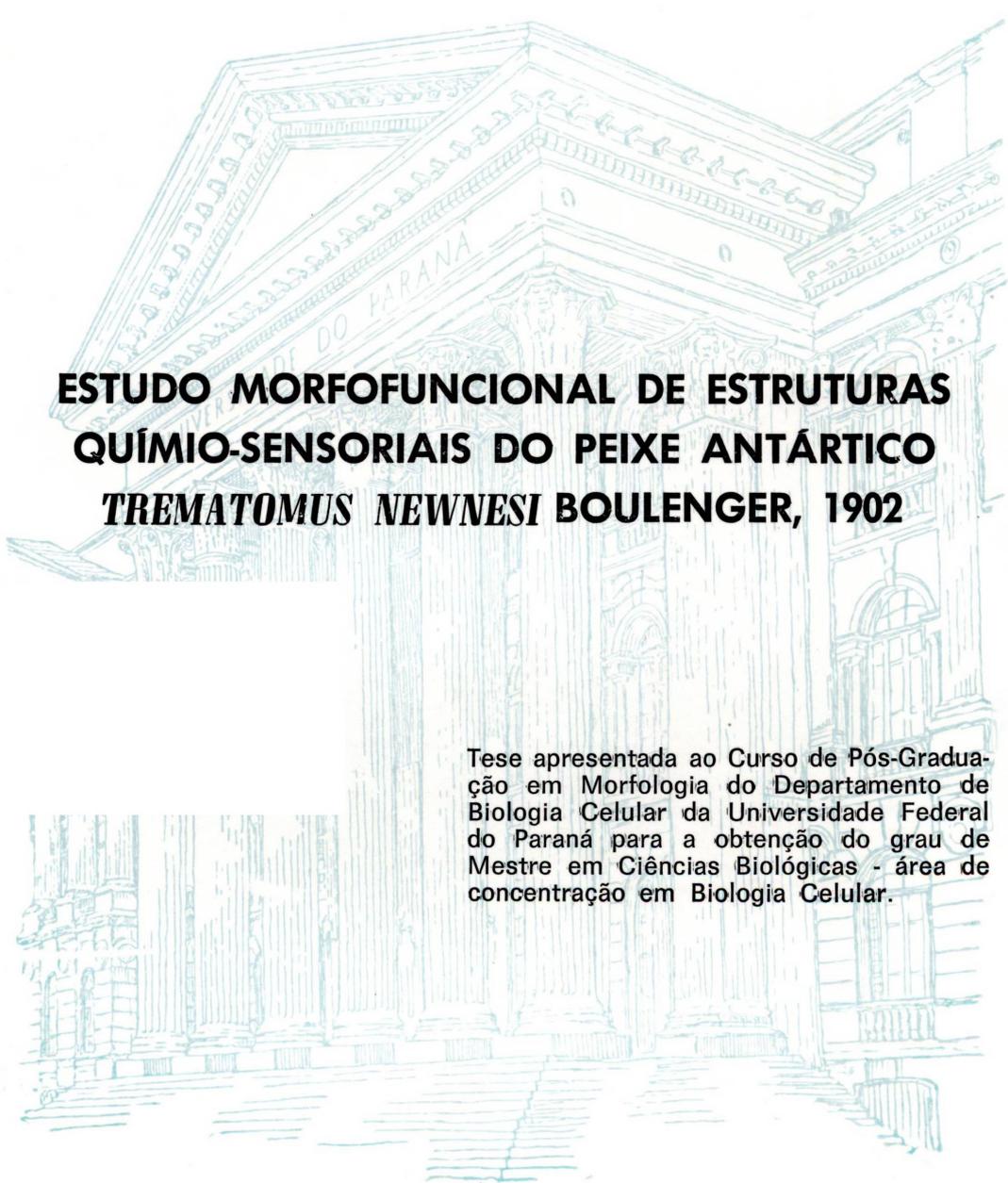


ANA APARECIDA NOGUEIRA MEYER



**ESTUDO MORFOFUNCIONAL DE ESTRUTURAS  
QUÍMIO-SENSORIAIS DO PEIXE ANTÁRTICO  
*TREMATOMUS NEWNESI* BOULENGER, 1902**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Morfologia do Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas - área de concentração em Biologia Celular.

CURITIBA  
1995

ANA APARECIDA NOGUEIRA MEYER

**ESTUDO MORFOFUNCIONAL DE ESTRUTURAS  
QUÍMIO-SENSORIAIS DO PEIXE ANTÁRTICO  
*TREMATOMUS NEWNESI* BOULENGER, 1902**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Morfologia do Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas - área de concentração em Biologia Celular.

CURITIBA

1995



ANA APARECIDA NOGUEIRA MEYER

**ESTUDO MORFOFUNCIONAL DE ESTRUTURAS  
QUÍMIO-SENSORIAIS DO PEIXE ANTÁRTICO  
*TREMATOMUS NEWNESI* BOULENGER, 1902**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Morfologia do Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas - área de concentração em Biologia Celular.

