

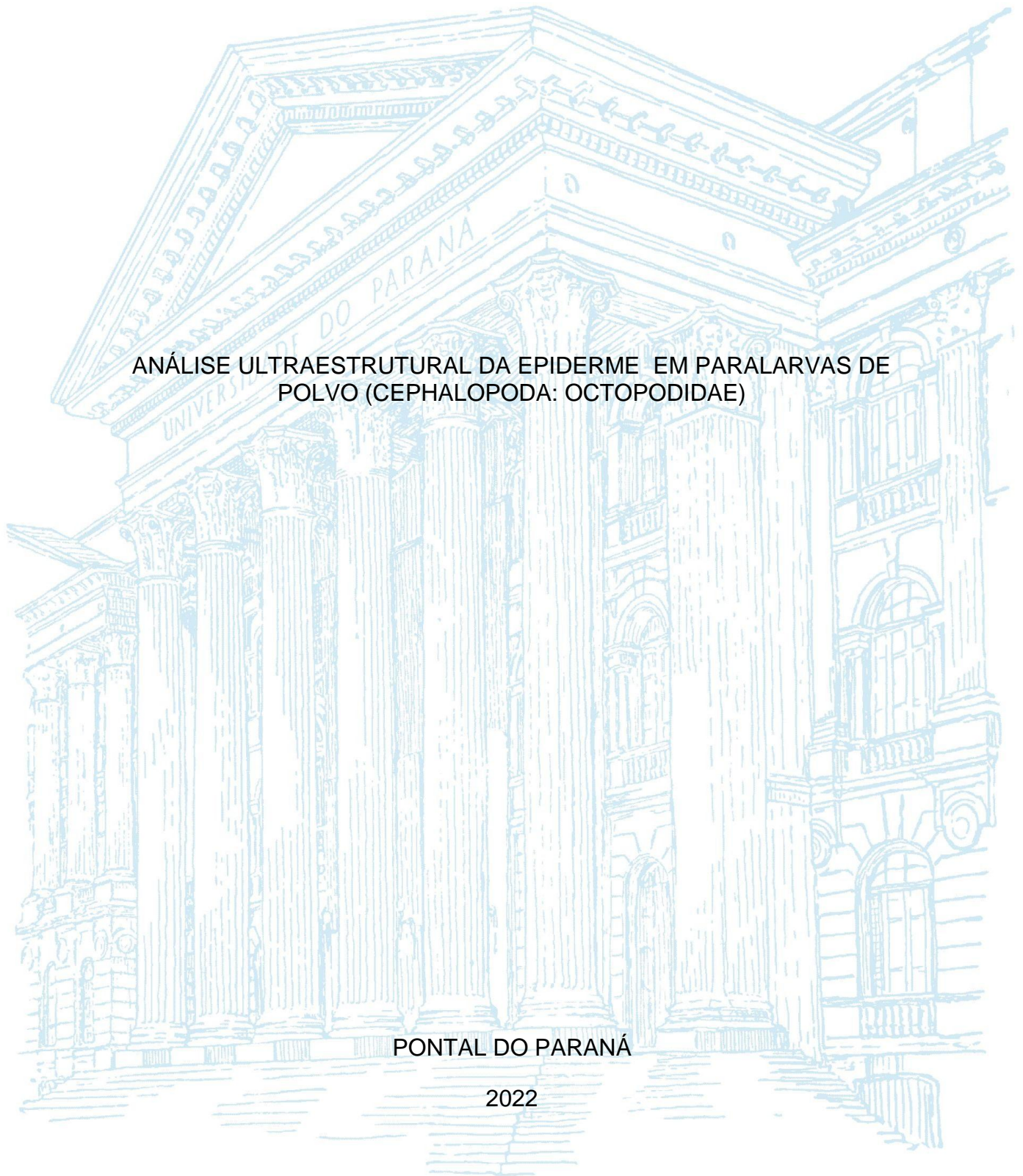
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DAYANE DE FRANÇA MORAIS

ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DA EPIDERME EM PARALARVAS DE
POLVO (CEPHALOPODA: OCTOPODIDAE)

PONTAL DO PARANÁ

2022



DAYANE DE FRANÇA MORAIS

ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DA EPIDERME EM PARALARVAS DE
POLVO (CEPHALOPODA: OCTOPODIDAE)

Monografia apresentada como requisito à obtenção, do título de bacharel em Oceanografia, no Centro de Estudos do Mar, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dra. Érica A. G. Vidal.

PONTAL DO PARANÁ
2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ATA DE REUNIÃO

TERMO DE APROVAÇÃO

Dayane de França Morais

“ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DA EPIDERME EM PARALARVAS DE POLVOS (Cephalopoda: Octopodidae)”

Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Oceanografia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos membros:

Profa. Dra. Érica Alves Gonzalez Vidal
Profa. Orientadora - CEM/UFPR

Prof. Dr. Francisco José Lagreze Squella
Centro de Estudos do Mar - UFPR

Prof. Dr. Carlos Eduardo Belz
Centro de Estudos do Mar - UFPR

Me. Suzane Oliveira
Doutoranda PGSISCO - CEM/UFPR

Pontal do Paraná, 06 de maio de 2022



Documento assinado eletronicamente por **CARLOS EDUARDO BELZ, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 14/05/2022, às 14:09, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **FRANCISCO JOSE LAGREZE SQUELLA, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 14/05/2022, às 14:12, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **ERICA ALVES GONZALEZ VIDAL, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/05/2022, às 09:49, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **SUZANE DE OLIVEIRA, Usuário Externo**, em 18/05/2022, às 14:56, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **4472295** e o código CRC **40E594FF**.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo do Órgão de Kölliker. Fonte Brocco et al., (1974). 10

Figura 2. Órgão de Kölliker evertido. Setas brancas indicando OK dentro da epiderme de *O. vulgaris* sensu scrito. Fonte Brocco et al., (1974). 11

Figura 3. Tecido epitelial de paralarvas de polvo. a) Secção transversal de tecido epitelial evidenciando os Órgãos de Kölliker (OK), quetoblasto (q), célula mucosa m1, célula mucosa m2 e célula lateral (cl) em *O. vulgaris* sensu scrito. Aumento 3000 x. b) componentes da epiderme do braço de uma paralarva com a presença de Órgão de Kölliker (OK), cromatóforo (cr), fibras musculares (fm), células de mucosas (m1 e m2) e célula ciliar (setas pontilhadas). Aumento 3000 x. 15

Figura 4. Secção transversal da base do OK em paralarvas de polvo. a) Citoplasma do quetoblasto com mitocôndrias (Mi), Complexo de Golgi (CG) e microvilosidades (MV) no processo de formação das cerdas canulares (Cc). Aumento 50.000 x. b) Secção transversal da base do OK, mostrando o quetoblasto e cerdas canulares. Lamina basal (lb) delimitando o citoplasma do quetoblasto, no qual há microvilosidades (seta) que contém em seu interior vesículas (v). Observamos também as cerdas canulares (Cc) ainda arredondadas e com pouco espaçamento intersticial. Aumento 25.000 x. 16

Figura 5. Secção transversal na base do quetoblasto. Tecido muscular (M) adjacente a lamina basal (lb) do quetoblasto e microvilosidades (Mv) saindo de seu citoplasma e fazendo parte da constituição das cerdas canulares (Cc). Aumento 20.000 x. 17

Figura 6. Secção transversal de célula lateral e cerdas canulares na epiderme de paralarvas de polvo A) É possível visualizar as organelas de célula lateral,

como núcleo (N), cisternas do retículo endoplasmático rugoso (R) e formação de vesículas (v), que podem ser incorporadas pelo complexo de Golgi (CG) para serem processadas vesículas de Golgi (VG) e liberadas em direção as cerdas canulares (Cc). Nota-se a presença de substancias intersticiais próximas às cerdas canulares (setas pontilhadas) e em seu interior vemos fragmentos membranosos (seta lisa). Aumento 30.000 x. B) Citoplasma de células laterais em contato com cerdas canulares bem desenvolvidas. Com núcleo (N) oval contendo o nucléolo arredondado (Nu). Na periferia do núcleo temos as cisternas do complexo de Golgi (CG). Além de observamos as interdigitações (I), responsáveis pelo ligamento celular, e a presença das cerdas canulares (Cc). Aumento 12.000 x. 18

Figura 7. Célula lateral e cerdas canulares na epiderme de paralarvas de polvo. A) Célula lateral interagindo com uma vesícula por processo de endocitose (seta). No zoom, cerdas canulares CC bem desenvolvidas com formato hexagonal característico. Aumento 15.000 x. B) Transporte vesicular de grande volume de fluido. Possível presença de secreção (seta menor) para o meio entre as cerdas canulares. Nesta região há uma vesícula com aparente contorno mais espesso na região (seta maior). Na outra extremidade presenciemos o processo de adsorção de uma vesícula menor, ou seja, a sua reabsorção por uma vesícula maior (seta pontilhada). Aumento 30.000 x. C) Corte oblíquo do tecido epitelial mostrando transito vesicular na periferia das cerdas canulares (Cc), complexo de Golgi (CG) com produção de vesículas. Aumento 30.000 x. D) Vesícula presente no pólo celular entre cerdas canulares (CC) e núcleo da célula lateral (N). Aumento 50.000 x. 20

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
1 INTRODUÇÃO	7
1.2 OBJETIVO GERAL.....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	9
3 MATERIAIS E MÉTODOS	13
4 RESULTADOS.....	14
4.1 ÓRGÃOS DE KÖLLIKER.....	14
4.1.1 CARACTERIZAÇÃO DOS OK AO LONGO DA EPIDERME	14
4.1.2 O QUETOBLASTO SUAS MICROVILOSIDADES E AS CERDAS DO OK	15
4. 2 CÉLULAS LATERAIS.....	17
5 DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÕES	27
REFERÊNCIAS.....	28

