibras são facilmente visualizadas em microscopia de luz tanto em HE como em hematoxilina-férrica (figura 14 e 17). Em HE estas fibras aparecem sob coloração rosa mais intenso (figura 17 e 18) e em hematoxilina-férrica as fibras colorem em preto (figura 19).

A análise ultraestrutural por microscopia eletrônica de transmissão corrobora as características observadas em microscopia de luz, revelando uma região composta por fibras periódicas, simétricas e paralelas (figuras 20, 21 e 22).

Nas regiões mais periféricas, ou seja, mais próximas à terceira camada do epitélio, nota-se a presença de elementos celulares espalhados aleatoriamente entre as fibras (figura 17, 18 e 23). À medida que se afasta do epitélio, mais próximo à região central das lentes, esses elementos celulares vão se tornando mais afastados um do outro e mais raros de se encontrar. Na região mais central não foi observado nenhum elemento celular. Em microscopia eletrônica não se conseguiu visualizar nenhum destes elementos celulares.

Uma mudança no arranjo simétrico e periódico na massa de fibras é notada quando os cortes seriados aproximam-se do centro e quando num mesmo corte a massa de fibras se afasta do epitélio. Essa mudança mostra-se através da perda da periodicidade e da simetria das fibras (figura 24).

4.4 Espectro de absorção da luz

Os gráficos 02 e 03 representam a curva produzida pelos valores de absorbância da lente com o respectivo comprimento de onda.

O gráfico 02 mostra a variação de absorbância nos comprimentos de onda de 375 a 1075 nm, e o gráfico 03 mostra a variação de absorbância entre os comprimentos de onda 190 e 490 nm.

No intervalo que compreende 375 a 1075 nm, a absorvância atinge um valor máximo de 0,045 no comprimento de onda 837 nm (gráfico 02).

A partir de 875 nm a absorvância vai diminuindo gradativamente ao se aumentar o comprimento de onda, chegando a zero no comprimento de onda 1061 nm. Nesse intervalo observou-se um aumento gradual de absorvância que ocorre entre os comprimentos de onda 600 a 800 nm (gráfico 02).

Durante o intervalo 375 a 1075 nm não houve registro de nenhum pico relativo de absorvância (gráfico 02).

Entre os comprimentos de onda 190 a 490 nm observou-se um aumento na absorvância quando o comprimento de onda é próximo a 220 nm, atingindo um valor máximo de 0,283 em 214 nm de comprimento de onda (gráfico 03).

Observou-se que em torno de 340 nm existe um pico relativo de absorvância no valor de 0,05 (gráfico 03).

Nota-se que no intervalo de 375 a 1075 nm existe uma variação gradual de absorvância, com ausência de picos relativos. No intervalo compreendido entre 190 a 375 existe a formação de picos e a variação da absorvância fica mais abrupta.

Comparando-se os gráficos 02 e 03, observa-se que os valores da absorvância encontrados no gráfico 02 é em torno de uma ordem de grandeza inferior aos valores encontrados do gráfico 03, ou seja, ocorre uma maior absorvância para comprimentos de onda menores.

Graf. 01: A reta formada demonstra que o tamanho da lente é diretamente proporcional ao comprimento padrão do peixe.

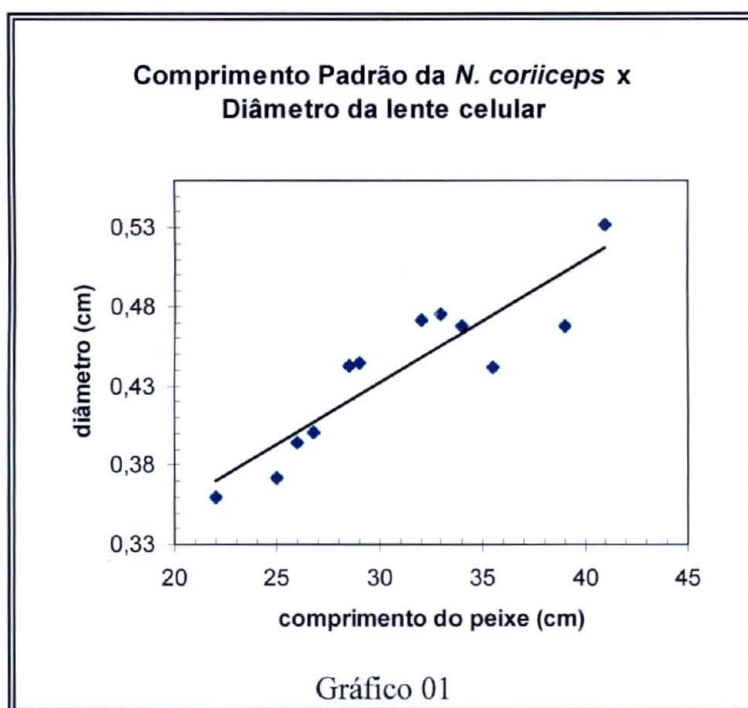


Fig. 11: Vista panorâmica da lente celular. Observar a presença de um epitélio relativamente fino envolvendo toda a parede externa da lente celular (seta). As estrelas indicam a região da massa de fibras. Coloração: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 55 x.

Fig. 12: Notar que o lugar onde termina o epitélio e começa a massa de fibras é facilmente visualizável (seta grossa). Observar também a presença do epitélio ao redor de toda a lente celular (seta fina). As estrelas indicam a região da massa de fibras. Coloração: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 138 x.

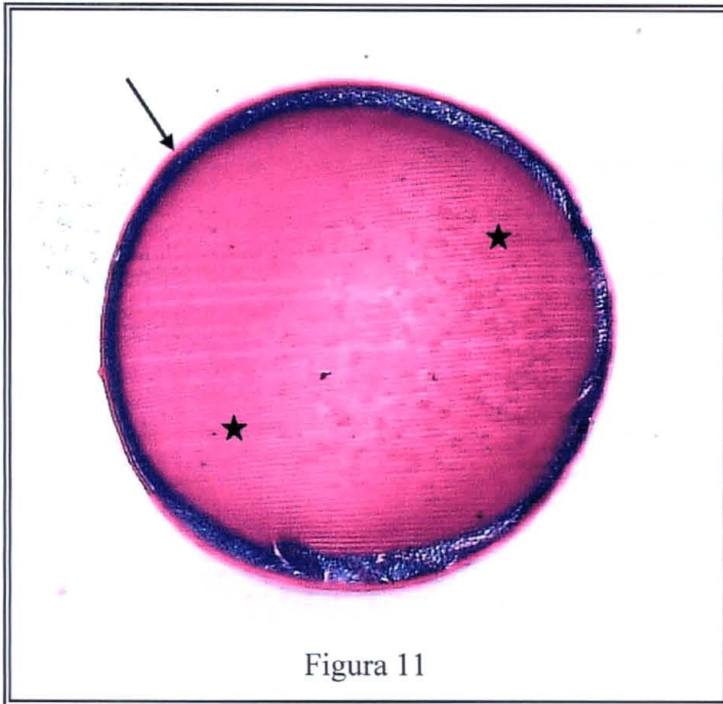


Figura 11

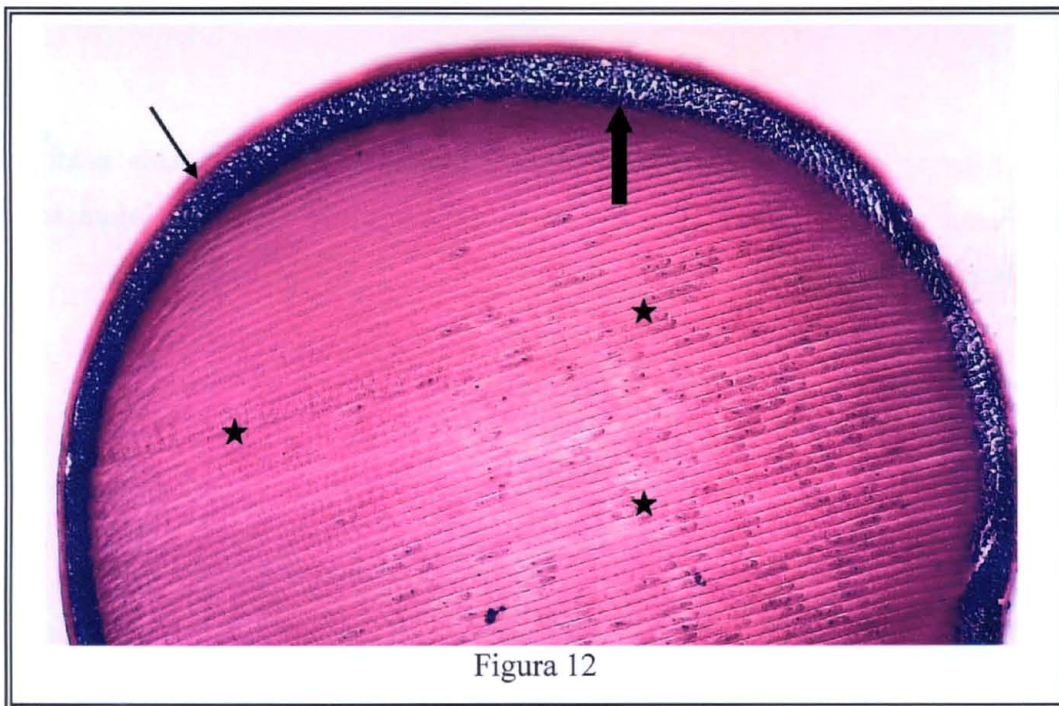


Figura 12

Fig. 13: Observar as três camadas do epitélio, onde a camada mais externa possui uma coloração azul-clara (seta pequena), a camada medial tem um tom rosa claro (seta média) e ambas não possuem elementos celulares. A camada interna é a mais espessa formada e cora-se de azul escuro (seta maior). Coloração: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 276 x.