CURITIBA  
1995

**ANA APARECIDA NOGUEIRA MEYER**

**ESTUDO MORFOFUNCIONAL DE ESTRUTURAS  
QUÍMIO-SENSORIAIS DO PEIXE ANTÁRTICO  
*TREMATOMUS NEWNESI* BOULENGER, 1902**

**Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Morfologia do Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas - área de concentração em Biologia Celular.**

**Banca Examinadora:**

**Dra. Edith Susana Elisabeth Fanta  
Dr. Francisco J. Hernandez Blasquez  
Dr. Waldemiro Gremski**

**Universidade Federal do Paraná  
Setor de Ciências Biológicas  
Departamento de Biologia Celular**

**Curitiba  
1995**

*“O desejo humano de viajar, de percorrer terras e de conhecer continentes, pode levar ao prazer ou ao desencanto, conforme atenda ou não aos nossos sonhos. Mas onde ir um homem sem levar consigo tudo o que de fato é, e tudo o que se acostumou a desejar? A verdadeira viagem, a que conserva as paisagens, mas modifica o homem, é talvez a única que não deve ser adiada. Nela, o viajante é mais importante do que as terras que percorre, e a partir dela todos os caminhos têm um encanto novo - mesmo os que levam de uma rua a outra, na cidade em que se vive.”*

Luiz Carlos Lisboa

Este trabalho é dedicado

Ao Miguel

*Cuja força do amor possibilitou, no passado, que eu imaginasse o futuro e, no presente, que eu tenha orgulho da minha vida e do meu trabalho.*

Ao Arthur

*Como demonstração de que, com trabalho e determinação, podemos transformar sonhos em realidade.*

## À Dra Edith Susana Elisabeth Fanta

De aluna a Mestre a caminhada foi longa, porém em todos os momentos difíceis, sempre pude contar com seu apoio e amizade. Juntas caminhamos lado a lado, aqui e em outras Terras, dividindo sonhos e trabalho. Apesar disto, nunca perdi a noção das vezes em que você diminuiu seu passo para que eu pudesse acompanhá-la. Por isso, entendo que o verdadeiro agradecimento pela orientação deste trabalho é a demonstração de seu valor científico e a satisfação de ver frutificar uma filosofia de trabalho e de vida, que permite a todos uma chance de crescer pessoal e profissionalmente.

## **Agradecimentos**

**...”Se pude ver mais longe, foi por ter me apoiado em ombros de gigantes”  
Sir Isaac Newton. 1643-1727**

Às amigas Edith, Marcia, Flávia e Silvia, com quem dividi o sonho e a realidade antártica e que, em momentos diferentes, fizeram parte da realização deste trabalho e hoje fazem parte da história da minha vida.

À Coordenadora e à Vice-Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular, Dra Maria Célia Jamur e Dra Ana Lucia Nicastrí, pelos esforços desenvolvidos na manutenção e melhoria do curso de Pós-Graduação em Biologia Celular.

Aos professores do Departamento de Biologia Celular, pelo incentivo e apoio constante.

Aos integrantes do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, e em especial à Dra Daura Eiras-Stofella e às técnicas Vera Regina e Matilde, pela colaboração na obtenção do material de Microscopia Eletrônica de Varredura

Ao apoio logístico da SECIRM - Proantar sem o qual não teria sido possível o desenvolvimento deste trabalho

Ao CNPq pelo financiamento continuado do projeto Comportamento Alimentar em Peixes Antárticos: Estruturas e Estratégias, sob responsabilidade da Dra Edith Fanta, que possibilitou o desenvolvimento deste trabalho

À Bióloga Ana Cristina C Vianna, pelo auxílio indispensável na obtenção do material fotográfico que compõe este trabalho.

À Ana Teresa Guimarães, pelo auxílio na elaboração dos gráficos que compõem este trabalho

A todos os integrantes das Expedições Antárticas que, de alguma forma, colaboraram na execução deste trabalho.

A todos os integrantes do Laboratório de Estudos de Impacto Ambiental, Edith, Sonia, Lucélia, Sandra, Flavia, Ana Cristina, Silvia, Ana Tereza, Nilce, Sandali e Edson, com quem tenho dividido a maior parte das horas da minha vida. Todos vocês foram sempre o ponto de apoio nos momentos difíceis e todas as vitórias foram, em parte, frutos da amizade, apoio e incentivo constante que sempre recebi de todos.

A você amiga, que à semelhança de uma estrela, mesmo sem mais existir continua a me iluminar.

A todos, os meus sinceros agradecimentos.

# Sumário

<b>Lista de Figuras</b> .....	x
<b>Resumo</b> .....	xii
<b>Abstract</b> .....	xiii
<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Objetivos</b> .....	14
<b>3. Material e Métodos</b> .....	15
3.1 Local de Estudo.....	15
3.2 Material Biológico .....	16
3.3 Método de Captura....	17
3.4 Aclimação e Manutenção.....	18
3.4.1 Aquários Experimentais. ....	18
3.5 Fase Experimental .....	19
3.5.1 Teste Alimentar 1.....	20
3.5.2 Teste Alimentar 2.....	21
3.5.3 Teste Alimentar 3. ....	21
3.5.4 Teste Alimentar 4. ....	22
3.5.5 Teste Alimentar 5 .....	23
3.6 Estudos Morfológicos .....	24
3.6.1 Dissecção.....	24
3.6.2 Fixação e processamento histológico para Microscopia óptica. ....	24
3.6.3 Colorações para Microscopia óptica. ....	25