RESUMO

O polvo comum, *Octopus vulgaris*, apresenta grande importância ecológica e comercial e tem sido considerado forte candidato para a diversificação de espécies para a aquicultura. Porém, para o desenvolvimento do cultivo se faz necessário uma maior compreensão de seu ciclo de vida, principalmente no que se refere às fases iniciais do ciclo de vida. A biologia e ecologia das paralarvas de polvo ainda são pouco conhecidas. Em razão disso, o objetivo deste estudo é analisar a epiderme das paralarvas e morfologia e a ultraestrutura dos órgãos de Kölliker (OK) em paralarvas de polvos através da microscopia eletrônica de transmissão (MET). Para isto, foi utilizada a descrição inicial dos OK feita para *O. vulgaris sensu stricto*. Estas paralarvas apresentam estruturas em sua epiderme, conhecidas como OK, os quais são formados por cerdas canulares (tufo de Kölliker), células laterais, o quetoblasto (célula basal) e um grupo de fibras musculares dérmicas obliquamente estriadas que sustentam o órgão. No entanto, a função dos OK ainda não é conhecida. O presente estudo utilizou imagens feitas por MET de 5 paralarvas de *O. vulgaris* recém eclodidas que após serem anestesiadas, foram fixadas, emblocadas e cortes ultrafinos (50-70 nm) realizados em ultramicrótomo para obtenção de imagens em MET. Através das imagens obtidas foi possível observar OK em diferentes distâncias da célula basal. Esta célula contém complexos de Golgi e retículo endoplasmático em abundância, conferindo as mesmas características de célula secretora. Foi possível também constatar várias semelhanças entre a descrição original dos OK e as nossas amostras, como, por exemplo, o papel do quetoblasto na formação dos OK. As microvilosidades do quetoblasto estão inseridas dentro de cada cerda canular, assim seu crescimento de fato pode ser aposicional, através da adição de uma nova matriz a partir de sua base. Não foi possível determinar se as células laterais participam da formação dos OK ao longo das cerdas. No entanto, várias vesículas foram observadas na interface das células laterais com os OK, indicando intensa atividade secretora nos OKs. Os resultados sugerem que estas secreções podem estar relacionadas à função, ou formação dos OK. Assim, estudos mais detalhados sobre a ultraestrutura e composição dos OK, bem como das células laterais e da natureza das secreções produzidas por ela, poderão nos fornecer respostas mais detalhadas sobre os OK.

Palavras chaves: *Octopus*; quetoblasto, epiderme.

1 INTRODUÇÃO

A classe Cephalopoda é formada por moluscos altamente especializados com grande capacidade de adaptação e aprendizagem. Os cefalópodes - polvos, lulas, sépia e o *Nautilus* – são encontrados em águas marinhas em regiões tropicais, temperadas e polares. A espécie alvo deste trabalho é o polvo comum, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797. Ocorre no Mar Mediterrâneo e no oceano Atlântico central e nordeste (AVEDAÑO et al., 2020)

Por muito tempo, esta espécie foi considerada cosmopolita sendo tratada como uma única em todos os oceanos. Porém, atualmente sabe-se que há diversas espécies crípticas pertencentes a um complexo de espécies conhecido como “*O. vulgaris* complexo de espécies” Estudos recentes combinaram revisões taxonômicas, com análises de base molecular e identificaram diferenças genéticas que apontaram novas espécies, como é o caso de *Octopus americanus*, que se distribui na costa do Brasil (AMOR et al., 2017, AVEDAÑO et al., 2020), e havia sido identificada como *O. vulgaris* Tipo II e ocorre em todo o litoral brasileiro (AMOR et al., 2017).

Tanto *Octopus vulgaris sensu stricto* como *O. americanus* podem ser encontrados desde regiões rasas à profundidade de 150 m e tem um ciclo de vida curto, de 12 a 18 meses (BUDELMANN et al., 1997). Ambas às espécies têm alta fecundidade e produzem muitos ovos pequenos, dos quais eclodem paralarvas planctônicas. As paralarvas tem hábito de vida planctônica, e após os primeiros meses de vida se tornam bentônicas. Durante o período de incubação dos ovos, as fêmeas não se alimentam e morrem após a eclosão das paralarvas, no entanto, elas podem sobreviver até seis meses depois da incubação (MANGOLD; VON BOLETZKY, 1973). Se tratando do desenvolvimento das paralarvas, estas vão perdendo gradativamente a capacidade de natação e seu manto tornam-se relativamente menor em relação ao corpo, que passa a ter os braços mais desenvolvidos até o final da fase planctônica (VILLANUEVA, 1997).

As paralarvas de *O. vulgaris* vêm sendo estudadas ao longo da última década, para uma maior compreensão dos fatores envolvidos no seu crescimento e sobrevivência, bem como pelo crescente interesse no desenvolvimento de seu cultivo para a aquicultura, (IGLESIAS et al., 2014).

Dentre os cefalópodes, *O. vulgaris* é uma das espécies mais estudadas no mundo, devido ao valor econômico, e vantagens atraentes para o cultivo. Estas vantagens incluem: boa capacidade de adaptação às condições de confinamento (quando subadulto), um aproveitamento de 70% da alimentação oferecida (de baixo custo), ganho de peso rápido e ter 90% de seu corpo como massa proteica para consumo (IGARASHI, 2010).

As tentativas de produzir polvos em larga escala ainda são tímidas, devido às altas taxas de mortalidade das paralarvas e ao conhecimento limitado sobre seu comportamento durante a fase planctônica (IGARASHI, 2010). Por isso, estudos sobre as paralarvas, no que se refere a sua morfologia, ultraestrutura, fisiologia e comportamento ainda são muito necessários.

As paralarvas de polvos da Subordem Incirrata possuem estruturas únicas em sua epiderme, conhecidas como órgãos de Kölliker (OK). Tais estruturas são formadas por tufo de cerdas epidérmicas que estão inseridos na base do epitélio e projetam-se para fora ficando expostas ao ambiente (BROCCO et al., 1974). Esses órgãos desaparecem quando os polvos se tornam bentônicos, porém, não há muitas informações sobre como isso ocorre e sua função ainda é desconhecida.

As paralarvas possuem tecido epitelial formado por uma única camada de células (BULDEMANN et al., 1997), logo abaixo há uma camada de tecido dérmico, que além dos OK contém outros componentes, como as células com pigmento, os cromatóforos, além de iridóforos, que são células refletoras e os leucóforos que atuam na diversificação dos padrões cromáticos (BROCCO, 1976). Ainda, em paralarvas de *O. vulgaris* foram encontrados dois tipos de células mucosas espalhadas na epiderme do manto que foram denominadas de células mucosa 1 (m1), mucosa 2 (m2) (ACCOGLI et al., 2017).

Neste contexto, torna-se relevante a ampliação do conhecimento sobre os OK utilizando a análise ultraestrutural, principalmente por estudos sobre este tema terem sido feitos por Brocco et al., (1974), e não ter sofrido atualizações até o momento. Sendo assim, o objetivo deste estudo é obter mais informações sobre os OK durante a fase planctônica do ciclo de vida dos polvos. Para tanto, objetiva-se com este estudo avaliar a epiderme e a ultraestrutura dos OK em paralarvas de *O. americanus* recém eclodidas.

1.2 OBJETIVO GERAL

Descrever os conhecimentos acumulados a respeito da morfologia e a ultraestrutura dos OK em paralarvas de polvos (*Octopus vulgaris*) através de microscopia eletrônica de transmissão (MET), com base na descrição dos OK de paralarvas de *O. vulgaris sensu stricto* publicada por Brocco et al., (1974).

Ainda, avaliar possíveis relações de OK com outras estruturas na epiderme de paralarvas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A estrutura alvo deste trabalho teve sua primeira descrição em 1844 por A. Kölliker que observou cerdas muito finas na epiderme de paralarvas do polvo pelágico *Argonauta argo*. Posteriormente, essa estrutura recebeu seu nome, sendo conhecida como órgãos de Kölliker (OK). Após esse primeiro apontamento outros autores passaram a observar estas estruturas em várias outras espécies de octópodes, e atualmente, sabe-se que todas as paralarvas de polvo da Subordem Incirrata possuem os OK. Também foi relatada a presença de estruturas semelhantes aos OK em outros organismos, como os poliquetas (GUSTUS E CLONEY, 1973) e na estrutura auditiva de diversos mamíferos (DAYARATNE et al., 2014).

Os OK se encontram distribuídos por toda a superfície do corpo das paralarvas de polvo, sendo mais abundantes no manto e braços do que na cabeça e sifão. Estes órgãos possuem um comprimento médio de 50 μm e diâmetro basal de 13 μm , são formados por cerca de 1500 cerdas canulares distalmente afiladas. Tais órgãos possuem ainda três partes principais sendo: a) um folículo ectodérmico de células especializadas o quetoblasto; b) várias células foliculares laterais; e c) um fascículo extracelular de cerdas canulares que formam os tufos de Kölliker. Os tufos são desenvolvidos dentro dos folículos epidérmicos durante a embriogênese para mais tarde irromper pela superfície da epiderme (BROCCO et al., 1974) (Fig. 1). O quetoblasto também é chamado de célula basal, por representar a base do OK, abaixo do mesmo

há um grupo de fibras musculares dérmicas obliquamente estriadas (BOLETZKY, 1973; BROCCO et al., 1974). Estes músculos ajudam a irromper o fascículo e espalhar os tufos de Kölliker para fora da epiderme (Villanueva e Norman, 2008) (Fig. 2). Recentemente, Nöld et al., (2015), demonstraram em seu estudo sobre a formação do braço do *O. vulgaris* a presença do cordão nervoso que delimita o espaço onde futuramente se desenvolverá o OK.