Fig. 14: Observar que a camada mais externa confundiu-se com a camada medial (estrela). Notar a camada interna (seta) formada de elementos celulares. Coloração: Hematoxilina-Férrica. Aumento: 138 x.

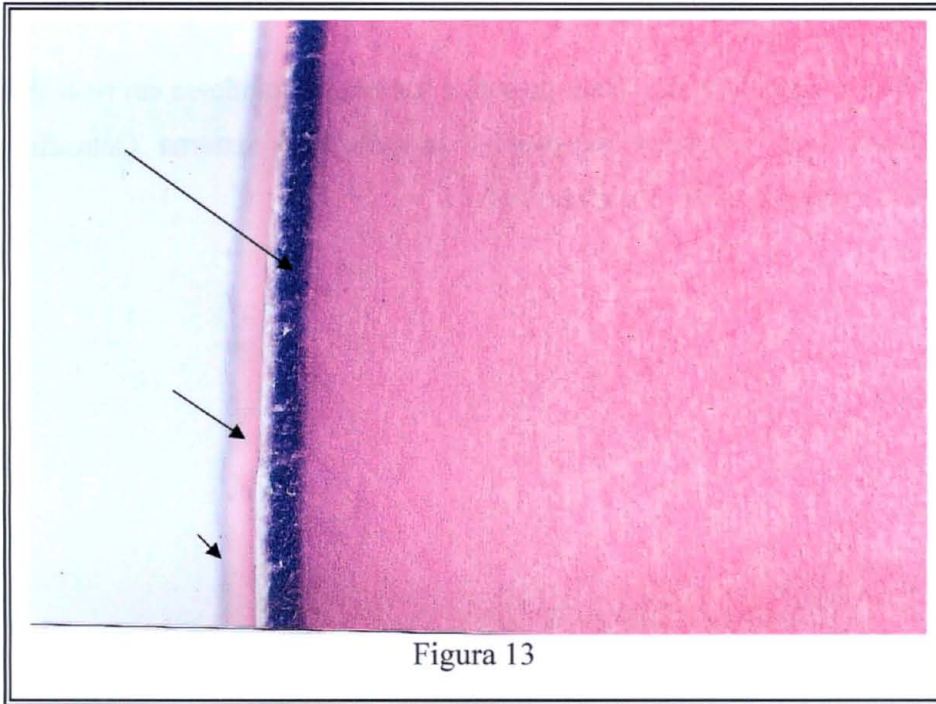


Figura 13

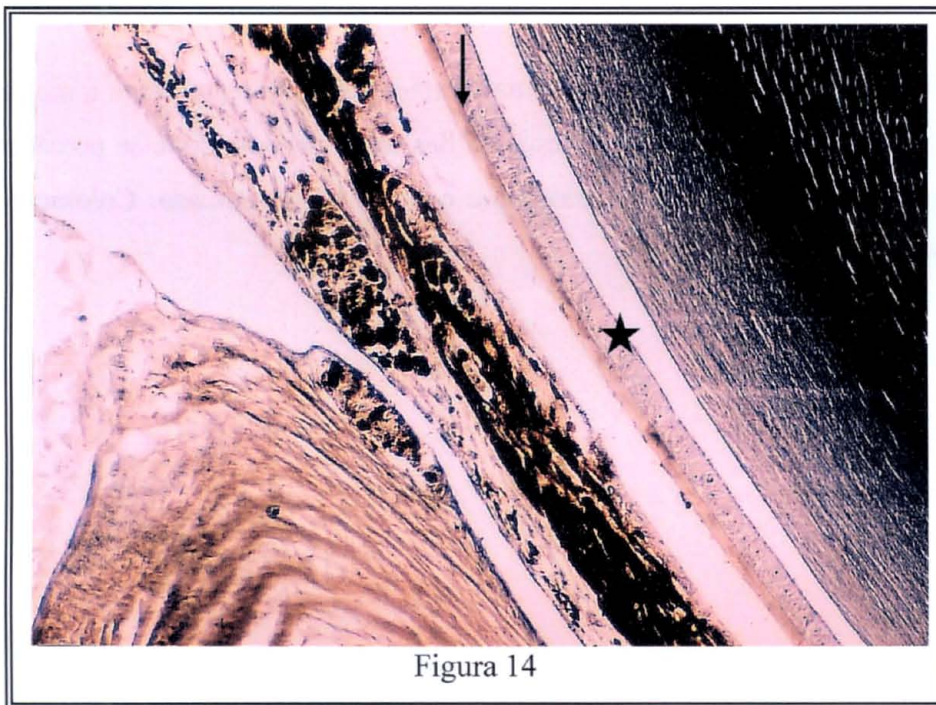


Figura 14

Fig. 15: Notar que a camada medial (seta grossa) é acelular, corando-se em rosa claro com HE e possui uma espessura superior à camada mais externa (seta fina). Coloração: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 552 x

Fig. 16: A camada interna do epitélio (seta fina) mantém íntimo contato com a massa de fibras celulares (seta grossa), é a mais espessa das três camadas. Pode-se perceber claramente os elementos celulares (círculos) que compõem esta camada. Coloração: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 552 x

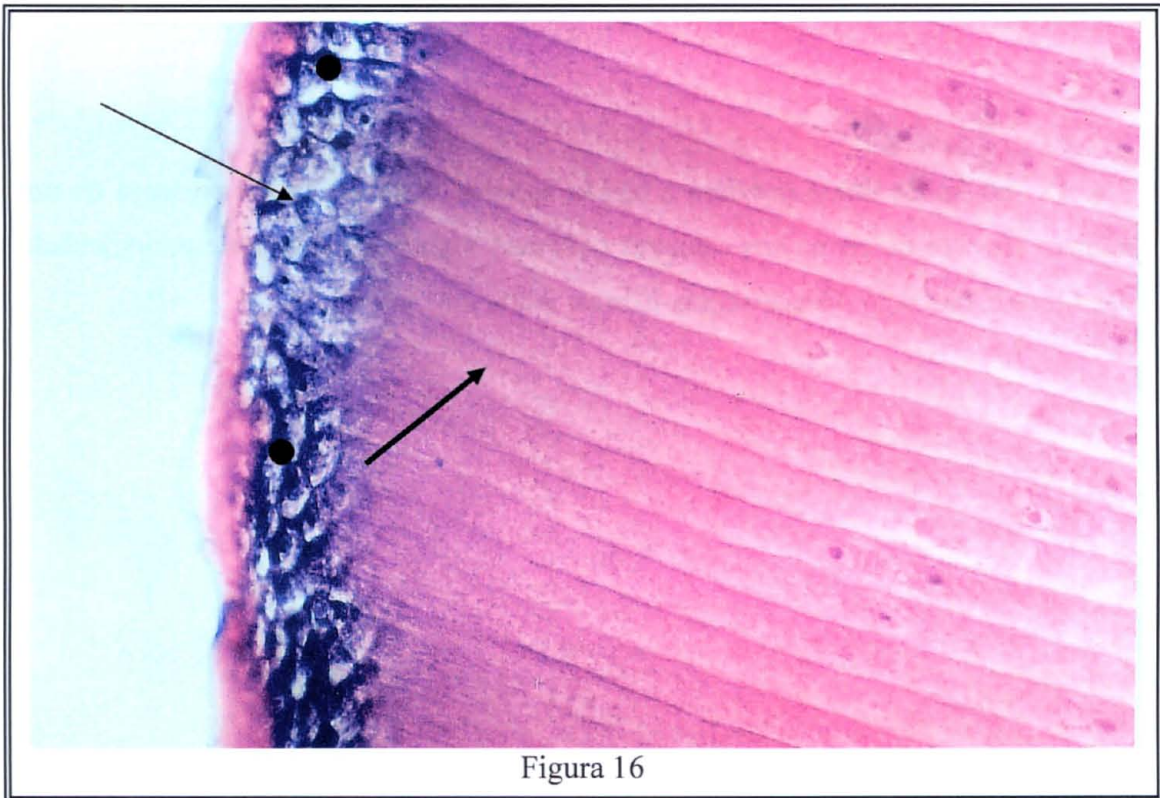
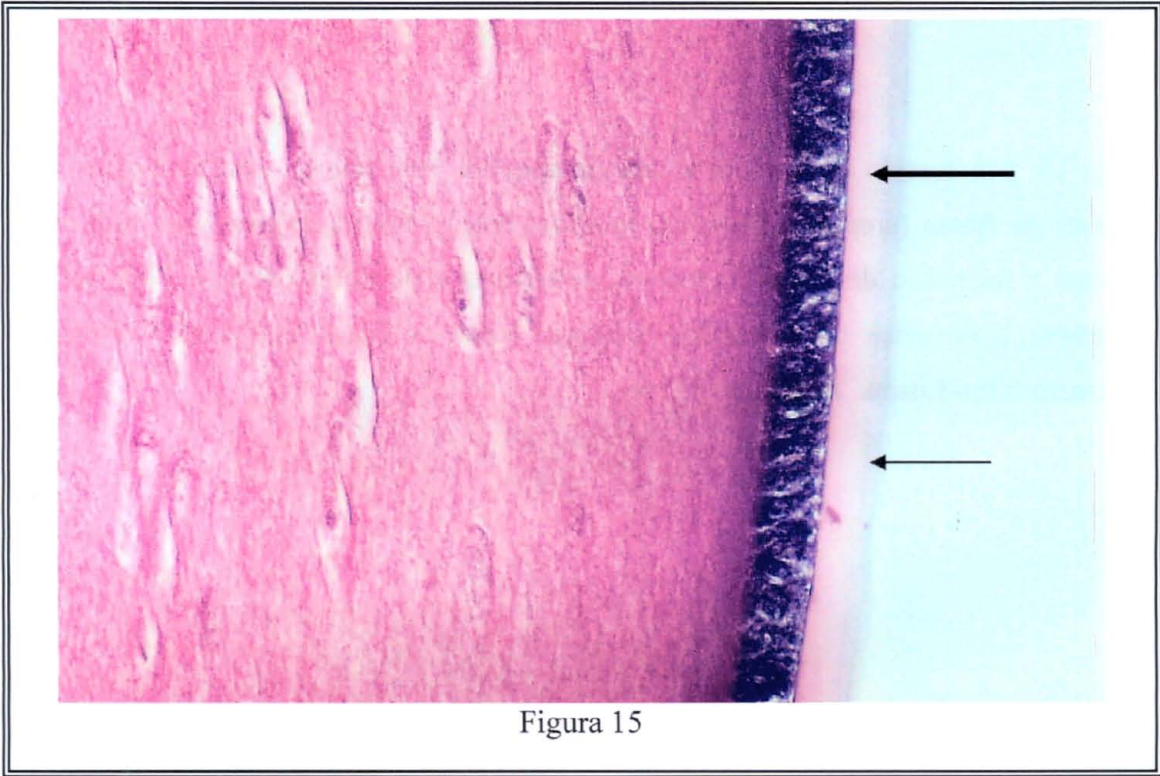