3 6.4	Análise das Lâminas Histológicas	26
3 6.5	Fixação e processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura	26
<b>4.</b>	<b>Resultados.</b>	<b>35</b>
4.1	Testes Alimentares	35
4.1.1	Teste Alimentar 1	35
4.1.2	Teste Alimentar 2..	36
4.1.3	Teste Alimentar 3.	37
4.1.4	Teste Alimentar 4	37
4.1.5	Teste Alimentar 5...	37
4.2	Morfologia dos órgãos químio-sensoriais.	39
4.2.1	Órgão olfatório.....	39
4.2.2	Órgãos de Gustação	41
4.2.3	Epiderme da região da cabeça	44
<b>5.</b>	<b>Discussão...</b>	<b>68</b>
<b>6.</b>	<b>Conclusões</b>	<b>79</b>
<b>7.</b>	<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>81</b>
<b>8.</b>	<b>Apêndice</b>	<b>95</b>

## Lista de Figuras

Fig 1	Mapa do Continente Antártico.. . . . .	27
Fig 2	a Mapa da Península Antártica. . . . .	28
	b Mapa da Ilha Rei George . . . . .	28
Fig. 3	a. Estação Antártica Comandante Ferraz . . . . .	29
	b.Vista aérea da Estação Antártica Comandante Ferraz . . . . .	29
Fig 4	a. Vista lateral de <i>Trematomus newnesi</i> .. . . .	30
	b.Distribuição geográfica do <i>Trematomus newnesi</i> . . . . .	30
Fig 5	a Representação esquemática do Teste Alimentar 1.. . . . .	31
	b. Representação esquemática do Teste Alimentar 2 . . . . .	31
Fig 6	a Representação esquemática do Teste Alimentar 3 . . . . .	32
	b. Representação esquemática do Teste Alimentar 4 . . . . .	32
Fig 7	a. Representação esquemática do Teste Alimentar 5a. .... .	33
	b. Representação esquemática do Teste Alimentar 5b... . . . .	33
Fig 8	Distribuição das estruturas estudadas na cabeça de <i>T. newnesi</i> . . . . .	34
Fig 9	Resultados gráficos do Teste Alimentar 1 . . . . .	47
Fig 10	Resultados gráficos do Teste Alimentar 2 - Alimento acidificado . . . . .	48
Fig 11	Resultados gráficos do Teste Alimentar 2 - Alimento adocicado... . . . .	49
Fig 12	Resultados gráficos do Teste Alimentar 2 - Alimento neutro. . . . .	50
Fig 13	Teste Alimentar 3 - Estímulo apenas visual . . . . .	51
Fig 14	Posicionamento do corpo de <i>T. newnesi</i> com estímulo visual . . . . .	52

Fig 15	Resultados gráficos do Teste alimentar 3 - Cuba com comunicação visual	53
Fig 16	Teste Alimentar 5 - Comunicação visual e química	54
Fig 17	Resultados gráficos do Teste Alimentar 5 - Comunicação visual e química.	55
Fig. 18	Órgão olfatório....	56
Fig 19	Órgão olfatório.	57
Fig 20	Órgão olfatório..	58
Fig 21	Órgão de gustação.	59
Fig 22	Órgão de gustação .....	60
Fig. 23	Órgão de gustação .	61
Fig. 24	Órgão de gustação...	62
Fig 25	Epiderme da região da cabeça ..	63
Fig. 26	Epiderme da região da cabeça.....	64
Fig 27	Epiderme da região da cabeça. ....	65
Fig 28	Epiderme da região da cabeça ..	66
Fig. 29	Epiderme da região da cabeça . . . .	67

## RESUMO

Em regiões polares, como a Antártica, em situações ambientais extremas como de baixa luminosidade no inverno, os peixes tem que utilizar estratégias e estruturas sensoriais diversificadas para a captura do alimento. A capacidade químio-sensorial do peixe Antártico *Trematomus newnesi* foi analisada experimentalmente através da avaliação do comportamento alimentar e testando-se a percepção dos estímulos visual, químico e químico-visual. Para análise morfológica foram coletados os lábios superior e inferior, as narinas e as regiões em torno da narina, infra-orbital, do assoalho bucal externo e do epitélio da cabeça, fixados em Líquido de Bouin, Gendre e Formol para microscopia óptica e em Glutaraldeído a 3% em Tampão Cacodilato pH 7.2 para microscopia eletrônica de varredura. Como o epitélio olfatório de *T. newnesi* é organizado em forma de roseta oval, sua acuidade olfatória é intermediária. Botões gustativos, morfológicamente diferenciados e com diferentes superfícies de contato com o meio ambiente, estão concentrados na região central do lábio superior e distribuídos no lábio inferior, na região em torno da narina e no assoalho bucal externo. A epiderme da cabeça, interface com o ambiente, é um órgão sensorial, possuindo células químio-sensoriais esparsas. Estímulos químicos olfatórios e gustatórios são suficientes para desencadear e reproduzir o comportamento alimentar característico para a espécie, mesmo quando os órgãos visuais e mecano-receptores não podem atuar, tornando o *T. newnesi* eficiente ao se alimentar na coluna de água, sendo capaz de selecionar seu alimento, em todas as estações do ano na Antártica, utilizando-se principalmente de seu sentido químio-sensorial.