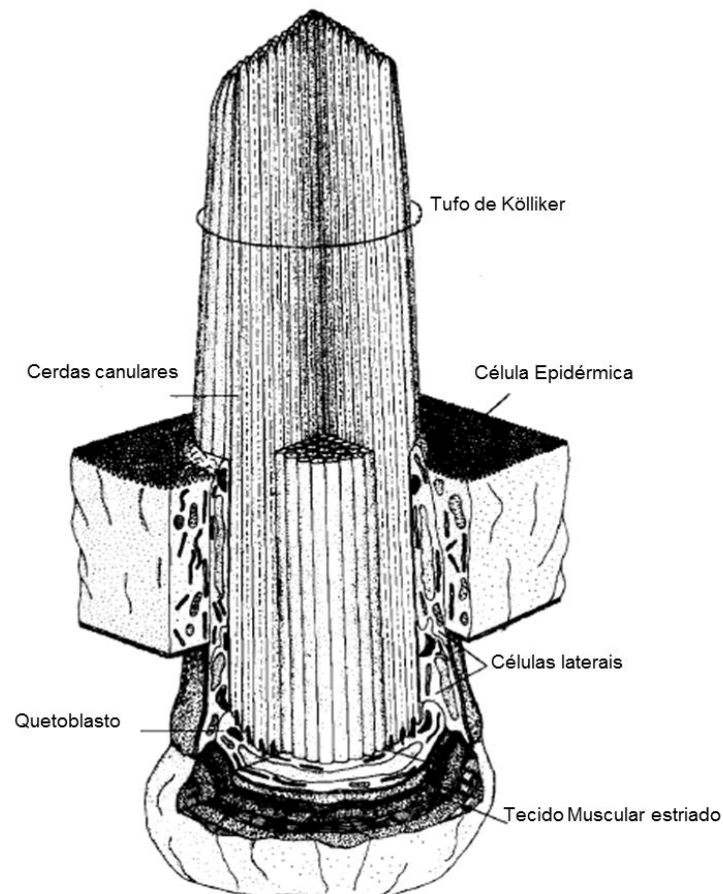


Figura 1. Esquema representativo do Órgão de Kölliker. Fonte Brocco et al., (1974).

Os OK podem estar evertidos, ou seja, projetados para fora da epiderme e espalhados de forma circular, bem abertos (Fig. 2), ou também fechados e inseridos na epiderme antes de irromper (Fig. 1). Acredita-se que as cerdas dos OK são constituídas principalmente de quitina (QUERNER, 1926).

Cada cerda apresenta diâmetro de 350 nm e é composta por filamentos longitudinalmente orientados. O quetoblasto tem superfície apical côncava em forma de taça, núcleo achatado, retículo endoplasmático rugoso, complexo de Golgi, mitocôndrias e elementos vesiculares, conferindo a ele características

celulares secretoras. Na superfície do quetoblasto há aproximadamente 1500 microvilosidades, cada uma penetrando em uma das cerdas do folículo. As microvilosidades contêm um pacote de filamentos que se estendem profundamente no interior do citoplasma, além de possuírem muitos ribossomos e pequenas vesículas. As células laterais são semelhantes ao quetoblasto, porém não possuem as microvilosidades na superfície (BROCCO et al., 1974).

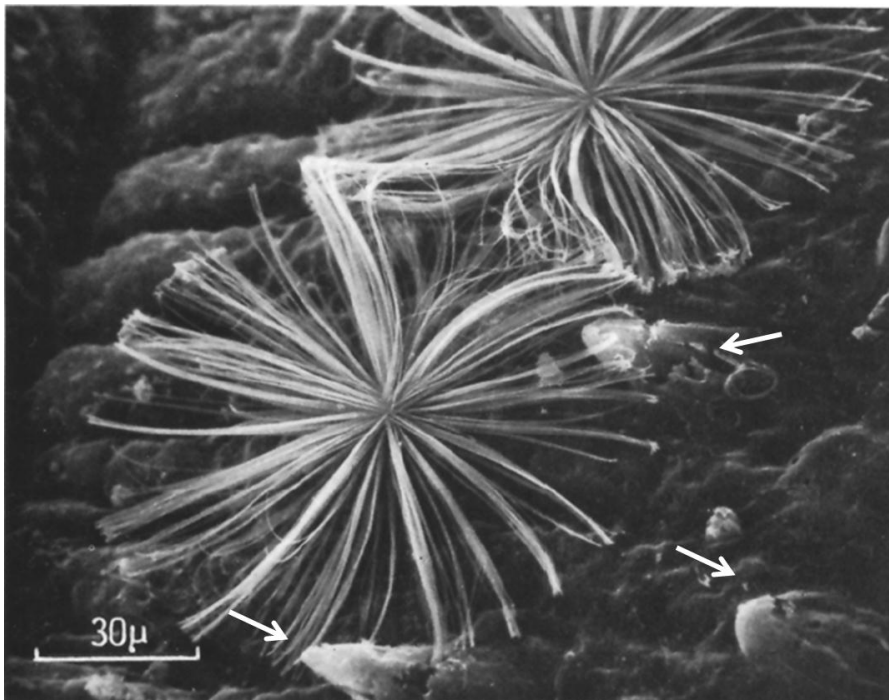


Figura 2. Órgão de Kölliker evertido. Setas brancas indicando OK dentro da epiderme de *O. vulgaris* sensu scritto. Fonte Brocco et al., (1974).

A relevância em se estudar os OK reside no fato desta estrutura estar presente em todas as paralarvas de uma Subordem de polvos e sua principal função permanecer desconhecida, embora existam várias hipóteses para explicar sua possível função. Villanueva e Norman (2008) relatam reflexões luminosas nos tufos evertidos em indivíduos vivos, sugerindo que os OK poderiam auxiliar a camuflar a silhueta das paralarvas na coluna d'água. Brocco et al., (1974), já havia citado que os OK poderiam ter características anisotrópicas considerando o tufo como positivamente birrefringente, isso significa que de acordo com a direção em que a paralarva está em relação à luminosidade que recebe, o OK poderia alterar sua cor. No estudo em questão,

através do contraste de cores, as paralarvas refletiam feixes de cores azuis e amarelas conforme foram sendo rotacionadas em relação à luminosidade em que foram expostas. A característica birrefringente dos OK foi sugerida como uma tática de camuflagem que pode ser favorável ao deslocamento vertical dos indivíduos durante o dia (VILLANUEVA et al. 2021).

Outra função sugerida, é que os OK desempenhariam um papel fundamental durante a eclosão das paralarvas, auxiliando-as a saírem dos ovos no momento da eclosão (BOLETZKY, 1973). Adam (1939) aponta, a partir de suas comparações com as análises de outros autores, que os OK poderiam ser utilizados para auxiliar na percepção das correntes de água. Em concordância com a última hipótese, Villanueva et al., (1997), acusa que os OK, quando projetados para fora da epiderme, auxiliariam na flutuabilidade das paralarvas na coluna d'água, e permitiriam que as mesmas se deslocassem mais facilmente, uma vez que quando abertos, os Ok aumentariam a superfície das paralarvas.

Contudo, é importante mencionar que estas estruturas desaparecem quando as paralarvas assentam ao fundo e se tornam juvenis bentônicos, sendo reabsorvidas ou transformadas em outras estruturas epidérmicas (NAEF, 1923). Por esta razão - sua função está necessariamente relacionada - a fase de vida planctônica dos polvos.

Mazinni (2010) comparou a ultraestrutura dos OK em duas espécies de polvo: *Argonauta nodosa* e *Octopus americanus* que possuem habitats distintos, embora ambas as paralarvas sejam planctônicas. A primeira espécie é um polvo pelágico e todo o seu ciclo de vida ocorre na coluna d'água em oceano aberto. Já *O. americanus* é bentônico na fase juvenil e adulta e ocorre próximo às zonas costeiras. Este autor notou diferenças na distribuição dos OK entre estas espécies, sendo estes órgãos bem mais abundantes em *O. americanus*. Foram também observadas por este autor diferenças nos diâmetros dos tufos entre as duas espécies, sendo os tufos em *O. americanus* aparentemente mais robustos.

Outro estudo, avaliou a morfologia dos OK em paralarvas de *O. americanus* e *O. insularis*, além de examinar os possíveis efeitos de diferentes salinidades, na morfologia dos OK em paralarvas de *O. americanus*. Em seu experimento as paralarvas foram submetidas a três condições de salinidade: a)

controle com salinidade 34, b) salinidade 37 (alta) e, c) salinidade de 20 (baixa). As paralarvas submetidas a salinidades de 37 e 20 apresentaram ampla distribuição de tufos ao longo do manto, semiabertos, fechados e ainda imersos na epiderme ou em processo de rompimento da epiderme. Já os indivíduos em condições normais (controle) tinham poucos OK e estes ainda estavam imersos na epiderme. Sugerindo que os OK poderiam ter respondido às alterações de salinidade ao terem rompido a epiderme e ficado expostos na interface com o ambiente, apresentando, portanto, uma resposta às baixas ou altas salinidades (HUY, 2013).