Fig. 17: Em contato direto com a camada epitelial mais interna (seta) encontra-se a massa de fibras (área compreendida pelo colchete) Observa-se em quase toda essa massa a formação de fibras periódicas, simétricas e paralelas entre si. Pode-se ver também a presença de elementos celulares entre as fibras (estrelas). Coloração: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 552 x

Fig. 18: Massa de fibras próxima à região epitelial, onde se nota a presença de um número elevado de elementos celulares (estrelas) e a grande simetria e periodicidade das fibras. Coloração: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 552 x

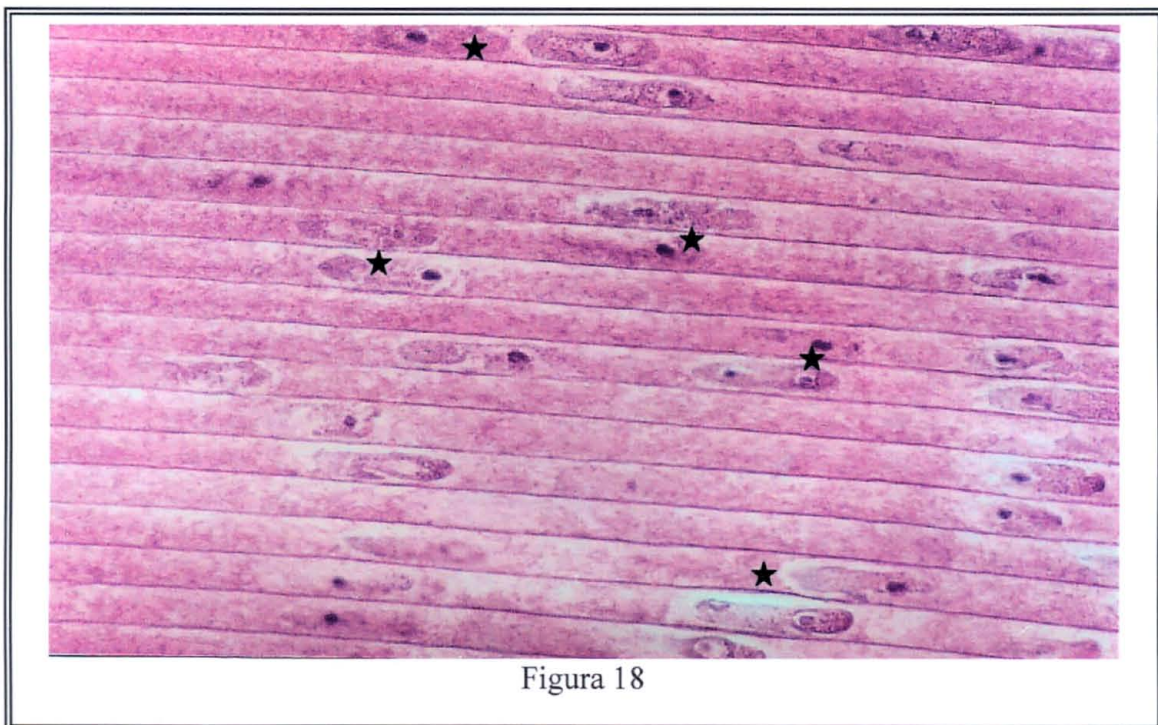
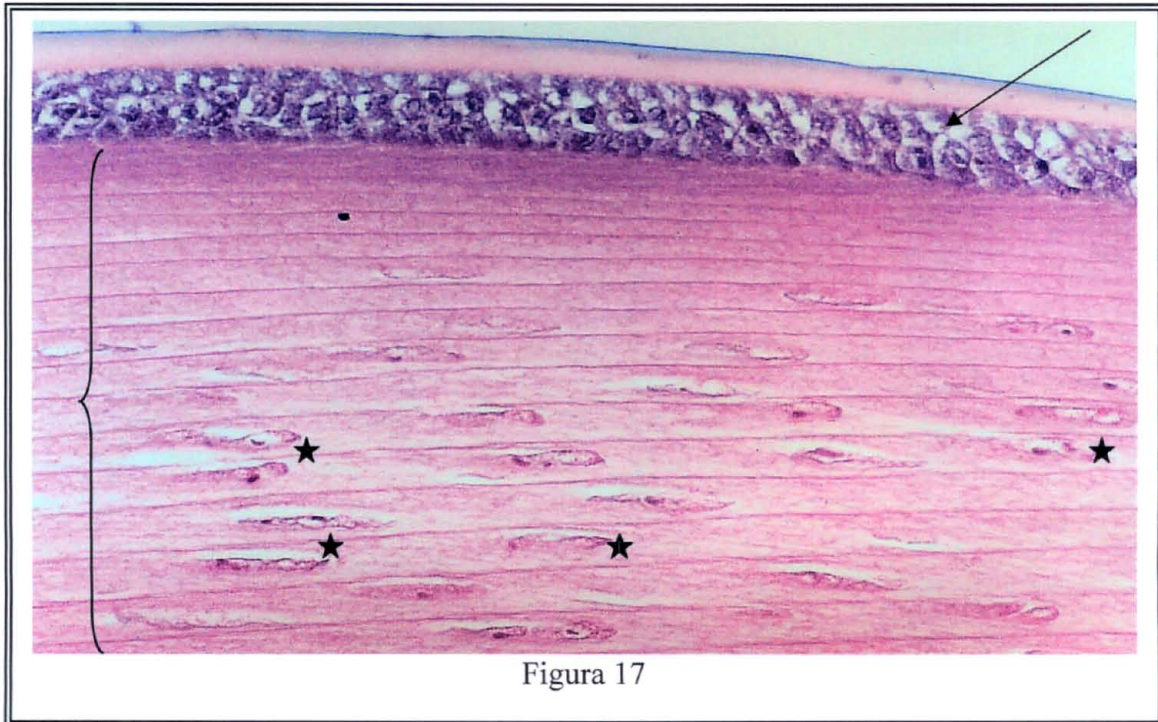


Fig. 19: Notar as fibras com simetria e periodicidade (setas). Coloração: Hematoxilina-férrica. Aumento: 552 x.

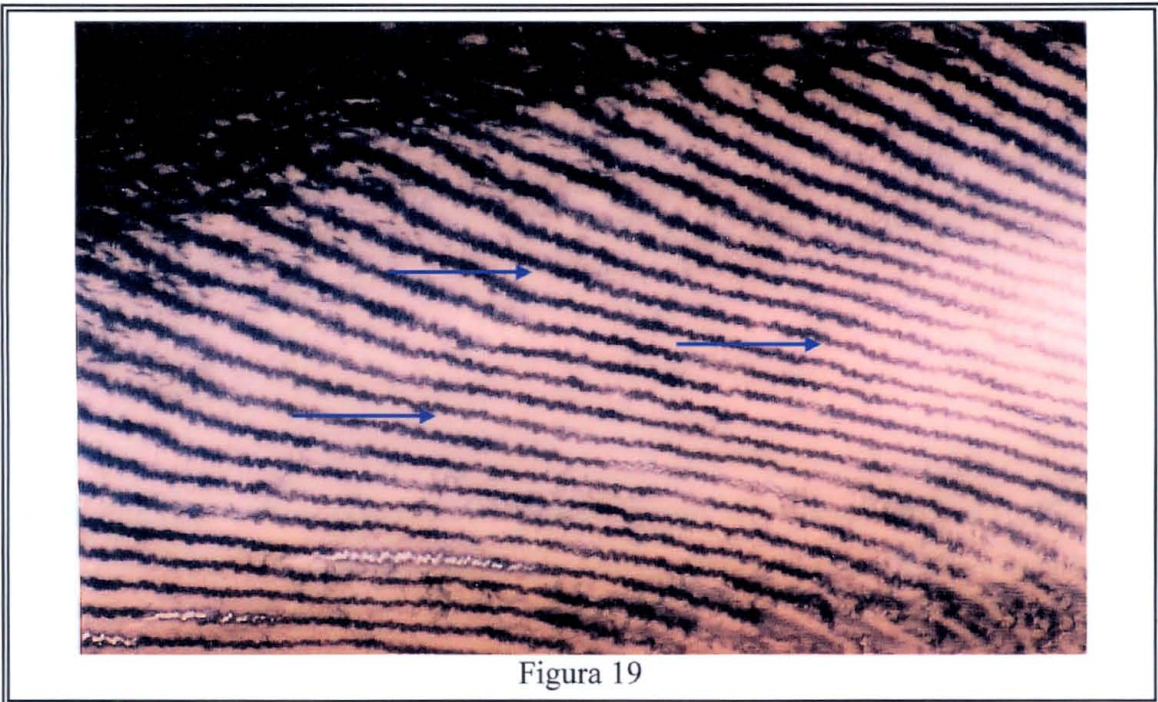


Fig. 20: Eletromicrografia da massa de fibras celular. Observar as fibras periódicas e simétricas (setas). Microscopia eletrônica. Aumento: 12000 x.