## ABSTRACT

In polar regions as is Antarctica, in extreme environmental conditions as the very low light levels during the winter, fish have to use diversified strategies and sensorial structures to catch food. The chemo-sensorial ability of the Antarctic fish *Trematomus newnesi* was analyzed experimentally through evaluations of its feeding behavior and tests on the visual, chemo and chemo-visual perception. For morphological analysis, upper and under lips, nares and the region around them, the infra-orbital epithelium, the external mouth floor and the head epithelium were collected. Fixation was in Bouin's fluid, Gendre and Formalin for optical microscopy and in Glutaraldehyde 3% buffered with Cacodylate pH 7.2 for scanning electron microscopy. The olfactory epithelium of *T. newnesi* is displayed as an oval rosette and therefore their olfaction is considered intermediate. Taste buds are morphologically differentiated and with different kinds of their contact surface with the environment. They are concentrated in the central region of the upper lip and spread along the under lip, around the nares and at the external mouth floor. The epidermis of the head is an interface with the environment, being a sensorial organ, with sparse chemo-sensorial cells. Chemical stimuli inducing olfaction and gustation are sufficient to release and reproduce the characteristic feeding behavior of the species. This happens even when visual organs and mechanoreceptors are not stimulated, making *T. newnesi* an efficient feeder in the water column, able to select food in all seasons of the year in Antarctica, using mainly their chemo-sensorial structures.

# 1. INTRODUÇÃO

O continente Antártico apresenta características que o diferenciam do restante dos continentes.

O regime de luz é característico de regiões polares, o que significa que no inverno há longos períodos sem luz enquanto que, no verão a luz é praticamente constante, ocorrendo situações intermediárias nas outras estações do ano (RIVKIN e PUTT, 1987) A penetração da luz na água do mar é também atenuada pela neve e pelo gelo, sendo que alguns dos aspectos deste regime de luz podem ser comparados com as condições encontradas em águas oceânicas profundas de outras áreas do mundo (KOCK, 1992).

A temperatura das águas continentais antárticas, bem como a das regiões costeiras, usualmente permanece em torno de 0°C durante todo o ano. Devido às temperaturas sempre baixas, a variedade da fauna e da flora é limitada (EASTMAN, 1991).

A pouca variação da temperatura da água não afeta sua densidade, que é controlada pela salinidade. Quando o gelo é formado a partir da água do mar, muitos dos sais são excluídos, aumentando a salinidade e a densidade da água. A baixas temperaturas a água torna-se duas vezes mais viscosa do que as águas quentes de mares temperados. Esta viscosidade afeta a flutuação e a natação dos animais, sua circulação sanguínea e a percepção sensorial, exigindo dos organismos antárticos uma demanda maior de energia quando comparada aos organismos de mares temperados (EASTMAN, 1991) Esta variedade na combinação das características físicas da água gelada é única e teve certamente influência nas adaptações evolucionárias da fauna marinha. Os peixes são caracterizados pela limitada variação no número de famílias e alto grau de endemismo, apesar da idade e

do tamanho do ecossistema, resultado do isolamento geográfico do Continente Antártico (EVERSON, 1984).

A extensa área de água do mar que circunda o continente é o habitat de uma fauna com características especiais. Os conhecimentos sobre a biologia desta fauna foram quase que inteiramente obtidos neste século, existindo ainda consideráveis lacunas nas informações, particularmente nos aspectos da distribuição, abundância e biologia das espécies

A fauna de peixes antárticos é exclusivamente marinha compreendendo 274 espécies pertencentes a 49 famílias. Com 17 gêneros e 50 espécies, a família Nototheniidae é a mais diversificada, no que diz respeito a tamanho, à forma do corpo e à distribuição, demonstrando o alto endemismo da fauna da região (EASTMAN, 1993)

Os nototenídeos possuem algumas das mais espetaculares adaptações fisiológicas encontradas em teleósteos, incluindo a presença de glicoproteínas anticongelantes que previnem o congelamento do sangue e dos líquidos do corpo (De VRIES, 1970, 1971), rins aglomerulares que impedem a perda, pela urina, das pequenas moléculas anticongelantes (DOBBS et al, 1975); reduzido nível de glóbulos vermelhos no sangue, diminuindo sua viscosidade e reduzindo a energia gasta em sua circulação (EVERSON, 1977), flutuação neutra, em algumas espécies, apesar da ausência de bexiga natatória (EASTMAN e HIKIDA, 1991, De VRIES e EASTMAN, 1981; EASTMAN, 1985b, EASTMAN et al, 1994; SIDELL et al, 1995).

Como resultado desta capacidade de adaptação, os nototenídeos contribuem com mais de 90%, em número e biomassa, da fauna de peixes demersais da região (De WITT, 1971; EKAU, 1990). Apesar do número de indivíduos e da biomassa demonstrarem que os nototenídeos são elementos chave na fauna de peixes antárticos, muitos dados sobre sua biologia e diversidade são ainda incompletos e pouco se conhece sobre as interações

tróficas desses peixes com o ecossistema marinho antártico (DE VRIES e EASTMAN, 1981)

O estudo da biologia e, em particular, da alimentação dos peixes da região antártica tem, no presente, adquirido importância devido ao desenvolvimento das atividades pesqueiras de vários países na região a partir de 1960. Estas atividades levam à exploração desenfreada de algumas espécies, apesar da proclamação de boas intenções da Convenção para Conservação dos Recursos Vivos Marinhos Antárticos (CCAMLR) e do Protocolo do Tratado Antártico (POLICANSKY, 1994). Além do crescente interesse nas espécies comerciais antárticas, as pesquisas sobre a biologia e a alimentação dos peixes antárticos são de grande importância na compreensão do ecossistema antártico, já que as espécies não comerciais também possuem importante papel na estrutura trófica do ecossistema (HOURIGAN e RADTKE, 1989). EASTMAN e GRANDE (1989) e CLARKE (1983) citam a oscilação sazonal do alimento como um dos fatores que contribuíram para a grande diversidade dos nototenídeos.