No estudo realizado com 17 espécies e 120 indivíduos de octópodes de todos os oceanos trouxe uma nova perspectiva em relação ao tamanho, distribuição e densidade dos OK (VILLANUEVA et al., 2021) . Os habitats das espécies abrangeram os modos de vida holobentônicos, holopelágicos e meropelágicos. Mesmo as espécies vivendo em distintas condições o tamanho dos OK demonstrou serem constantes. Em *O. vulgaris* pós-eclodidos o tamanho dos OK demonstrou não sofrer alterações desde a fase planctônica até o assentamento no bentos, quando a paralarva está na fase juvenil. No entanto, foi apontada a formação de novos OK na ponta dos braços durante o período planctônico e início da fase juvenil bêntica. Mas, o volume de OK diminui no manto e braços de forma gradual à medida que a paralarvas crescem (VILLANUEVA et al., 2021).

Como exposto acima, embora existam estudos básicos sobre os OK ainda há uma enorme lacuna a ser preenchida sobre estas estruturas, principalmente sobre sua ultraestrutura, o que pode ser útil para se obter mais informações sobre esta estrutura na fase planctônica do ciclo de vida dos octópodes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizamos amostras de *O. vulgaris sensu stricto*, recém-eclodidas. Para aquisição das imagens dos braços de polvo, foram coletadas ao acaso em Becker de vidro cinco paralarvas recém-eclodidas, coletadas no aquário de Barcelona, logo após a eclosão. Após a coleta, foram anestesiadas com cloreto de magnésio (Escánez et al., 2018) e fixadas em solução de Karnovsky (2.5%

glutaraldeído e 2.5%, paraformoldeído em tampão cacodilato 0.05 N), de acordo com a metodologia de Cyran et al., (2018). Subsequentemente foram expostas a solução de tetróxido de ósmio 1%, desidratados em acetona e embocado em resina Spurr. Cortes ultrafinos (50-70 nm) foram obtidos em ultramicrotomo Reichert-Jun e imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de transmissão Jeol. A metodologia de MET seguiu o protocolo descrito por Brocco et al., (1974).

Foram analisadas um total de 81 imagens de diversos aumentos (3.000 a 50.000 vezes) dos braços das paralarvas. Destas imagens foram selecionadas as que apresentaram os OK e as demais estruturas próximas ao mesmo. As imagens obtidas foram comparadas aos resultados de Brocco et al., (1974).

4 RESULTADOS

4.1 Órgãos de Kölliker

4.1.1 Caracterização dos OK ao longo da epiderme

O tecido epitelial dos cefalópodes é constituído de uma camada única de células epiteliais colunares, algumas células mucosas e células sensoriais ciliadas (Fig. 3). Junto a estas estruturas temos os OK que estão distribuídos em toda a epiderme, ao longo do corpo das paralarvas, incluindo braços, cabeça e manto.

A composição estrutural do OK é constituída de quatro estruturas principais: a) quetoblasto, b) células laterais, c) tufo de cerdas canulares e, d) fibras musculares (Fig. 3 A e B). Estas estruturas possuem características específicas e estão inseridas em um folículo no tecido epitelial de forma a compor os OK.

O folículo é constituído de células laterais, do quetoblasto e das cerdas canulares. O quetoblasto envolve a base do tufo de cerdas canulares onde seu citoplasma é visível (Fig. 3 A: OK1). O tufo de cerdas canulares, portanto, se origina no quetoblasto. As células laterais são um conjunto de células que circundam as cerdas canulares acima de sua região basal (Fig. 3 A: OK3). Por

fim, as fibras musculares permeiam os folículos dos OK e são responsáveis pelo movimento e sustentação do mesmo (Fig. 3 B).

Além dos OK, na epiderme encontram-se distribuídas várias células mucosas. Dentre elas, as células m1 e m2 que foram descritas por Accogli et al., (2017). Estas células possuem características distintas. As células m1 possuem grânulos densos, portanto, mais escuros e definidos em seu interior. Já as m2 têm grânulos finos e são conhecidas como células caliciformes (Fig. 3). Ambas as células liberam suas secreções para o meio extracelular.

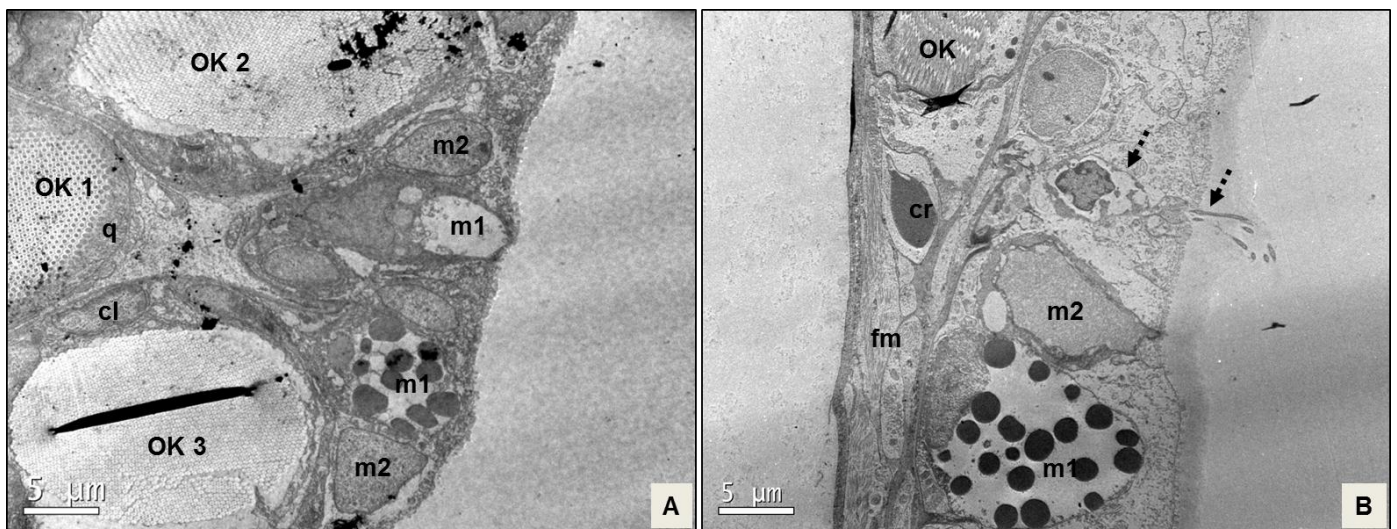


Figura 3. Tecido epitelial de paralarvas de polvo. a) Secção transversal de tecido epitelial evidenciando os Órgãos de Kölliker (OK), quetoblasto (q), célula mucosa m1, célula mucosa m2 e célula lateral (cl) em *O. vulgaris* sensu scrito. Aumento 3000 x. b) componentes da epiderme do braço de uma paralarva com a presença de Órgão de Kölliker (OK), cromatóforo (cr), fibras musculares (fm), células de mucosas (m1 e m2) e célula ciliar (setas pontilhadas). Aumento 3000 x.

4.1.2 O quetoblasto suas microvilosidades e as cerdas do OK

O quetoblasto é uma célula achatada em formato de taça, ou seja, possui uma região que se curva para dentro, sendo côncava, e por consequência o lado oposto se curva para fora. A extremidade côncava está voltada para as cerdas canulares, que encaixam nessa superfície. Por possuir em seu citoplasma muitos complexos de Golgi, mitocôndrias, vesículas e retículo endoplasmático rugoso, o quetoblasto é caracterizado como uma célula secretora (Fig. 4 A).

Na superfície côncava desta célula existem microvilosidades, que são evaginações existentes na superfície das células, têm o papel de aumentar sua área de contato com o meio e permitir a passagem de nutrientes ou sua absorção. Nos OK, as microvilosidades estão presentes na interfase entre as cerdas canulares e o citoplasma do quetoblasto. Ocorrem na base de cada cerda, e se prolongam para o seu interior.

As microvilosidades possuem pequenas vesículas, que provavelmente estão relacionadas ao transporte de substâncias necessárias ao desenvolvimento das cerdas (Fig. 4B). Tais vesículas deixam resquícios de suas membranas do interior das cerdas canulares de forma irregular, sendo os fragmentos membranosos. Durante o crescimento, das paralarvas, os fragmentos membranosos deixam sinais nas cerdas que podem ser notados pela presença de manchas escuras ao longo do comprimento das cerdas (Fig. 4B). Estas vesículas podem ser transferidas para a base das cerdas pelo processo de exocitose (processo de transporte celular ativo de material intercelular por vesículas) e por apoerina (fragmentos das células dispensados como secreção).