Fig. 21: Eletromicrografia da massa celular evidenciando a formação de fibras periódicas e simétricas (setas). Microscopia eletrônica. Aumento: 20000 x.

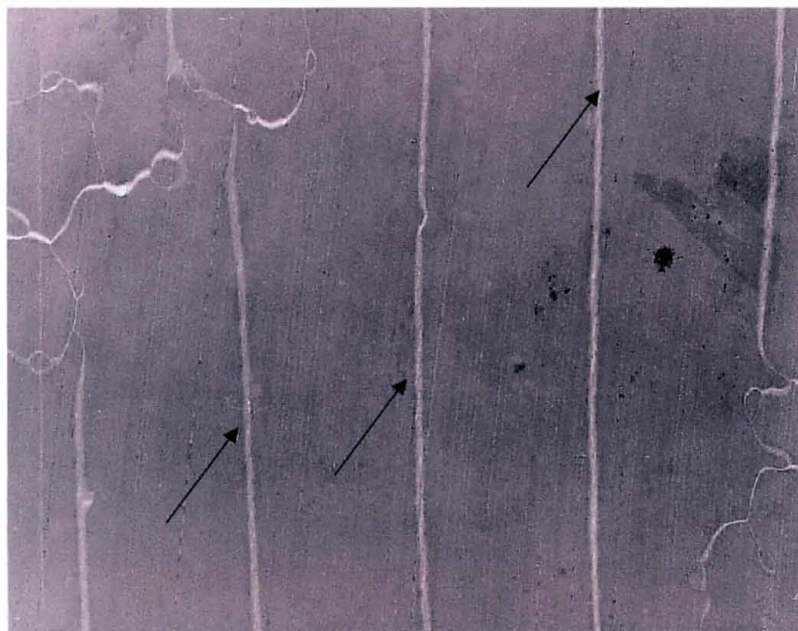


Figura 20

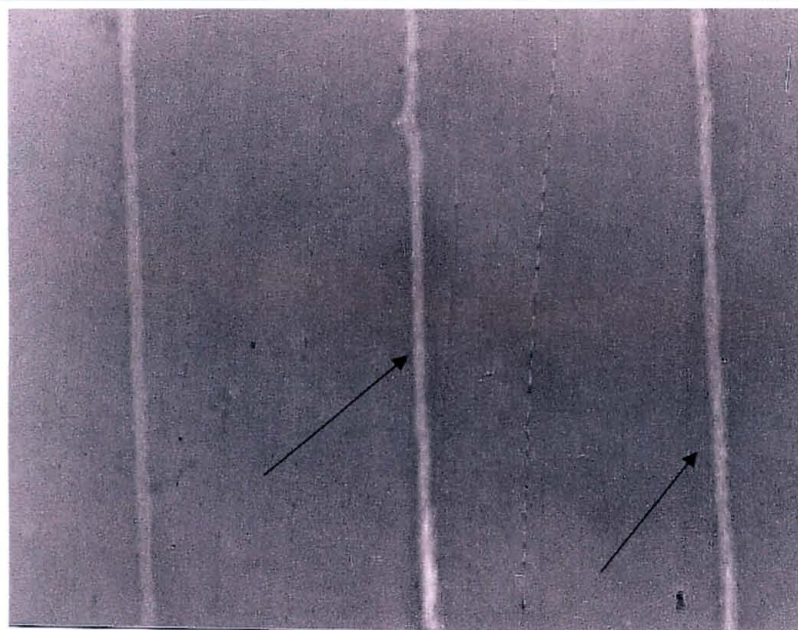


Figura 21

Fig. 22: Eletromicrografia da massa celular evidenciando a formação de fibras periódicas e simétricas (setas). Microscopia eletrônica. Aumento: 70000 x.

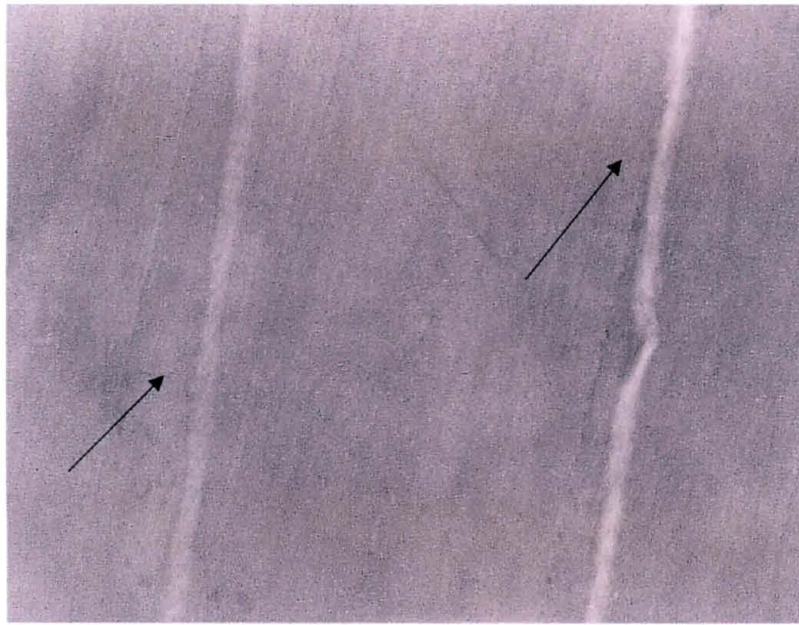


Figura 22

Fig. 23: Massa de fibras celulares próxima à região epitelial. Observar a presença de elementos celulares (estrelas) e a periodicidade e simetria produzida pelas fibras (seta). Coloração: Hematoxilina-eosina. Aumento: 1380 x.

Fig. 24: Massa de fibras em uma região afastada do epitélio, onde se observa o começo da perda de simetria (setas). Notar a ausência de elementos celulares. Coloração: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 552 x