As relações entre a morfologia e os hábitos alimentares têm sido utilizadas para a elucidação dos mecanismos adaptativos importantes na evolução e ecologia de peixes antárticos. Muitos destes estudos utilizam a morfologia externa do corpo, como sua forma, tamanho da boca e rastros branquiais e a correlacionam aos hábitos alimentares e ao tipo de alimento ingerido (De GROOT, 1969, OJEDA, 1986)

Porém, a maior parte das informações obtidas acerca da distribuição, dieta e hábitos alimentares dos peixes antárticos e, em particular, dos nototenídeos foi obtida de exemplares coletados durante o verão e com base na análise do conteúdo estomacal por TARVERDIYEVA (1972); RICHARDSON (1975); MORENO e OSORIO (1977), DANIELS e LIPPS (1978, 1982); TAKAHASHI e NEMOTO (1979); SLOSARCZYK (1981); SLOSARCZYK e WYSOKINSKU (1980), TARGETT (1981), DANIELS (1982);

LINKOWSKI et al. (1983), WILLIAMS (1985), KOCK (1985); EASTMAN (1985a), FOSTER et al. (1987), BARRERA-ORO e CASAUX (1990); CASAUX et al (1990), KELLERMANN (1990), KELLERMANN e SCHADWWINKEL (1991), SINQUE et al. (1991); KIEST (1993); JOHNSTON e BATTRAM (1993), RAKUSA-SUSZCZEWSKI (1993); KOCK et al. (1994); VACCHI et al. (1994) A análise dos conteúdos alimentares tem demonstrado que existem variações consideráveis na composição da dieta e na intensidade com que o alimento é ingerido ao longo das 4 estações do ano ou de acordo com as localidades de coleta dos exemplares utilizados para estes estudos (KOCH, 1992 )

BARRERA-ORO e CASAUX (1990) estudando o hábito alimentar do peixe antártico *Notothenia neglecta*, observaram que muitos organismos presentes na área de coleta estão ausentes do conteúdo estomacal. Assim, sugerem que fatores como tamanho da presa, mobilidade e digestibilidade determinam o tipo particular de presa que é selecionado e sugere que esses fatores podem ser estudados utilizando-se especificamente trabalhos experimentais

Estudos experimentais sobre comportamento alimentar têm demonstrado que as estratégias alimentares apresentadas pelos peixes antárticos apresentam diferenças interespecíficas e que estas estão relacionadas com o nível de adaptação das espécies às variações sazonais nas condições físico-químicas da região. Os peixes antárticos são capazes de ajustar seu comportamento para adaptar-se às mudanças do meio ambiente, como por exemplo, à intensidade luminosa (FANTA et al , 1994).

Através de estudos experimentais foi demonstrado que espécies que habitam o mesmo ambiente e estão sujeitas às mesmas condições, possuem diferentes estratégias de detecção, seleção e captura de alimento. A análise das estruturas sensoriais envolvidas no comportamento alimentar destas espécies demonstram que estes ajustes são possíveis

devido aos diferentes níveis de organização molecular desses organismos, bem como na quantidade e distribuição de estruturas sensoriais ( FANTA et al , 1994. )

Naturalmente não se pode isolar um dos sentidos do animal para estabelecer relações entre a estrutura e a estratégia utilizada nas várias funções vitais, pois todos os sentidos interagem para permitir ao animal um competente relacionamento com o meio ambiente (SCHELLART, 1992; FANTA et al , 1994).

No que concerne a alimentação de peixes antárticos, os estudos atuais que relacionam as estruturas morfológicas às estratégias alimentares são relacionados com o sistema visual GRÖTZNER (1995) relaciona as estratégias alimentares de duas espécies antárticas submetidas experimentalmente a diferentes regimes de luz com as diferenças estruturais da retina e demonstra que estas espécies possuem adaptações estruturais que permitem explicar determinados padrões comportamentais na detecção e captura do alimento Porém, não foram encontradas especializações oculares extremas que fossem características de peixes mesopelágicos ou batipelágicos (MEYER-ROCHOW e KLYNE, 1982, EASTMAN, 1988) Como na região antártica, sazonalmente a função visual é limitada pelos baixos níveis de luz, ocorre uma tendência natural pela dominância dos mecanismos mecanorreceptores em nototenídeos (MONTGOMERY e MACDONALD, 1987, MONTGOMERY e COOMBS, 1992a)

Dentro deste contexto, a linha lateral, presente em todos os peixes, possui importante função e está relacionada com a detecção e localização de movimentos animais a curta distância (KAPOOR, 1965). Em peixes antárticos, os trabalhos envolvendo a morfologia da linha lateral e a resposta a estímulos têm demonstrado que apesar das diferenças morfológicas, a frequência de respostas é relativamente homogênea (MONTGOMERY e COOMBS, 1992a, 1992b, 1994; MONTGOMERY e

MACDONALD, 1987). Entretanto, não são conhecidas as relações da variedade morfológica desta estrutura com o comportamento alimentar

Muitas substâncias odoríferas que possuem função biológica significativa na vida dos peixes são de natureza orgânica. Os mecanismos para a detecção de mudanças químicas no meio ambiente ocorrem em todos os grupos animais, mas são particularmente importantes em animais aquáticos. Em peixes, os órgãos do sentido químico possuem função no comportamento. Estão envolvidos na discriminação de indivíduos da mesma espécie e de diferentes espécies durante os ciclos reprodutivos, atuam na orientação espacial e na defesa e são particularmente importantes na procura e avaliação do alimento (HARA, 1971, DOROSHENKO e MOTAVKIN, 1986; WITHERS, 1992, ZUWALA e JAKUBOWSKI, 1993).