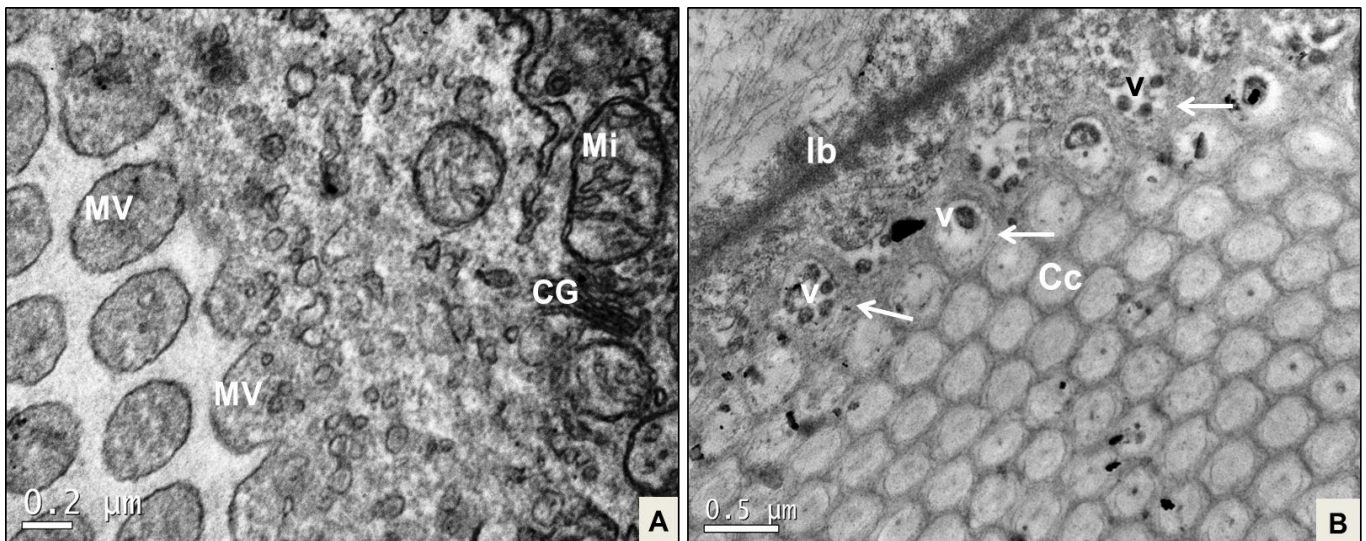


Figura 4. Seção transversal da base do OK em paralarvas de polvo. a) Citoplasma do quetoblasto com mitocôndrias (Mi), Complexo de Golgi (CG) e microvilosidades (MV) no processo de formação das cerdas canulares (Cc). Aumento 50.000 x. b) Seção transversal da base do OK, mostrando o quetoblasto e cerdas canulares. Lamina basal (Ib) delimitando o citoplasma do quetoblasto, no qual há microvilosidades (seta) que contém em seu interior vesículas (v). Observamos também as cerdas canulares (Cc) ainda arredondadas e com pouco espaçamento intersticial. Aumento 25.000 x.

As cerdas canulares têm forma quase hexagonal, com pouco espaçamento entre as mesmas (Fig. 6 B). Por outro lado, quando observamos as cerdas canulares na base dos OK seu formato é bem arredondado e seu interior possui uma tonalidade escura devido ao material denso proveniente das microvilosidades (Fig. 5). Conforme o material formador das cerdas se consolida, vai adquirindo uma coloração mais clara, e as cerdas passam a ter menor espaçamento entre si, ganhando uma organização espacial mais definida.

Os OK são delimitados por uma lâmina basal espessa. Adjacente a ela está uma camada de tecido muscular, responsável por promover a contração na epiderme do animal. Nessa região, o tecido muscular é estriado, sendo, composto por células longas, cilíndricas e com vários núcleos localizados em sua periferia (Fig. 5). A contração nesse tecido não é involuntária, ou seja, é necessário que a paralarva execute o estímulo.

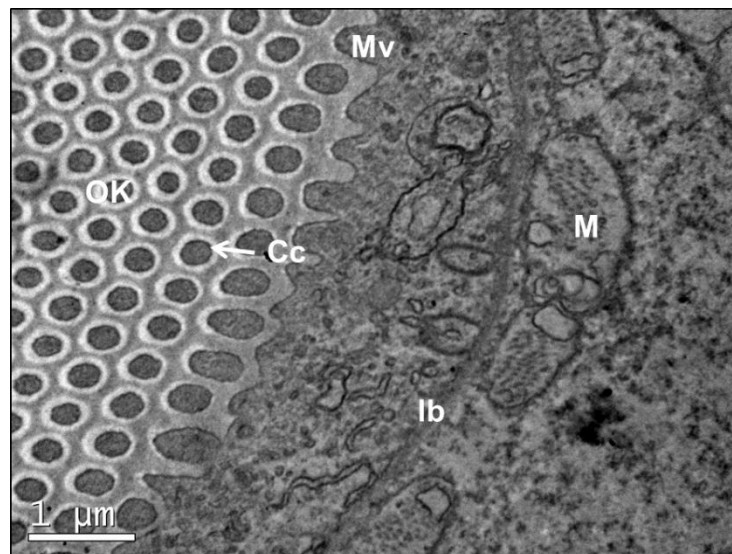


Figura 5. Seção transversal na base do quetoblasto. Tecido muscular (M) adjacente a lamina basal (lb) do quetoblasto e microvilosidades (Mv) saindo de seu citoplasma e fazendo parte da constituição das cerdas canulares (Cc). Aumento 20.000 x.

4. 2 Células laterais

As células laterais possuem características de célula secretora. Tal fato é evidenciado através da presença de retículo endoplasmático rugoso e de Complexos de Golgi (Fig. 6). Também foi observada a produção de vesículas que aparentemente são secretadas nos interstícios das cerdas canulares (Fig. 6 A). Além destas características, as células laterais possuem um núcleo oval grande e achatado (Fig. 6 B).

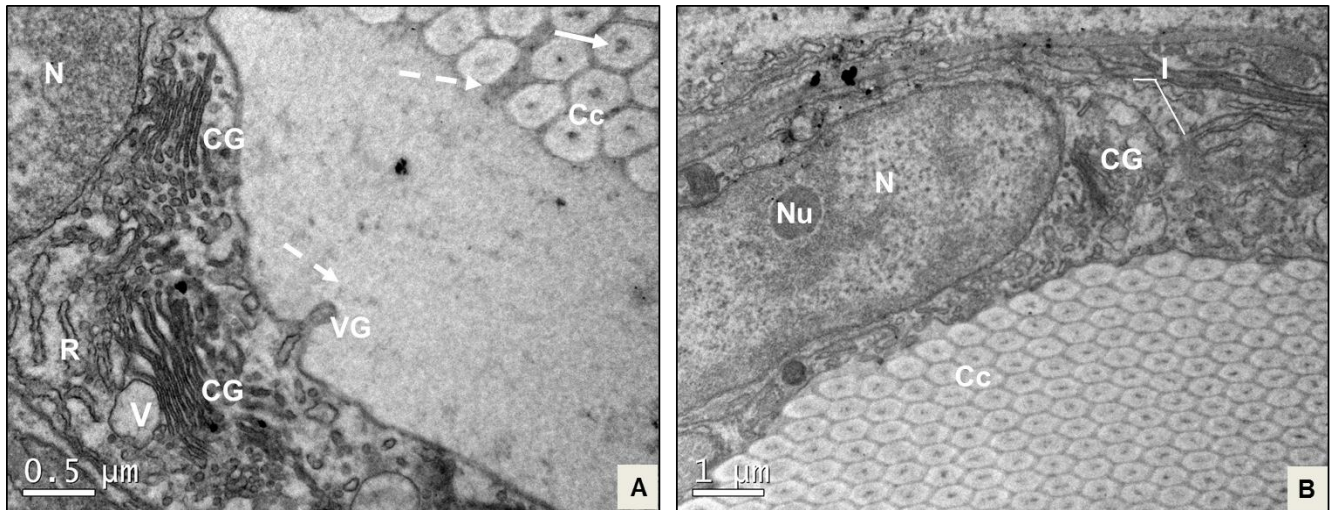


Figura 6. Seção transversal de célula lateral e cerdas canulares na epiderme de paralarvas de polvo A) É possível visualizar as organelas de célula lateral, como núcleo (N), cisternas do retículo endoplasmático rugoso (R) e formação de vesículas (v), que podem ser incorporadas pelo complexo de Golgi (CG) para serem processadas vesículas de Golgi (VG) e liberadas em direção as cerdas canulares (Cc). Nota-se a presença de substâncias intersticiais próximas às cerdas canulares (setas pontilhadas) e em seu interior vemos fragmentos membranosos (seta lisa). Aumento 30.000 x. B) Citoplasma de células laterais em contato com cerdas canulares bem desenvolvidas. Com núcleo (N) oval contendo o nucléolo arredondado (Nu). Na periferia do núcleo temos as cisternas do complexo de Golgi (CG). Além de observamos as interdigitações (I), responsáveis pelo ligamento celular, e a presença das cerdas canulares (Cc). Aumento 12.000 x.

As células laterais se distribuem no entorno das cerdas, ao longo de sua extensão longitudinal. Na área de contato entre as cerdas canulares e as células laterais, as primeiras estão bem desenvolvidas, isto é, tem formato hexagonal bem definido, com maior espaçamento entre si. As cerdas são formadas por material menos denso e seu centro é bem reduzido, quando comparado com as cerdas encontradas próximas às microvilosidades. E, em seu centro, contém fragmentos membranosos originados através do processo de crescimento das cerdas (Fig. 6 A).

As imagens sugerem que as células laterais poderiam realizar endocitose ao assimilar vesículas para seu interior. Através do processo de endocitose ocorre a absorção de substâncias do meio extracelular. Este

processo tem início com o invaginamento da membrana plástica, que se deforma para o interior da célula e assim engloba no citoplasma celular as vesículas que serão sintetizadas e liberarão o material de seu interior dentro da célula (Fig. 7 A).

Outra observação importante, evidenciada através das imagens, foi à existência de um possível trânsito vesicular entre as células laterais e o meio em onde estão às cerdas canulares (Fig. 7 B, C e D). A liberação de vesículas permite o transporte de um grande volume de substâncias. A interação entre as células laterais e as cerdas canulares parece se dar por exocitose, ou seja, ocorre a liberação de vesículas pelas células laterais para serem aderidas pelo citoplasma em que está inserido as cerdas canulares (Fig. 7B). Assim, o material proveniente das células laterais seria transportado até as cerdas canulares por estas vesículas dentre os interstícios do meio, no qual o material vesicular seria liberado e absorvido (Fig. 7 B).