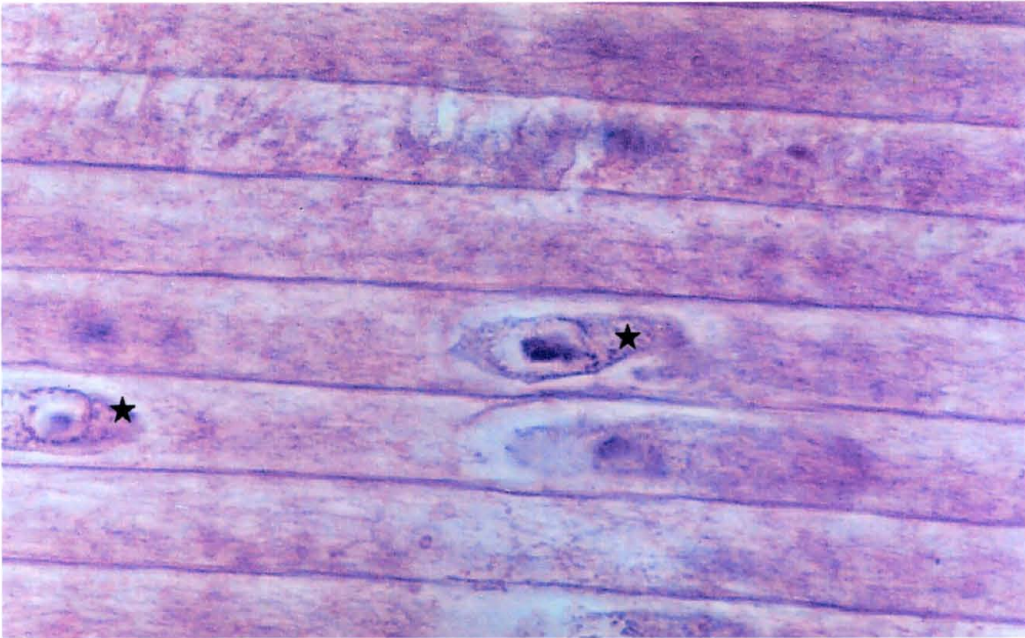


Figura 23

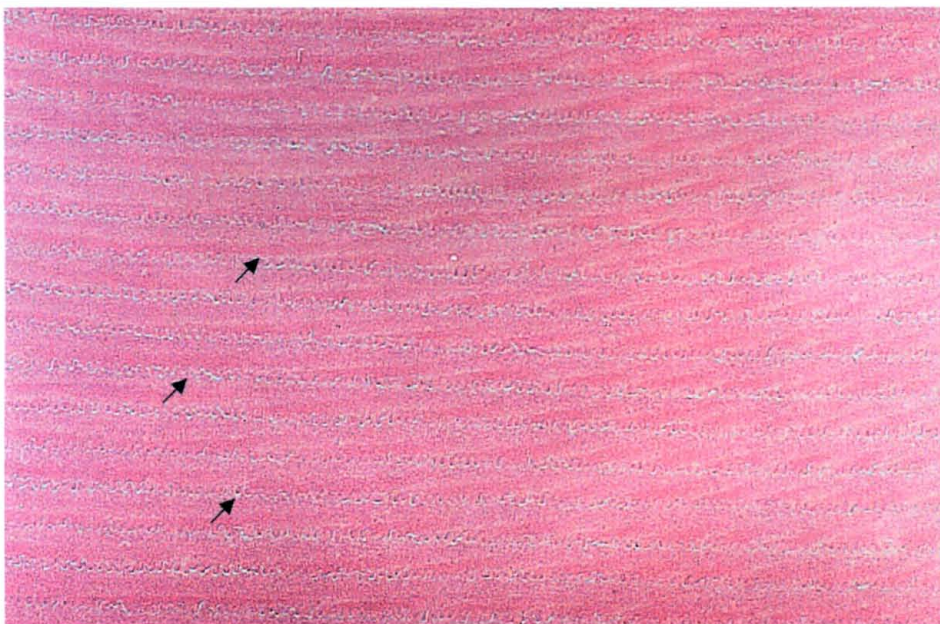
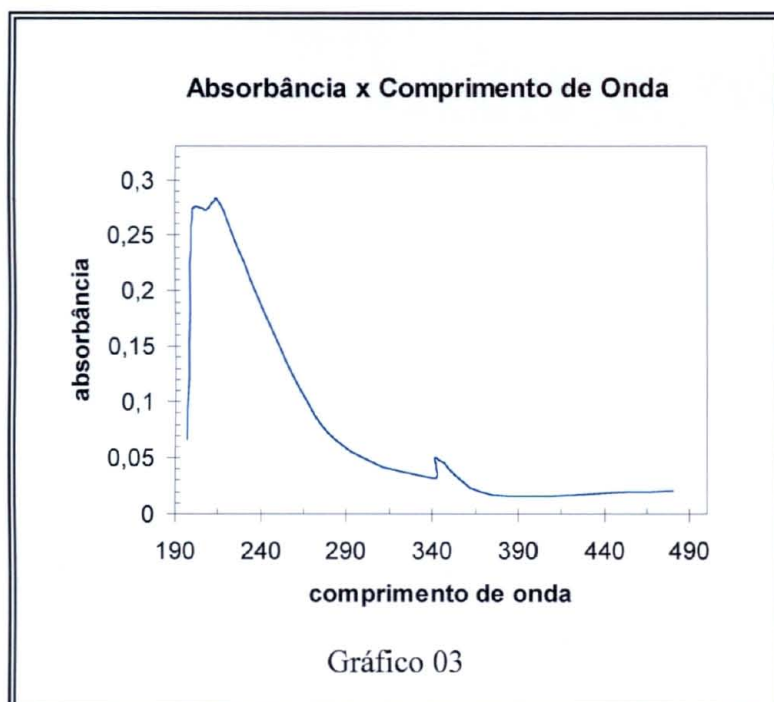
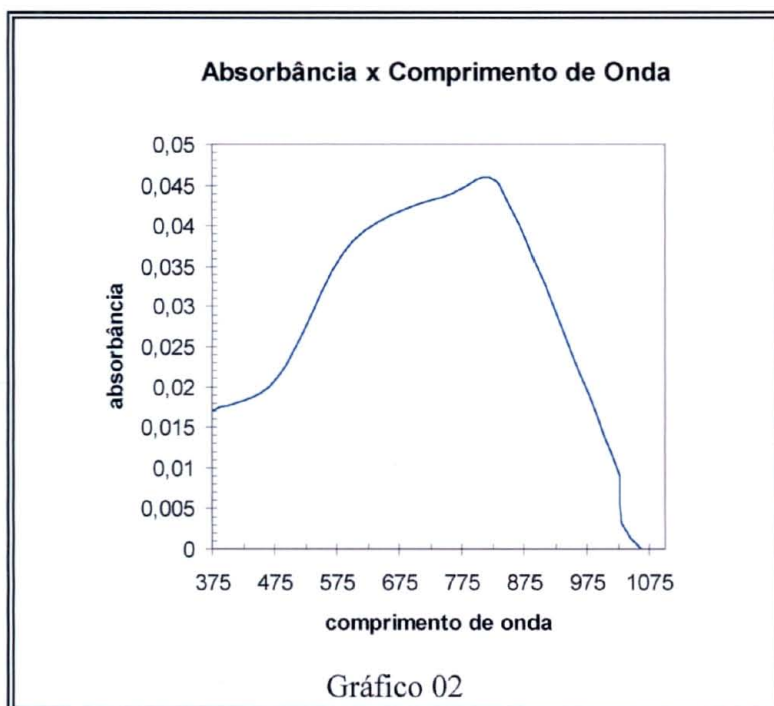


Figura 24

Graf. 02: Observa-se a variação de absorvância nos comprimentos de onda de 375 a 1075 nm. Este gráfico mostra um aumento de absorvância que ocorre entre os comprimentos de onda 600 a 800 nm, atingindo um máximo no comprimento de onda 837 nm. A partir desse máximo a absorvância vai diminuindo gradativamente chegando a zero no comprimento de onda 1061 nm.

Graf. 03: Mostra a variação de absorvância entre os comprimentos de onda 190 a 490 nm. Observa-se um aumento na absorvância quando o comprimento de onda é próximo a 220 nm e nota-se um pico relativo de absorvância que acontece quando o comprimento de onda é em torno de 340 nm.



5. DISCUSSÃO

Entre os fatores ambientais, a luz, é o fator abiótico de maior importância para a vida dos organismos em seu habitat. Conseqüentemente grande parte das características estruturais finais e comportamentais dos seres vivos tem relação com a luz recebida e captada.

As lentes por serem parte do principal órgão receptor de luz nos peixes sofrem a influência da luz de forma direta e rápida. KRÖGER, et al. (2000) mostrou o poder dessa influência e a rapidez de sua atuação.

A radiação solar que atinge a superfície da água é composta por ondas eletromagnéticas que vão desde o infravermelho até o ultravioleta. O uso prático pelos animais de toda essa faixa do espectro eletromagnético está na capacidade dos órgãos sensíveis à luz serem ou não capazes de ficarem estimulados por estas ondas eletromagnéticas.

O presente trabalho teve como proposta principal o estudo morfológico das lentes celulares no peixe *Notothenia coriiceps* RICHARDSON, 1844 e suas respectivas implicações físicas no que diz respeito à visão do peixe. O seu habitat são as águas geladas do continente antártico onde está sujeito a condições extremas de luz (conforme introdução).

Para tal, realizaram-se estudos morfológicos através de microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão, foram feitas medidas dos diâmetros das lentes celulares e do seu espectro de absorbância para os intervalos de luz que correspondem à faixa que vai do infravermelho ao ultravioleta (UV).

Diferentemente dos animais terrestres, sabe-se que as lentes celulares em peixes constituem o mais importante ganho em dioptrias, já que o índice de refração da córnea ($n_{\text{córnea}}=1,37$) é muito parecido com o da água ($n_{\text{água}}=1,33$) (FERNALD, 1993), o que

origina um baixo poder refrativo na interface água-córnea. Isto implica que é na lente celular que ocorre o ganho de dioptrias necessário para a focagem da imagem sob a retina. Ou seja, é a lente celular o principal meio de focagem da luz.

O formato circular junto com o gradiente de refração encontrado nas lentes celulares é o responsável direto pela focagem da luz (JAGGER, 1989). A acomodação nos peixes é realizada através de movimentos da lente perpendiculares ao eixo óptico do peixe, e não por alterações no formato das lentes (FERNALD, 1993). Esses movimentos são realizados pelos três pares de músculos óculo-motores encontrados em todos os peixes (LAGLER et al., 1962; GRÖTZNER e FANTA, 1998). Devido a esses movimentos o peixe consegue mudar o caminho dos feixes luminosos através das lentes esféricas e dessa forma focar objetos em diferentes distâncias de si, ou seja, consegue realizar a acomodação visual.

Os tamanhos das lentes celulares revelaram uma cumplicidade com o tamanho padrão do peixe, ou seja, quanto maior o comprimento padrão do animal maior o diâmetro da lente. Porém essa taxa de variação é relativamente pequena, já que o coeficiente de inclinação da reta (0,0086) é muito pequeno, sendo assim mesmo grandes variações de tamanho acarretam em pequenos aumentos nas lentes celulares.

As lentes direitas e esquerdas possuem o diâmetro muito próximo uma da outra, possuindo um desvio padrão máximo de 0,007, o que demonstra a já esperada simetria direito-esquerdo.

Os espectros de absorção diferem quantitativamente daqueles relatados por GOSWAMI, et. al. (2000), porém qualitativamente os dados são muito próximos. Essa diferença deve estar relacionada às condições físicas e biológicas extremas e especiais em que vive a espécie estudada, pois como sugere KRÖGER, et al. (2000) o desenvolvimento das lentes celulares é sensível à qualidade e quantidade de luz recebida. Sendo assim as condições extremas de luminosidade que ocorrem na região antártica levariam a mudanças significativas (mesmo que imperceptíveis à microscopia de luz) na morfologia das lentes e conseqüentemente a mudanças no espectro de absorção da luz por essas lentes.

Nesse trabalho demonstrou-se a existência de um aumento de absorvância na faixa entre 600 a 800 nm, sendo que nenhum pico foi encontrado nesse intervalo. Foi relatado apenas um aumento gradual e contínuo até o comprimento de onda próximo a 850 nm e acima disso uma queda acentuada até em torno de 1000 nm. Acima de 1000 nm de comprimento a absorvância pode ser considerada zero.