A química-recepção possui uma longa escala de sensibilidade. Com base na localização das estruturas, em sua morfologia, bem como na inervação central, a química-recepção é dividida em 3 categorias: olfação, gustação e senso químico geral (HARA, 1971). Essas modalidades dos sentidos se interrelacionam, sendo que muitas das substâncias causam estímulos aos três órgãos sensoriais (LAGLER et al., 1962; VALENTINCIC e CAPRIO, 1994)

O orifício nasal, bem como toda a estrutura nasal, apresenta vários modelos anatômicos que refletem a função relativa da olfação e as diferentes adaptações ecoestruturais nas diferentes espécies (ZEISKE et al., 1994). A maioria dos peixes teleósteos possui cada cavidade nasal com dois orifícios separados por uma área de epiderme, localizados no lado da cabeça, acima da boca. O fluxo de água entra pela abertura anterior e sai pela abertura posterior. O movimento do fluxo da água pode ocorrer passivamente através da natação ou ativamente por ação de uma válvula, que direciona o fluxo de água que entra, mas permite um fluxo reverso em resposta à ação de músculos

associados a dentes ou brânquias, ou a uma combinação destes (HARA, 1971, LAGLER et al, 1962 )

Os nototenídeos estudados possuem, para cada cavidade nasal, apenas um orifício correspondendo à abertura de um tubo curto. O fluxo de água dentro da cavidade oral ocasiona mudanças de pressão que são transmitidas para a cavidade nasal através de sacos nasais acessórios (JAKUBOWSKI, 1975)

Em todos os teleósteos estudados o saco nasal é recoberto por um epitélio olfatório que é, em geral, composto por uma série de dobras num arranjo denominado de roseta olfatória (HARA, 1971; HIBIYA, 1982; DOROSHENKO e MOTAVKIN, 1986). A roseta olfatória apresenta variações na estrutura da superfície, no número de dobras e sua disposição, determinadas pelas diferenças nas posições taxonômicas e pelos diferentes mecanismos de adaptação do órgão olfatório ao meio ambiente (DOROSHENKO e MOTAVKIN, 1986).

São distinguidas rosetas arredondadas, alongadas e ovais. Estas diferenças anatômicas estão relacionadas com a acuidade olfatória. Assim, espécies com rosetas olfatórias redondas, possuem poucas dobras lamelares e, usualmente, demonstram uma baixa resposta à estimulação olfatória. Espécies com rosetas alongadas, possuem numerosas dobras lamelares e resposta intensa à estimulação olfatória, enquanto que espécies com rosetas ovais possuem características intermediárias entre as duas (BURNE, 1909).

Histologicamente, cada lamela olfatória possui um núcleo central de tecido conjuntivo frouxo, com capilares sanguíneos e vasos linfáticos, onde estão apoiadas células sensoriais, células de sustentação, células basais e células de muco (HARA, 1971; SINHA, 1987a, SINGH e SINGH, 1984, 1987, SINGH, 1994 )

As células receptoras são neurônios bipolares primários que enviam um delgado processo cilíndrico em direção à superfície do epitélio, onde sofrem uma dilatação que

suporta um variável número de cílios que se projetam dentro do lúmem do saco olfatório (DOROSHENKO e MOTAVKIN, 1986, ZEISKE et al., 1994). Os axônios originados do polo basal das células receptoras atravessam a membrana basal e formam o nervo olfatório que termina no bulbo olfatório dentro da cavidade craniana (TUCKER e SMITH, 1976).

As células de sustentação apresentam em geral a mesma estrutura em todos os teleósteos estudados (ZEISKE et al., 1994). São células epiteliais colunares, localizadas entre as células sensoriais, possuem microvilos irregulares em seu ápice e núcleo oval grande localizado basalmente

As células basais ocupam a região imediatamente acima da membrana basal (ZEISKE et al., 1994) Dois tipos têm sido descritos o primeiro tem forma cubóide, com citoplasma claro e núcleo conspícuo e o segundo com núcleo oval ou redondo, que apresenta forte basofilia (SINGH e SINGH, 1987)

As células de muco também foram encontradas em todas as espécies de peixes estudadas (DOROSHENKO e MOTAVKIN, 1986) São encontradas margeando o epitélio olfatório e variam em número nas diferentes espécies. Apresentam forma ovóide, que varia na aparência conforme seu estágio de atividade secretora (SINGH e SINGH, 1987)

A gustação em vertebrados é mediada por botões gustativos Os botões gustativos em peixes, estão presentes na boca, faringe, arcos branquias, apêndices como barbilhões e nadadeiras e também, em algumas espécies, em toda a superfície do corpo (LAGLER et al., 1962, HARA, 1971; WHITEAR, 1971b; OVALLE e SHINN, 1977, WITHERS, 1992; KOTRSCHAL et al., 1993).