Sendo assim, para que ocorra o processo de adesão do líquido vesicular seria necessária a abertura da membrana. Para este processo ocorre a concentração de proteínas, na parede externa da vesícula, que fazem o trabalho de deformação da membrana vesicular, a qual irá liberar o material nos interstícios das cerdas canulares (Fig. 7 B).

As imagens também revelaram que outra possível característica das vesículas é a capacidade de englobar vesículas menores para seu interior. Este processo é conhecido como adsorção, e permite às vesículas se condensarem e terem um volume maior de carga para transporte. Através destas observações, é possível inferir que as vesículas sejam utilizadas para o transporte de material secretado pelas células laterais até o meio onde se encontram as cerdas canulares. Assim, as células laterais parecem desempenhar um papel importante na retirada e na adição de substâncias das cerdas canulares, através da produção de vesículas, até o meio intracelular, (Fig. 7 C). Foi possível observar que o transporte vesicular de grandes porções de fluídos do meio celular ocorre na região de contato entre as cerdas canulares e a célula lateral (próximo ao seu núcleo) (Fig. 7 D).

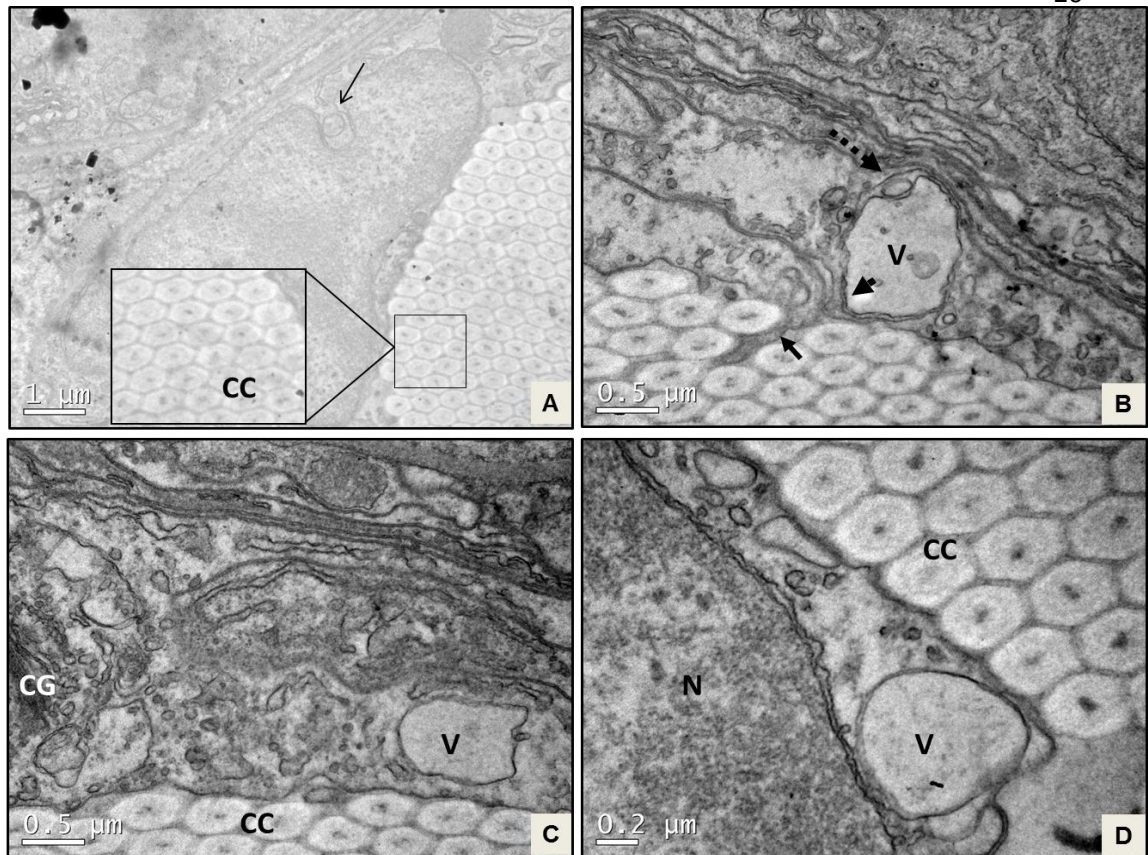


Figura 7. Célula lateral e cerdas canulares na epiderme de paralarvas de polvo. A) Célula lateral interagindo com uma vesícula por processo de endocitose (seta). No zoom, cerdas canulares CC bem desenvolvidas com formato hexagonal característico. Aumento 15.000 x. B) Transporte vesicular de grande volume de fluido. Possível presença de secreção (seta menor) para o meio entre as cerdas canulares. Nesta região há uma vesícula com aparente contorno mais espesso na região (seta maior). Na outra extremidade presenciamos o processo de adsorção de uma vesícula menor, ou seja, a sua reabsorção por uma vesícula maior (seta pontilhada). Aumento 30.000 x. C) Corte oblíquo do tecido epitelial mostrando transito vesicular na periferia das cerdas canulares (Cc), complexo de Golgi (CG) com produção de vesículas. Aumento 30.000 x. D) Vesícula presente no pólo celular entre cerdas canulares (CC) e núcleo da célula lateral (N). Aumento 50.000 x.

5 DISCUSSÃO

Dentre os resultados mais importantes deste trabalho, destacamos o papel que as células laterais demonstraram possuir na interação com os OK. Para Querner (1926), estas células não participavam da formação dos OK, mas sua análise não foi realizada por técnicas avançadas como a MET, usadas por Brocco et al., (1974), Boletzky (1973) e no presente estudo. No entanto, este último autor notou alguma interação entre as células laterais e as cerdas canulares, sugerindo que tais células poderiam ter participação no processo de nutrição das cerdas. Estas observações corroboram com os resultados do presente trabalho.

Querner (1926) e Boletzky (1973) observaram de quatro a seis células laterais, sendo que de maneira geral, há seis células no entorno de cada um dos tufo do OK (ADAM, 1939). Em nossas imagens foi possível ver até três destas células ao redor do OK (Fig. 3 A). As células laterais fazem parte da composição dos OK e podem ter tanto um papel de suporte para os OK e suas funções, bem como serem fundamentais no processo de nutrição e manutenção dos mesmos. As nossas imagens indicaram interações entre estas células e os OK, através da liberação de secreções, uma vez que observamos secreções passando do complexo de Golgi para o meio em que estão os OKs. (Fig. 6 A).

As secreções produzidas pelas células laterais parecem ter um papel importante na lubrificação do tufo. Após a eclosão das paralarvas, os OK irrompem para o exterior da superfície do tecido epitelial e, a partir de então, são constantemente fechados e retraídos ou abertos e evertidos (HUY, 2013, VILLANUEVA et al., 2021) e certa lubrificação parece ser necessária neste processo.

Durante os estágios iniciais de desenvolvimento do sistema auditivo em camundongos ocorrem estruturas denominadas de OK, assim como corre em diversas outras espécies de mamíferos, incluídos humanos. A participação do órgão está ligada ao estágio de desenvolvimento auditivo em que ainda não há atividade sonora, ou seja, antes do início da audição (DAYARATNE et al., 2014). Estes autores mostraram que os OK atuam no meio líquido durante a formação da audição, e quando os OK sofrem alguma deformidade podem

causar deficiências auditivas em camundongos. Porém, não foi possível estabelecer maiores relações entre aquele estudo e o presente trabalho.

As características observadas entre OK presentes na Figura 3, isto é OK2 e OK3 tem aspecto diferentes dos OK1, na mesma imagem. Tal fato, pode ser devido a variações no sentido das posições dos OK em relação ao corte do ultramicrotomo realizado no braço da paralarva, vemos os OK em três ângulos diferentes, o que nos permitiu observar partes distintas das cerdas canulares,

Portanto, a Fig. 3 parece ilustrar diferentes partes dos OK, isto é, no OK1 observamos a base das cerdas e notamos uma maior deposição de material denso que compõe as mesmas. Por outro lado, nos outros OK observados na Fig. 3 (OK2 e OK3) observamos a extremidade distal das células canulares, onde já não há tanta deposição do material denso em seu interior. Esse material é formado no quetoblasto, que é uma célula vital para a formação das cerdas do OK e as microvilosidades inseridas na base do quetoblasto são representadas pelo material denso e escuro observado no OK1 (BROCCO et al., 1974). O quetoblasto atua como “molde” para a formação das cerdas, fato claramente observado em algumas imagens, pois a base das cerdas é ocupada pelas microvilosidades (Fig 4), as quais se inserem dentro de cada cerda (BROCCO et al., 1974), identificada na imagens como a região arredonda e escura no centro das cerdas.

Brocco et al., (1974), relata que o interior das microvilosidades contém cromatina condensada, confirmando assim que a região do núcleo das cerdas tem uma composição mais densa e diferente das extremidades (Fig. 7 A). Por essa razão, o quetoblasto tem ligação direta com a morfogênese do tufo.

Embora possuam características de célula secretora, com presença de retículo endoplasmático rugoso e muitos complexos de Golgi, testes histoquímicos demonstraram a ausência de coloração nos OK (ACCOGLI et al., 2017) tal característica sugere que nenhuma função secretora pode ser atribuída ao órgão (VILLANUEVA et al., 2021). Mesmo com tal sugestão a análise feita em nosso estudo aponta uma interação vesicular entre as células epiteliais e as cerdas canulares, o que sugere a liberação de secreção.