A absorvância próxima a zero nas regiões acima de 1000 nm demonstra uma possibilidade de visão infravermelha, já que as lentes celulares não representam nenhum bloqueio nessa faixa do espectro eletromagnético.

Para comprimentos de onda menores que 400 nm, observou-se um pico de absorvância na faixa de 220 nm e um pequeno pico próximo a 340 nm.

Os valores máximos que foram encontrados de absorvância correspondem à absorvância na faixa do ultravioleta. Assim a lente celular atua também como uma barreira de proteção para esses comprimentos de onda que correspondem a radiações excitantes.

Como a relação entre absorvância e transmitância é inversamente proporcional, e a transmitância passa a idéia da “quantidade” de luz que atinge a retina, observa-se que a lente celular serve como um filtro de luz, participando ativamente da seleção de qual faixa do espectro luminoso é capaz de alcançar a retina.

Os valores de absorvância revelaram-se extremamente baixos, confirmando a transparência visual das lentes celulares e sua capacidade em transmitir a luz para a retina.

Como descrito por BAHT (2001), as lentes celulares possuem um epitélio que as envolve por completo. Este epitélio formado por 3 camadas é rico em elementos celulares o que sugere ser o epitélio o principal responsável pelo metabolismo das lentes, pela conservação da massa de fibras e assim de forma indireta pela conservação da transparência das lentes.

6. CONCLUSÕES

6.1 A lente celular da *Notothenia coriiceps* é esférica e formada por dois compartimentos distintos: o epitélio e a massa de fibras.

6.2 Quanto maior o exemplar de *Notothenia coriiceps*, maior o diâmetro da lente celular.

6.3 O epitélio é composto por 3 camadas distintas. A parte externa é a mais fina e não possui elementos celulares. A camada medial também não possui elementos celulares e é mais espessa que a camada externa. A camada mais interna é rica em elementos celulares e está em íntimo contato com a massa de fibras. Esse epitélio não contribui para o índice de refração da lente celular, devido a sua pequena espessura.

6.4 A massa de fibras ocupa a maior parte da lente celular na *Notothenia coriiceps* e é a responsável pelo poder refratário da lente celular.

6.5 À medida que as fibras caminham para a região central da lente, os elementos celulares vão se tornando mais raros e as fibras vão perdendo sua simetria e periodicidade. No centro da lente celular já não se encontram mais elementos celulares e tanto a periodicidade quanto a simetria das fibras é perdida.

6.6 Existe uma relação entre a periodicidade e a simetria das fibras na *Notothenia coriiceps* com o índice de refração da lente celular.

6.7 O espectro de absorbância das lentes celulares na *Notothenia coriiceps* revelou que existe um aumento gradual de absorbância entre 600 a 800 nm. A partir de 800 nm, aumentando o comprimento de onda da luz, a absorbância cai acentuadamente até atingir um valor próximo a zero em 1000 nm, não impedindo uma visão da faixa do infravermelho.

6.8 No espectro de absorvância da *Notothenia coriiceps* existe um pico de absorvância relativo em 340 nm.

6.9 A espectroscopia de luz da lente celular na *Notothenia coriiceps* no intervalo de 190 a 490 nm mostrou um aumento de absorvância próximo de 220 nm protegendo a retina da incidência de radiação ultravioleta.

ANEXO

1- Soluções e Protocolos

Fixadores

1- Bouin

Solução aquosa saturada de ácido pícrico	- 75 ml
Formaldeído filtrado	- 25 ml
Ácido acético	- 5 ml
Volume total	- 105 ml

Para o preparo da solução aquosa do ácido pícrico, diluir o ácido em água destilada utilizando um agitador magnético durante várias horas até formar uma solução super saturada (cerca de 0,6 g/ml).

2- Fixador Karnovsky

Solução final:

Glutaraldeído	- 2,5%
Paraformaldeído em tampão cacodilato 0,2M, pH 7,2	- 2%

Paraformaldeído 4%

Paraformaldeído	- 1 g
Água destilada	- 25 ml

Agitar sob aquecimento e quando atingir 60° C, adicionar NaOH 0,2M até a solução clarear (3 a 4 gotas).

Pode ser deixado em estoque na geladeira.

Glutaraldeído 25%

Glutaraldeído	- 2,5 ml
Água destilada	- 10 ml

Pode ser deixado em estoque na geladeira.

Tampão Cacodilato 0,8M

Cacodilato (PM=214)	- 1,6 g
Água destilada	- 12,85 ml

Xilol 2	3'
Álcool 100%	3'
Álcool 100%	3'
Álcool 90%	3'
Álcool 70%	3'
Álcool 50%	3'
Lavar com água filtrada 2 vezes	
Lavar com água destilada 2 vezes	
Corar com Hematoxilina	1'
Lavar com água filtrada 2 vezes	
Lavar com água destilada 2 vezes	
Corar com eosina	30''
Lavar com água filtrada 2 vezes	
Lavar com água destilada 2 vezes	
Álcool 70%	3'
Álcool 95%	opcional
Álcool 100%	rapidamente
Álcool 100%	3'
Álcool 100%	3'
Álcool 100% + Xilol (1:1)	3'
Xilol diafanizador	3'
Xilol montagem	3'

2- Hematoxilina Férrica de Heidenhain

Solução A:	Hematoxilina alcoólica	5%
Solução B:	Sulfato férrico amoniacal	5%

Misturar 5 ml da solução A em 45 ml de água destilada e deixar amadurecer cerca de 3 a 4 semanas antes do uso. Após esse tempo misturar com 50 ml da solução B.

Procedimento:

Xilol 1	3'
---------	----

Xilol 2	3'
Álcool 100%	3'
Álcool 100%	3'
Álcool 90%	3'
Álcool 70%	3'
Álcool 50%	3'
Lavar com água filtrada 2 vezes	
Lavar com água destilada 2 vezes	
Corar com Hematoxilina Férrica	1'
Lavar com água filtrada 2 vezes	
Lavar com água destilada 2 vezes	
Álcool 70%	3'
Álcool 95%	opcional
Álcool 100%	rapidamente
Álcool 100%	3'
Álcool 100%	3'
Álcool 100% + Xilol (1:1)	3'
Xilol diafanizador	3'
Xilol montagem	3'

3- Procedimento para microscopia eletrônica

Tetróxido de ósmio

Trabalhando sempre na capela e sob proteção de máscara e luvas, quebrar uma ampola de OsO₄ de 1 g em 25 ml de água destilada, obtendo assim OsO₄ 4%. Para obter OsO₄ 2% dilui-se em tampão cacodilato 0,4M na proporção 1:1.

Resina EPON

Solução A

EMBED 812	76,5 ml
DDSA	123,5 ml

Agitar por 30 minutos no agitador magnético e manter a solução na geladeira lacrada com parafilm(o magneto é mantido dentro do vidro da solução).

Solução B

EMBED 812 158,7 ml

NMA 141,3 ml

Agitar por 30 minutos no agitador magnético e manter a solução na geladeira lacrada com parafilm (o magneto é mantido dentro do vidro da solução).

Solução útil

Solução A 10 ml

Solução B 15 ml

DMP-30 0,25 ml (aproximadamente 10 a 15 gotas)

Conservar a o DMP-30 em geladeira, porém utilizá-lo em temperatura ambiente.

O Epon da pré-infiltração não tem o DMP-30, somente a solução A + B. Retirar o Epon da geladeira cerca de 2 horas antes do uso e antes de utilizá-lo agitar manualmente por 10 minutos.

Material estando em Karnovsky segue-se o seguinte protocolo:

Lavar com tampão cacodilato 0,2M	3 vezes
Osmio 2%	1 hora
Lavar com tampão cacodilato 0,2M	1 vez
Lavar em água destilada	1 vez
Uranila 2%	2 horas
Lavar em água destilada	1 vez
Álcool 50%	2 vezes de 5'
Álcool 70%	2 vezes de 5'
Álcool 95%	2 vezes de 10'
Álcool 100%	3 vezes de 10'
Álcool 100% + acetona (1:1)	10'
Acetona 100%	2 vezes 15'
Acetona + epon (1:1)	1 h 30'
Epon	overnight

Dia seguinte faz-se a inclusão com o epon definitivo para a inclusão e coloca-se na estufa por 72 horas para a polimerização da resina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHLBERT, I. Organization of cone cells in the retina of salmon (*Salmo salar*) and trout (*Salmo trutta trutta*) in relation to their feeding habits. **Acta Zool. Stockholm**, 57, p. 13-35, Estocolmo, 1976.

AIDLEY, D. J. **The physiology of excited cells**. 4 ed., 1998.

AL-AHDALI, I. H.; EL-MESSIERY, M. A. Examination of effect of fibrous structure of lens on the optical characteristics of the human lens eye: a computer-simulated model. **Applied Optics**, vol. 34, no. 25, 1995.

ALI, M. A.; ANCTIL, M.; MOHIDEEN, H. M. Structure rétinienne et la vascularisation intraoculaire chez quelques poissons marins de la région de Gaspé. **Can. J. Zool.**, Ottawa, v. 46, p. 729-750, 1968.

AVERY, J. A.; BOWMAKER, J. K.; DJAMGOZ, M. B. A.; DOWNING, J. E. G. Ultraviolet sensitive receptor in freshwater fish. **J. Physiol. London**, 334, 23, 1983.

BASSNETT S., BEEBE, DC. Coincident loss of mitochondria and nuclei during lens fiber cell differentiation. **Dev. Dyn.**, 194, p. 85-93, 1992.