Até a presente data existem poucos dados morfológicos sobre botões gustativos de nototenídeos antárticos. Para os teleósteos em geral, os botões gustativos são constituídos tipicamente por células sensoriais ou gustatórias, células de suporte ou sustentação e células basais que apresentam um arranjo típico em forma de tulipa (KAPOOR, 1961, LAGLER et

al, 1962, KAPOOR, 1965; BEIDLER e SMALLMAN, 1965; RAJBANSHI, 1966, HARA, 1971; ZUWALA e JAKUBOWSKI, 1993)

Estudos histológicos de botões gustativos têm revelado variações na forma de exteriorização, tamanho e posição relativa na epiderme de acordo com a localização nas diferentes regiões do corpo e nas diferentes espécies (WHITEAR, 1970, REUTTER et al, 1974), sendo que esses fatores podem refletir na diversidade de estratégias alimentares (MEYER - ROCHOW e KLYNE, 1982, FANTA et al., 1994 ).

As células gustatórias que compõem os botões gustativos são alongadas verticalmente e se estendem da base ao ápice do botão, apresentando-se afiladas em ambas as extremidades. O ápice possui curtas projeções que terminam em um poro gustativo, onde fazem contato com a água. A área que circunda cada poro é composta por células epiteliais, com superfície recoberta por microvilos. O citoplasma é caracterizado pela presença de retículo endoplasmático liso e núcleo localizado na região basal (LAGLER et al., 1962; HARA, 1971; ZUWALA e JAKUBOWSKI, 1993)

As células de suporte localizam-se lateralmente e estão intercaladas às células gustatórias. Ocupam áreas mais basais e são consideradas de suporte porque formam um tipo de envelope que circunda o botão gustativo (KAPOOR, 1961, 1965; RAJBANSHI, 1966). O citoplasma das células de suporte contém um grande número de tonofilamentos, microtúbulos e retículo endoplasmático liso (ZUWALA e JAKUBOWSKI, 1993).

O número de células basais varia nas diferentes espécies estudadas. Possuem forma discoidal e estão em contato com a membrana basal da base dos botões gustativos. O citoplasma contém tonofilamentos, retículo endoplasmático liso e frequentemente apresenta grânulos de glicogênio. O núcleo é grande e orientado transversalmente (HARA, 1971, KAPOOR, 1965, RAJBANSHI, 1966; ZUWALA e JAKUBOWSKI, 1993). Foram observadas vesículas sinápticas que formam grupos nas regiões de contato sináptico da

célula basal e terminações nervosas que penetram na papila dermal do botão e formam um plexo de nervos abaixo da célula basal. Este plexo nervoso é composto por uma intrincada mistura de processos das células de suporte e gustatórias (WHITEAR, 1971a).

O senso químico geral, assim denominado primeiramente por PARKER (1912), está localizado na superfície do corpo de peixes teleósteos. Ele é composto por terminações nervosas e células sensoriais e sua sensibilidade é considerada baixa, quando comparada à olfação e à gustação (HARA, 1971).

Como a epiderme de peixes, media um grande número de funções sensoriais, pode ser considerada como um dos órgãos sensoriais (WHITEAR e MITTAL, 1986; KOTRSHAL et al., 1993).

A literatura sobre morfologia do tegumento é numerosa, entretanto são raros os trabalhos que fazem uma abordagem correlacionando a estrutura com a função. Como órgão primário de interface, a epiderme de nototenídeos é exposta a condições ambientais típicas da região antártica e representa além de um órgão sensorial, uma barreira morfológica entre a propagação do gelo e a difusão do oxigênio (DOWNING e NOVALES, 1971a). Existem poucos trabalhos sobre a epiderme dos peixes que vivem em condições polares e sobre peixes antárticos, sendo que esses trabalhos enfocam principalmente a ocorrência de proteínas anticongelantes (VALERIO et al., 1992) e a difusão de oxigênio (WELLS, 1986).

A epiderme de organismos aquáticos é uma estrutura heterogênea, constituída por um número variável de camadas, onde se distribuem diferentes tipos celulares e glandulas unicelulares (WHITEAR, 1970, DOWNING e NOVALES, 1971a, LILLYWHITE e MADERSON, 1988). Sua estrutura geral, no entanto, varia pouco nas diferentes espécies de peixes, sendo composta basicamente por 3 camadas. a mais externa ou camada superficial que recobre o corpo, a camada intermediária e a camada basal (KITZAN e

SWEENY, 1968; WHITEAR, 1970, MITTAL e BANERJEE, 1974, SCHLIWA, 1975, HIBIYA, 1982; AGARWAL e SHAH, 1987; SINGH e MITTAL, 1990).

A camada basal é constituída por células indiferenciadas que apresentam, em geral, formato alongado, com os núcleos variando de esféricos a alongados, sendo frequente as figuras de mitose. Entre as células são observados espaços intercelulares. A camada intermediária apresenta células com formatos irregulares, os núcleos são esféricos e os espaços intercelulares são menos proeminentes (KITZAN E SWEENY, 1968; AGARWAL e SHAH, 1987). A camada superficial é composta usualmente por uma camada de células pavimentosas ou de forma cubóide, apresentando portanto, núcleos frequentemente esféricos ou achatados, não sendo observados espaços intercelulares nesta camada. A superfície externa das células apresenta uma série de dobras de membrana denominadas de microsaliências (MERRILEES, 1974, SCHLIWA, 1975), que possuem variável densidade, tamanho e formato nas diferentes espécies estudadas (HAWKES, 1974; SPERRY e WASSERSUG, 1976)

Em todas as camadas celulares da epiderme são distinguidas células secretoras de muco, que se diferenciam a partir de células basais e, gradualmente, ao mesmo tempo em que aumentam de tamanho, aproximam-se da região superficial onde eliminam seu produto (HENRIKSON e MATOLTSY 1968a, MITTAL e BANERJEE, 1974), constituem assim, uma cutícula mucóide que recobre toda a superfície corporal (WHITEAR, 1970, 1990, WHITEAR e MITTAL, 1986; SINGH e MITTAL, 1990).