As observações de Gustus e Cloney (1973) trazem um comparativo interessante com as cerdas do poliquetas *Nereis vexillhosa*, sugerindo que o canal cortical estrutura no centro dos ossos dos vertebrados composto pelo

cortex e o canal medular que o penetra - teriam semelhanças morfológicas e possivelmente mecânicas com a base da cerda dos OK. Dessa forma, tanto as cerdas canulares quanto o canal cortical medular das cerdas dos poliquetas possuem microvilosidades com perfil circular escuro em seus interiores. Conferindo aos seus núcleos uma composição mais densa, e conseqüentemente mais rígida. A resistência mecânica que a estrutura tubular das cerdas possui se assemelha a da estrutura óssea (compacta e com lacunas) e confere maior força por unidade de peso. Sendo assim, a região mais fina das cerdas suporta mais tensão. A vantagem mecânica desse tipo de estrutura, ou seja, composta por cerdas que juntas se tornam rígidas é o aumento da resistência superficial. Atuando com adaptabilidade em qualquer situação que possa demandar esforços. Pois, essa estrutura pode romper as tensões sofridas em suas cerdas.

No contexto, em que os OK são comparados devido às semelhanças morfológicas, ao everter as cerdas aumentariam a força para ruptura da tensão gerada na coluna d'água e quando as cerdas estão abertas permite a dissipação dessa força gerada o que poderia acarretar melhora na flutuabilidade passiva (VILLANUEVA et al., 2021) e na locomoção ascendente das paralarvas. Sendo assim, a região central das cerdas poderia atuar na propulsão e movimentação das paralarvas.

Querner (1926) descreve observações que corroboram com os nossos resultados, ou seja, sugerindo que o quetoblasto é uma célula proeminente na formação das cerdas canulares, através das microvilosidades, que passam a compor a base das cerdas. Tais cerdas parecem ter um crescimento gradual e se alongam a partir de sua base. Além do processo de alongamento, há também a formação de novas cerdas e com isso o quetoblasto sofreria uma regressão de seu tamanho, segundo Querner (1926) e Boletzky, (1973). Villanueva et al., (2021) observou o crescimento de novos OK nas pontas dos braços de paralarvas. A presença de muitas vesículas na proximidade das microvilosidades e a falta de uma teia terminal (que representa a base de sustentação e movimentação das microvilosidades), são características incomumns do quetoblasto. Em geral, as células apresentam essas teias, mas em nossas imagens não as observamos, assim como Brocco et al., (1974).

Vários estudos sugerem que a quitina é provavelmente o material primordial para a formação das cerdas dos OK (QUERNER, 1926; BOLETZKY, 1973; BROCCO et al., 1974; VILLANUEVA et al., 2021). Em seu estudo, Querner (1926) através de análises histológicas em paralarvas de *O. vulgaris* detectaram a presença de quitina em amostras de tecido epitelial contendo os OK. Com testes feitos em 120 indivíduos Villanueva et al., (2021) constatou a presença de quitina nos OK.

No detalhado estudo de Brocco et al., (1974), os autores relatam a presença de substâncias escuras ao longo do comprimento do OK, e sugerem que as mesmas poderiam representar vestígios decorrentes de seu processo de crescimento, na forma de fragmentos membranosos. Em nossas imagens, não foi possível observar com clareza este processo, pois para isso seriam necessárias imagens dos tufos em uma orientação diferente. No entanto, ao analisarmos imagens das cerdas (Fig. 7) conseguimos notar que ainda há a presença do material denso que está atrelado ao centro das cerdas, o qual vai se tornando mais claro à medida que se aproxima das bordas as cerdas. Essa variação na coloração pode estar relacionada com as nuances mais escuras relatadas pelos autores acima, e que sugerem a presença dos fragmentos membranosos.

No que se refere ao aparato muscular, Querner (1926), alega que os OK são desprovidos de músculos e que possuem fibras de tecido conjuntivo em sua base. No entanto, tanto Brocco et al., (1974), quanto Boletzky (1973) observaram um grupo de fibras musculares dérmicas obliquamente estriadas abaixo dos OK. Em nossas imagens, foi possível observar tecido muscular abaixo do tecido epitelial, como era de se esperar, no entanto, infelizmente não obtivemos imagens claras abaixo dos OK que nos permitissem verificar a presença das fibras musculares descritas anteriormente. Para Boletzky (1973), o aparato muscular na base dos OK atua no processo de invaginação e retração do tufo. Estas funções são, provavelmente, praticadas pelas células laterais e pelo quetoblasto, o qual retornaria ao seu estado natural após o relaxamento da musculatura. Adam (1935) sugere que, além do aparato muscular, pode haver terminações nervosas nos tecidos que circundam os OK. Porém, assim como Brocco et al., (1974), não observamos vestígios dessas terminações nervosas nas imagens analisadas.

Embora as células mucosas presentes na epiderme das paralarvas não seja o foco do presente estudo, sua presença é bem conspícua e digna de nota, visto que estão dispostas próximas aos OK, ainda que não tenha sido observada relação direta dessas células com os OK (ACCOGLI et al., 2017) (Fig. 3). Essas células (m1 e m2) são formadas por glicoproteínas, sendo células secretoras. Suas secreções mucosas são granulares de material denso e também tendem a desaparecer gradativamente após o final da fase planctônica das paralarvas (ACCOGLI et al., 2017). Tal fato sugere que as secreções produzidas por estas células mucosas sejam necessárias apenas durante esta fase do ciclo de vida, assim como os OK.

As células m1 e m2 foram observadas por Querner (1926) que as descreve como células granulares (m1) e calciformes (m2). As células m1 têm a granulometria grossa (Fig. 3) (ACCOGLI et al., 2017). Estas células possuem semelhanças morfológicas com as células adesivas encontradas na epiderme da lula anã *Idiosepius* (CYRAN et al., 2015).

Os OK se desenvolvem durante o processo de formação dos braços das paralarvas, isto é, ao longo do período embrionário (NÖLD, 2015). As células precursoras dos OK emergem no epitélio, diferenciando-se das células do tecido epitelial e dando origem as células basais, ou seja, o quetoblasto. O quetoblasto então, por sua vez, se multiplica e forma as cerdas canulares. Os OK passam a cobrir a superfície do manto, cabeça e parte aboral do braços, isto é a área externa do braço oposta ao lado voltado para boca, onde ficam as ventosas. Após a eclosão das paralarvas, os OK irrompem no epitélio e ficam expostos ao ambiente.

É interessante mencionar que durante a formação dos braços dos embriões há uma pausa no processo de diferenciação e desenvolvimento dos braços que é adiado, ocorrendo então após a eclosão das paralarvas (VILLANUEVA et al., 1995). Segundo Nold et al., (2015) esta pausa na formação dos braços pode estar relacionada à fase planctônica do ciclo de vida dos polvos, quando os braços crescem consideravelmente e se tornam maiores que o manto, o peso dos braços em relação ao tamanho do manto dificulta a natação das paralarvas, fazendo com que as mesmas assentem ao fundo. Durante este processo, que culmina com o início da fase bentônica os elementos nervosos e musculares dos braços atingem sua maturidade adulta.

Nesse contexto, os OK distribuídos na epiderme das paralarvas permitem que sua superfície corporal aumente em até dois terços quando são evertidos (VILLANUEVA et al., 2021). Uma vez que este mecanismo modular de extensão e rugosidade da epiderme está presente na fase inicial e planctônica do ciclo de vida, foi sugerido que os OK poderiam auxiliar e facilitar a natação das paralarvas. Dessa forma enquanto as paralarvas desenvolvem os braços para captura de alimentos, os OK serviriam como uma estratégia de compensação de sua densidade na coluna da água. Além desta característica, os efeitos birrefringentes ainda sugerem que os OK teriam um papel na camuflagem das paralarvas, um contra ponto que sustenta essa função é a ausência de OK em polvos de águas profundas (VILLANUEVA et al., 2021). Em função de um ciclo de vida complexo, isto é, que envolve uma mudança de habitat, do plâncton para o bentos, várias adaptações morfológicas e evolutivas devem ter sido desenvolvidas durante este processo, certamente, os OK são uma delas (VILLANUEVA et al., 2021).

As paralarvas de polvos não possuem nadadeiras, as quais tem a função de estabilizar a natação em paralarvas de lulas nas fases iniciais do ciclo de vida (VIDAL et al., 2018). Os OK quando abertos aumentam a superfície da paralarvas, favorecendo a flutuabilidade, como sugerido por Villanueva et al., (2021), o que poderia compensar a ausência de nadadeiras.

Seria muito interessante e oportuno analisar os OK em paralarvas em processo de assentamento, bem como após o assentamento, quando os OK desaparecem ou são reabsorvidos para se avaliar como ocorre este processo e se o quetoblasto e das células laterais desempenhariam algum papel no processo de reabsorção dos OK.

Até o momento foi possível confirmar várias observações feitas em estudos anteriores sobre os OK, mas são necessários mais estudos para encontrar respostas mais robustas sobre os mecanismos de ação dos OK e como os mesmos são estimulados. Compreender a morfologia, comportamento e ecologia de uma espécie, em uma fase vulnerável do seu ciclo de vida é uma tarefa complexa. Porém, são fundamentais para se conhecer as estratégias de vida e as adaptações evolutivas durante a fase planctônica do ciclo de vida de polvos de toda a Subordem Incirrata.