BELIAKKOV, G.; CHAN, D. Y. C. Analysis of inhomogeneous optical system by the use of ray tracing. II Three-dimensional systems with symmetry. **Applied Optics**, vol. 37, no. 22, 1998.

BENEDEK, G. B. Theory of Transparency of the Eye. **Appl. Optics**, 10, p. 459-473, 1971.

BERNHARD, C. G.; MILLER W. H.; MOLLER, A. R. The insect corneal nipple array. **Acta Physiol. Scand.**, 63 (Suppl 243), p. 1-79, 1965.

BHAT, S. P. The ocular lens epithelium. **Bioscience Reports**, 21 (4), p. 537-563, 2001.

BLOEMENDAL, H.; de JONG, W. W. Lens proteins and their genes. **Prog. Nucl. Ac. Res. Molec. Biol.**, 41, p. 259-281, 1991.

BRETT, J. R. **The sense organs: the eye** In: BROWN, M. E. (Ed.) **The physiology of fishes**, vol. II, Behavior, p. 121-154, New York, Academic Press, 1957.

BRIDGES, C. D. B. **The rhodopsin-porphyrin visual system**. In: **Handbook of sensory physiology**, Ed. Dartnall, 1972.

CAMPBELL, M. C. W. Measurement of refractive index in an intact crystalline lens. **Vision Res.**, vol. 24, no. 5, pp. 409-415, 1984.

CAMPBELL, M. C. W.; HUGHES A. An analytic, gradient index schematic lens and eye for the rat which predict aberrations for finite pupil. **Vision research**, 21, p. 1129-1148, 1981.

CLARK, J. I. Lens cytoplasmatic protein solutions: analysis of a biologically occurring aqueous phase separation. **Methods Enzymol.**, 228, p. 525-537, 1994.

CLARK, J. I.; CLARK, J. M.; CLARK, J. I.; MATSUSHIMA, H.; DAVID, L. L. Lens cytoskeleton and transparency: a model. **Eye**, 13, p. 417-424, 1999.

CLARK, J. I; BENEDEK, G. B. Phase diagram for cell cytoplasm from the calf lens. **Biochem. Biophys. Res. Commum**, 95, p. 482-489, 1980.

COLLIN, S. P. The visual system of florida garfish, *Lepisosteus platyrhincus* (Ginglymodi). **Brain Behav. Evol.**, Basel, v. 42, p. 295-320, 1993.

DE JONG, W. W.; LUBSEN, N. H.; KRAFT, H. J. Molecular evolution of the eye lens. **Progress in Retinal and Eye Research**, 13, p. 391-442, 1994.

DEWITT, H. H. Coastal and deep-water benthic fishes of the Antarctic. **Antarct. Map Folio Sr.**, 15, p. 1-10, 1971.

DONATTI, L.; FANTA E. Morphology of the retina in the freshwater fish *Methynniss roosevelti* Eigenmann (Characidae, Serrasalminae) and the effects of monochromatic red light. **Revta. Bras. Zool.**, 16 (1), pp. 151-173, 1999.

EASTMAN, J. T. Ocular morphology in Antarctic notothenoid fishes. **Journal of Morphology**, 196, p. 283-306, 1988.

ENGSTRÖM, K. Structure, organization and ultrastructure of visual cells in the teleost family labridae. **Acta Zool.** 44, p. 1-41, 1963.

FANTA, E.; GRÖTZNER, S. R.; LUVIZOTTO, M. F.; ISHIDA, M. L.; WACHOWICZ, L. M. P. The environmental impact and the behavior of antarctic fish: I- Light. In: Scar International Conference on "Antarctic Science-global Concerns". **Proceedings**. Bremen, 1991.

FANTA, E.; LUCCHIARI, P. H. & BACILA, M. Circadian rhythm of oxygen consumption and oxygen levels in the muscle of *Notothenia neglecta* (Pisces, Teleostei). **Comp. Biochem. Physiol.** 96, p. 1512-155, 1990.

FANTA, E.; MEYER, A. A. Behavioural Strategies for feeding of six species of the Antarctic fish family notheniidae (Pisces, Notothenioidei) in a tank. **Nankyoku Shiryô (Antarctic Record)**, 42, no. 3, pp. 227-243, 1998.

FANTA, E.; MEYER, A. A.; GRÖTZNER S. R.; LUVIZOTTO, M. F. Comparative study on feeding strategy and activity patterns of two Antarctic fish: *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902, and *Gobionotothen gibberifrons* (Lönnerberg, 1905) (Pisces, Notothenioidei) under different light conditions. **Nankyoku Shiryô (Antarctic Record)**, 38, no. 1, pp. 13-29, 1994.

FENDER, D. H. Control mechanisms of the eye. **Sci. Am.**, New York, 211 (1), p. 24-33, 1964.

FERNALD, D. R. **Vision**. In: DAVID H. EVANS (Ed.) **The physiology of fishes**. p. 161- 189, Florida, 1993.

FERNALD, R. D. **The optical system of fishes**. In: **The visual system of fishes**. DOUGLAS, R. H. e DJAMGOZ, M. B. A., Ed. Chapman and Hall, New York, 1990.

FISCHER, W.; HUREAU, J. C. **FAO Species identification Sheets for Fishery Purposes. Southern Ocean (Fishig areas 28, 58 and 88)** (CCAMRL Conservation Area), Rome, FAO, 2, p. 233-472, 1985.

GARNER, L. F.; SMITH, G. Changes in equivalent and gradient refractive index of the crystalline lens with accommodation. **Optometry and Vision Science**, 74 (2), 1997.

GORDON, J. M. Spherical gradient-index lenses as perfect imaging and maximum power transfer devices. **Applied Optics**, 39 p. 3825-3832, 2000.

GOSWAMI, U. C.; BEGUM, A.; DEY, S. Spherical scatters in the lens of *Acrossocheilus hexagonolepis* as revealed by scanning electron microscopy and UV-visible spectroscopy. **Cytobios**, 101, p. 79-85, 2000.

GRAINGER, R. M. Embryonic lens induction: shedding light on vertebrate tissue determination. **Trends Genet.** 8, p. 249-355, 1992.

GRÖTZNER, S. R. **Estudo morfo-funcional comparativo da retina dos peixes antárticos *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* Lönnberg, 1905 e *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902** Curitiba, 1994, p. 1-4, Tese (Mestrado em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

GRÖTZNER, S.; FANTA, E. Comparative morphology of the retina of the antarctic fish *Gobionotothen gibberifrons* (Lönnberg, 1905), *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902, *Lepidonotothen nudifrons* (Lönnberg, 1905) and *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951. **Pesq. Antárt. Bras.**, 3(1), p. 31-47, 1998.

GRUBBER, S. H.; HAMASAKI, D. H. & BRIDGES, C. D. B. Cones in retina of the Lemon Shark (*Negaprion brevirostris*). **Vision Res.** 3, p. 397-399, 1963.

HAMASAKI, D. H. & GRUBBER, S. H. The photoreceptors of the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum*, and the sting-ray, *Dasyatis sayi*. **Bull. Marine Sci. Gulf Caribbean** 15, p. 1051-1059, 1965.

HARDING, J. **Cataract: Biochemistry, Epidemiology and Pharmacology.** Chapman and Hall, London, 1991.

HECTH, E. **Optics.** Ed. 2, Massachusetts, Addison-Wesley Publishing Company, p. 176-180, 1990.

HIBIYA, T. **An Atlas of fish histology normal and pathological features.** Tokyo, p. 42-47, 1982.

HIRAOKA, T.; CLARK J. I.; LI, X. Y.; THURSTON, G. M. Effect of selected anti-cataract agents on opacification in the selenite cataract model. **Exp. Eye Res.**, 62, p. 9-11, 1996.

HORRIDGE, G. A. The evolution of visual processing and the construction of seeing systems. **Proc. R. Soc. Lond. Biol. Sci.**, London, v. 230, p. 279-292, 1987.

IWAMI, T. Osteology and relationships of the family Channichthyidae. **Mem. Inst. Polar Res. (Tokyo)**, Ser. E, 36, p. 1-69, 1985.

JAGGER, W. S. The refractive structure and optical properties of isolated crystalline lens of the cat. **Vision Res.**, 30 (5), p. 723-738, 1990.

JANUSCHKA, M. M.; BURHARDT, D. A. ERLANDSEN, S. L. & PURPLE, R. L. The ultrastructure of cones in the walleye retina. **Vision Res.** 27 (3), p. 327-341, 1987.

KENNEDY, D. e MILKMAN, R. D. Selective light absorption by the lenses of lower vertebrates and its influence on spectral sensitivity. **Biol. Bull. Mar. Biol. Lab.**, 111, p. 375-386, 1956.

KOHBARA, J.; NIWA, H.; OGURI, M. Comparative light microscopic studies on the retina of some elasmobranch fishes. **Nihon Suisoan Gakkaishi**, Tokyo, 53 (12), p. 2117-2125, 1987.

KRÖGER, R. H. H.; CAMPBELL, M. C. W.; FERNALD, R. D. The development of the crystalline lens is sensitive to visual input in the African cichlid fish, *Haplochromis burtoni*. **Vision research**, 41, p. 549-559, 2001.

KUNZ, Y. W. Cone mosaics in teleost retina: changes during light and dark adaptation. **Experientia** 36 (12), p. 1371-1374, 1980.

KUSAK, J. R. Development of sutures in the lens. **Progress in Retinal and Eye Research**, 14, p. 567-591, 1995.