6 CONCLUSÕES

- 1) As atividades secretoras observadas indicam interações das células laterais com os OK (Fig. 7), devido à presença de vesículas entre estas células e os OK. Tais observações sugerem que as células laterais poderiam atuar na manutenção e nutrição das cerdas canulares, através da produção e liberação de secreções nos interstícios dos OK.

- 2) O quetoblasto possui características de célula secretora, pois, contém um grande volume de retículo endoplasmático rugoso e muitos complexos de Golgi. Portanto, poderia ser o precursor, atuando na formação dos OK.

REFERÊNCIAS

ACCOGLI, G.; SCILLITANI, G.; MENTINO, D.; DESANTIS, S. Characterization of the skin mucus in the common octopus *Octopus vulgaris* (Cuvier). **European Journal of Histochemistry**, 61: p. 204-214, 2017. Doi : [10.4081/ejh.2017.2518](https://doi.org/10.4081/ejh.2017.2518)

ADAM, W.; BRETSCHEIDER L. H. A Propos Des Organes Epitheliaux (« Kollikersche Buschel ») Chez Une Larve D'octopode. **Musée royal d'Histoire naturelle de Belgique**. Bruxellas v. 15, p. 123-134,1939. Disponível em: <http://biblio.naturalsciences.be/rbins-publications/memoirs-of-the-royal-institute-of-natural-sciences-of-belgium-second-series/15-1939/vol-15-00e280p-text9.pdf> > Acessado em: 15 ABR. 2022.

AMOR, M. D.; NORMAN, M. D.; ROURA, A.; LEITE, T. S.; GLEADALL, I. G.; REID, A.; PERALES-RAYA, C.; LU, C. C.; SILVEY, C. J.; VIDAL, E. A. G.; HOCHBERG, F. G.; ZHENG, X.; STRUGNEL, J. M. Morphological assessment of the *Octopus vulgaris* species complex evaluated in light of molecular-based phylogenetic inferences. **Zoologica Scripta**, [S. l.], v. 46, n. 3, p. 275-288, 2017. DOI <https://doi.org/10.1111/zsc.12207>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/zsc.12207>. Acesso em: 15 out. 2021.

AVENDAÑO, O.; ROURA, Á.; CEDILLO-ROBLES, C. E.; GONZÁLEZ, Á. F.; RODRÍGUEZ-CANUL, R.; VELÁZQUEZ-ABUNADER, I.; GUERRA, Á. *Octopus americanus*: a cryptic species of the *o. vulgaris* species complex redescribed from the caribbean. **Aquatic Ecology**, [S.L.], v. 54, n. 4, p. 909-925, 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10452-020-09778-6>.

BULDELMANN, U.; SCHIPP, R.; BOLETZKY S. Cephalopoda. In: HARRISON, F. W.; KOHN, A. J. **Microscopic Anatomy of Invertebrates: Mollusca II**. New York: v. 6A p 135-136, 1997.

BOLETZKY, S.v. Structure and function of the Kölliker organs in young octopods (Mollusca, Cephalopoda). **Zeitschrift fur Morphologie der Tiere**, v. 75, p. 315-327, 1973.

BROCCO, S. L. The ultrastructure of the epidermis, dermis, iridophores, leucophores and chromatophores of *Octopus dofleini martini* (Cephalopoda: Octopoda). Ph.D. Diss., University of Washington, Seattle. 1976.

BROCCO, S.; O'CLAIR, R.; CLONEY, R. Cephalopod integument: The ultrastructure of Kölliker's organs and their relationship to setae. **Cell And Tissue Research**, v. 151, n. 3, p. 293-308, 1974. Springer Nature.

CYRAN, N.; KLEPAL, W.; STÄDLER, Y.; SCHÖNENBERGER, J.; BYERN, J. Alterations in the mantle epithelium during transition from hatching gland to adhesive organ of *Idiosepius pygmaeus* (Mollusca, Cephalopoda). **Mechanisms Of Development**, [S.L.], v. 135, p. 43-57, fev. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mod.2014.11.003>.

CYRAN, N.; PALUMBO, A.; KLEPAL, W.; VIDAL, E. A. G.; STAEDLER, Y.; SCHÖNENBERGER, J.; BYERN, J. The short life of the Hoyle organ of *Sepia officinalis*: formation, differentiation and degradation by programmed cell death. **Hydrobiologia**, [S.L.], v. 808, n. 1, p. 35-55, 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-017-3291-3>.

DAYARATNE, M. W. Nishani; VLAJKOVIC, Srdjan M.; LIPSKI, Janusz; THORNE, Peter R.. Kölliker's Organ and the Development of Spontaneous Activity in the Auditory System: implications for hearing dysfunction. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2014, p. 1-8, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/367939>.

ESCÁNEZ, A.; RUBIO, J.; RIERA, R.; ALMANSA, E. Assessment of Various Anesthetic Agents on *Octopus vulgaris* Paralarvae. **Journal Of The World Aquaculture Society**, [S.L.], v. 49, n. 6, p. 1019-1025, 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jwas.12444>.

GUSTUS, R.; CLONEY, R. A. Ultrastructure of the larval compound setae of the polyclmete *Nereis vexillosa* Grube. *J. Morph.* 140, p. 355-366, 1973.

HUY, J M. **Efeitos de salinidade na morfologia dos órgãos de kölliker de paralarvas de octopus vulgaris (cuvier, 1797) e comparação entre duas espécies: *Octopus vulgaris* e *Octopus insularis* (Leite e Haimovici, 2008)**. 2013, 44 f. TCC (Graduação) - Curso de Oceanografia, Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná. 2013. Disponível

em:<<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/37988/Juliana%20Midori%20Huy.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 10 mar. 2019.

IGARASHI, M. A. Situação atual e o potencial para o desenvolvimento do cultivo de polvo no Brasil. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 417-427, out./dez. 2010.

IGLESIAS J.; FUENTES L. *Octopus vulgaris* . Cultura Paralarval. Em: Iglesias J., Fuentes L., Villanueva R. (eds) *Cephalopod Culture*. Springer, 2014 Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8648-5_23

NAEF, A. Die Cephalopoden. Monographie 35, Volume I, Parts I and II, Systematik, Fauna e flora del Golfo di Napoli, 1923.

NÖDL, M.-T.; FOSSATI, S. M; DOMINGUES, P.; SÁNCHEZ, F. J; ZULLO, L. The making of an octopus arm. **Evodevo**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-17, 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13227-015-0012-8>.

MANGOLD, K; VON BOLETZKY, S. New Data on Reproductive Biology and Growth of *Octopus vulgaris*. **Marine Biology**, Banyuls-sur-mer, France, n. 19, p.7-12, 1973.

MAZZINI, F. S. **Comparação morfológica dos órgãos de kölliker em paralarvas de *Octopus vulgaris* e argonauta nodosa cephalopoda: incirrata**. 2010. 39 f. TCC (Graduação) - Curso de Oceanografia, Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, 2010.

QUERNER, F. R. v.: Die Köllikerschen Büschel jugendlicher Octopoden, nebst einigen Bemerkungen zur histologie der Haut dieser Formen. *Z. Zellforsch*, p 237-265, 1926.

VIDAL, E. A. G; ZEIDBERG, L. D .; BUSKEY, E. J. Desenvolvimento de habilidades de natação em paralarvas de lula: implicações comportamentais e ecológicas para a dispersão. **Fronteiras em fisiologia**, v. 9, p. 954, 2018.

VILLANUEVA, R.; COLL-LLADÓ, M.; BONNAUD-PONTICELLI, L.; CARRASCO, S. A.; ESCOLAR, O.; FERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, F. Á.; GLEADALL, I. G.; NABHITABHATA, J.; ORTIZ, N.; ROSAS, C. Born With Bristles: new insights on the köllikes organs of octopus skin. **Frontiers In Marine Science**, [S.L.], v. 8, p. 1-19, 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmars.2021.645738>.

VILLANUEVA, R.; NORMAN, M. Biology Of The Planktonic Stages Of Benthic Octopuses. **Oceanography And Marine Biology**, [s.l.], p.105-202, 2008. CRC Press. <http://dx.doi.org/10.1201/9781420065756.ch4>.

VILLANUEVA, R.; NOZAI, C.; BOLETZKY, S. Swimming behaviour and food searching in planktonic *Octopus vulgaris* Cuvier from hatching to settlement. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [s.l.], v. 208, n. 1-2, p.169-184, jan. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0022-0981\(96\)02670-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0022-0981(96)02670-6).

VILLANUEVA, R.; NOZAI, C.; BOLETZKY, S. v.. The planktonic life of octopuses. **Nature**, [S.L.], v. 377, n. 6545, p. 107-107, 1995. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/377107a0>.

Referências Consultadas:

MONTANARI, Tatiana. Tecido Muscular: características. In: MONTANARI, Tatiana. **HISTOLOGIA**: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 2. ed. Porto Alegre: Edição do Autor, 2013. Cap. 5. p. 1-206. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/icbs-labbiorepr/prodint/livros/livrodehisto2ed2013.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2021.

MONTANARI, Tatiana. **HISTOLOGIA**: sistema tegumentar. Sistema Tegumentar. 2013. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/livrodehisto/pdfs/11Tegumen.pdf>. Acesso em: 9 mar. 2021.

SOUZA, W. Técnicas de microscopia eletrônica aplicadas às Ciências Biológicas. Sociedade Brasileira de Microscopia, Rio de Janeiro, 2007.

ABRAHAMSOHN, P.; FREITAS, V. **Histologia**: departamento de biologia celular e do desenvolvimento. Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento. Universidade de São Paulo. Disponível em: <https://mol.icb.usp.br/>. Acesso em: 20 set. 2021.