KUSMIC, C.; GUALTIERI, P. Morphology and spectral sensitivities of retinal and extra retinal photoreceptors in freshwater teleosts. **Micron**, 31, 183-200, 2000.

KUWABARA, T.; IMAIZUMI, M. Denucleation process of the lens. **Invest Ophthalm.**, 13, p. 973-981, 1974.

LAGLER, K. F.; BARDACH, J. E.; MILLER, R. R. **Ichthyology – The Study of Fishes** John Wiley and Sons Inc., p.101-104, 1962.

LEVINE, J. S.; MACNICHOL JR., E. F. Color vision in fishes. **Sci. Am.**, New York, 216 (2), p. 108-117, 1982.

LEVINSTONE, G. & BURNSIDE, B. Circadian rhythms in teleost retinomotor movements. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** 3, p. 294-303, 1981.

LIVINGSTONE, M. Segregation of form, color, movement, and depth processing in the visual system: anatomy, physiology, art and illusion. In: Cohen, B.; Bodiswoller, I. (eds). **Vision and the brain**. New York: Raven Press, p. 119-139, 1990.

LOEW, E. R. e MACFARLAND, W. N. **The underwater visual environment**. In: **The visual system of fishes**. DOUGLAS, R. H. e DJAMGOZ, M. B. A., Ed. Chapman and Hall, New York, 1990.

LOUKASHKIN, A. S.; GRANT, N. Behavior and reactions of the pacific sardine, *Sardinops caerulea* (Girard), under influence of white and colored light and darkness. **Proc. Calif. Acad. Sci.**, San Francisco, 29 (15), p. 509-548, 1959.

LYTHGOE J. N. **The ecology of vision**. Oxford: Clarendon Press, 1979.

MACFARLAND, W. N. Light in the sea – correlations with behaviors of fishes and invertebrates. **Am. Zool.**, 26, p. 389, 1986.

MEEK, K. M.; QUANTOCK, A. J. The use of x-ray scattering techniques to determine corneal ultrastructure. **Progress in retinal Eye Research**, 20 (1), p. 95-137, 2001.

MEER, H. J. van der Constructional morphology of photoreceptor patterns in percomorph fish. **Acta Biotheor.** Dordrecht, v. 40, p. 51-85, 1992.

MEYER-ROCHOW, V. B.; KLYNE, M. A. Retinal organization of the eyes of three notothenoid fishes from the Ross Sea (Antarctica). **Gegenbaurs Morph. Jahrb.**, 128, p. 162-777, 1982.

MONTGOMERY, J. C.; MCDONALD, J. A. Performance of motor systems in Antarctic fishes. **J. Comp. Physiol.**, 154A, p. 241-248, 1984.

MONTGOMERY, J. C.; MCVEAN, A. V. Brain function in Antarctic fishes: Activity of central vestibularneurons in relation to head rotation and eye moviment. **J. Comp. Physiol.**, 160A, p. 289-293, 1987.

MORELAND, J. D. e LYTHGOE, J. N. Yellow corneas in fishes. **Vision Res.**, 8, p. 1377, 1968.

MUNK, O. Duplex retina in the mesopelagic deep-sea teleost *Lestidiops affinis* (Ege, 1930). **Acta. Zool. (Stockh.)**, 70 (3), p. 143-149, 1989.

MUNTZ, W. R. A. Stimulus, environment and vision in fishes In: **The visual system of fishes**. DOUGLAS, R. H. e DJAMGOZ, M. B. A., Ed. Chapman and Hall, New York, 1990.

MUNZ, F. W. e MACFARLAND, W. N. **Evolutionary adaptations of fishes to the photic environment**. In: **The handbook of sensory physiology**, Crescitelli, F. ed., Springer-Verlag, Berlin, 1977.

MUNZ, F. W. **Vision: visual pigments**. In: HOAR, W. S. & RANDALL, D. J. (Ed.) **Fish physiology.**, 1, p. 1 –32, New York: Academic Press, 1971.

NELSON, J. S. **Fishes of the World**. 2^o Ed., John Wiley & Sons, New York. 1984.

NICOL, J. A. C. Some aspects of photoreception and vision in fishes. **Adv. Mar. Biol.**, San Diego, 1, p. 171-208, 1963.

NICOL, J. A. C. **The eyes of fishes**. Oxford: Clarendon Press, p. 308, 1989.

O'CONNEL, C. P. the structure of the eye of *Sardinops caerulea*, *Engraulis mordax*, and four other pelagic marine teleosts. **J. Morphol.**, 113, p. 287-329, 1963.

OMURA, Y.; OGURI, M. Photoreceptor development in the pineal organ and the eye of *Plecoglossus altivelis* and *Paralichthys olivaceus* (Teleostie). **Cell Tissue Res.**, Heidelberg, 226, p. 315-323, 1991.

PADGHAM, C. A.; SAUNDERS, J. E. **The perception of light and colour**. Londres: Bill & Sons, p. 192, 1975.

PAULUS, W. M.; HÖMBERG, V.; CUNNINGHAM, K.; HALLIDAY, A. M. Colour and brightness coding in the central nervous system: theoretical aspects and visual evoked-potentials to homogeneous red and green stimuli **Proc. R. Lond. B Biol. Sci.**, London, 227, p. 52-66, 1986.

PAUPOO, A. A. V.; MAHROO O. A. R.; FRIEDBURG, C.; LAMB, T. D. H. Cone photoreceptor responses measure by the electron retinogram α -wave during and after exposure to intense illumination. **Journal of Physiology**, 529 (2), p. 469-482, 2000.

PIATIGORSKY, J. Lens differentiation in vertebrates: a review of cellular and molecular features. **Differentiation**, 19, p. 134-153, 1981.

PIERSCIONEK, B. K. Surface refractive index of the eye lens determined with an optic fiber sensor. **Optical Society of America A**, 10 (9), 1993.

RAYLEIGH, Lord. Sky. In: **Encyclopedia Britannica** Vol. XXV, 11^a Ed. Benton Publishers, 1911.

ROCHON-DUVIGNEUD, A. L'oeil et la vision. In: GRASSÉ, P. (Ed.) **Traité de zoologie**, 13: 1099-1142. Paris: Masson, 1958.

SAMEJIMA, M.; TAMOTSU, S.; MURANAKA, Y.; MORITA, Y. Dissociation of photoreceptor cells from pineal organ of the lamprey, *Lampetra japonica*. **Cell Tissue Res.**, Heidelberg, 263, p. 589-592, 1991.

SCHNAPF, J. L.; BAYLOR, D. A. How photoreceptor cells respond to light. **Sci. Am.**, New York, 256 (4), p. 32-37, 1987.

SLINGSBY, C.; NORLEDGE, B.; SIMPSON, A.; BATEMAN, O. A.; WRIGHT, G.; DRIESSEN, H. P. C.; LINDLEY, P. F.; MOSS, D. S.; BAX, B. X-ray diffraction and structure of crystallines. **Progress in Retinal and Eye Research**, 16, p. 3-29, 1997.

SOMIYA, H. Functional significance of the yellow lens in the eyes of *Argyrolecus affinis*. **Mar. Biol.**, 34, p. 93-99, 1973.

SPENCER, W. G. **English translation of Celsus: De Medicina III**. Loeb Classical Library, Willian Heinemann Ltd., London/Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., p. 349, 1938.

SULLIVAN, C. W.; PALMISANO A. C.; SOOHOO J. B. **Influence of sea ice biota on downwelling irradiance and spectral composition of the light in McMurdo Sound**. In: **McMurdo Sound** Ed. Blizard M. A.: Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering, 489, Ocean Optics VII. Bellinghan, Wash.: SPIE, p. 159-165, 1984.

TAMURA, T. A study of visual perception in fish especially on resolving power and accomodation. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 22 (9), p. 536-557, Tokyo, 1957.

TAMURA, T.; NIWA, H. Spectral sensitivity and color vision of fish as indicated by s-potential. **Comp. Biochem. Physiol.** 22, p. 745-754, 1967.

TEYKE, T.; SCHAERER, S. Blind mexican cave fish (*Astynax hubbsi*) respond to moving visual stimuli. **J. Exp. Biol.**, Cambridge, 188, p. 89-101, 1994.

TIPLER, P. A. **Física para cientistas e engenheiros**. p. 89-93, 1995.

TURNER, J.D.; SCHRAG, J. D.; DEVRIES, A. L. Ocular freezing avoidance in Antarctic fish. **J. Exp. Biol.**, 118, p. 121-131, 1985.

WALLS, R. H. **The vertebrate eye**. New York: Hafner, 1942.

WELSH, J. H. & OSBORN, C. M. Diurnal changes in the retina of catfish, *Ameirus nebulosus*. **J. Comp. Neurol.** 66, p. 349-359, 1937.

WESTHEIMER, G. **The eye**. In: **Medical physiology**. Mountcastle, V. B., Ed., C. V. Mosby, St. Louis, MO, 1968.

WHEELER, T. G. Color vision and retinal chromatic information processing in teleost: a review. **Brain Res. Ver.**, Amsterdam, 4, p. 177-235, 1982.

WHEELER, T. G. Retinal red sensitivity under dark-adapted conditions. **Brain Res. Ver.**, Amsterdam, 175, p. 140-144, 1979.

WISTOW, G. J.; PIATIGORSKY, J. Lens crystallines: the evolution and expression of proteins for a highly specialized tissue. **Ann. Ver. Biochem.**, 57, p. 479-504, 1988.

WOEHL, O. M. **Efeitos da luz vermelha sobre o comportamento e a estrutura da retina de *Astronotus ocellatus* (Agassi, 1729) (Pisces, Cichlidae)**. Curitiba, 1990, p. 91, Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.