Glândulas unicelulares grandes, presentes na epiderme de peixes teleósteos, têm sido distinguidas de células de muco e são denominadas de células claviformes. Sua principal característica é o seu grande tamanho, quando comparada a outros tipos celulares presentes. O núcleo é irregular e localizado no centro da célula. O conteúdo celular não foi ainda definido quimicamente e sua função parece estar relacionada com substâncias de

alarme que mediam respostas intra e interespecíficas (HENRIKSON e MATOLTSY, 1968b, DOWNING e NOVALES, 1971b, ZACCONE et al , 1990)

Apesar das células epiteliais e células secretoras serem os tipos estruturais básicos da epiderme de peixes, vários outros tipos celulares têm sido descritos em diferentes espécies. Teleósteos marinhos apresentam células alongadas, com núcleos centrais, orientadas na direção perpendicular à superfície da pele, que exibem as mesmas propriedades de coloração que as células receptoras dos botões gustativos. Estas células diferenciam-se ultraestruturalmente das células epiteliais e são relacionadas com funções quimiosensoriais (WHITEAR, 1965).

Os órgãos químio-sensoriais estão envolvidos no desenvolvimento de diferentes funções básicas para a manutenção do organismo, como por exemplo a alimentação. Apesar de sua importância, as informações morfológicas e funcionais disponíveis são relativamente pequenas quando comparadas a outros sistemas

Devido a suas características especiais, a região antártica é hoje um desafio para aqueles que procuram compreender as adaptações desenvolvidas pelos organismos aquáticos às condições locais, que naturalmente se alteram ao longo dos dias e estações do ano, influenciando o comportamento alimentar das espécies.

Como já comentado anteriormente, nos últimos anos, muitas espécies de peixes têm sido capturadas comercialmente, sem que, no entanto, estudos sobre sua biologia e ciclo de vida tenham sido desenvolvidos por completo. As inúmeras adaptações que estas espécies sofreram ao longo da evolução são, ainda hoje, parcialmente desconhecidas.

Ao abordar o estudo da morfologia e distribuição das estruturas quimiosensoriais e relacioná-las ao comportamento alimentar, este trabalho, além de fornecer dados básicos da morfologia destes órgãos para a espécie, não disponíveis na literatura, procura trazer um novo enfoque à área de estudo da alimentação. O comportamento alimentar é fundamental

para a compreensão da distribuição das espécies antárticas, de sua posição na cadeia trófica e de sua importância na estrutura do ecossistema.

O estudo morfofuncional reveste-se ainda de importância porque alia os conhecimentos básicos da estrutura morfológica com os dados comportamentais obtidos experimentalmente, fornecendo assim condições de elucidar alguns dos mecanismos de adaptação das espécies estudadas a diferentes fatores ambientais

## 2. OBJETIVOS

- Analisar a capacidade funcional dos órgãos químio-sensoriais do *T. newnesi* através de ensaios experimentais.
- Descrever a morfologia dos órgãos de olfação, gustação e senso químico geral do peixe antártico *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902, através de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura
- Analisar do ponto de vista morfofuncional a capacidade químio-sensorial do peixe antártico *T. newnesi*.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Local de Estudo.

O continente Antártico possui 14 milhões de km<sup>2</sup>. Sua forma quase circular é interrompida pela curvatura da Península Antártica e dois profundos Golfos, os Mares de Weddell e Ross. A cadeia de montanhas Transantárticas divide o continente em Antártica Oeste e Antártica Leste (Fig 1).

A Antártica Ocidental é uma área montanhosa que inclui a Península Antártica. Esta possui um conjunto de 62 ilhas, consideradas parte da região sub glacial, que constituem o Arquipélago das Shetlands do Sul (Fig 2a). A Ilha do Rei George é a maior ilha deste arquipélago e está situada a oeste da Península Antártica entre 57° 35' e 59° 15' W e 62° S (Fig. 2b). Embora possua 95% de sua área coberta por gelo perene, a Ilha do Rei George supre a região de portos naturais e praias com locais para desembarque relativamente rasos e livres de gelo no verão (HEADLAND e KEAGE, 1985).

Nestas áreas é encontrada a flora terrestre da ilha, compreendendo algas, fungos, líquens e musgos. A fauna terrestre é composta principalmente por rotíferos, colêmbolas, insetos e várias espécies de crustáceos. Os vertebrados são representados por pássaros e mamíferos marinhos que ocorrem apenas sazonalmente.

A Baía do Almirantado é um vale pós-glacial com profundidade máxima de 530 a 540 metros e que se abre para o Estreito de Bransfield no lado sul da Ilha Rei George.

(SKORA, 1993). Seu ecossistema é influenciado pela presença de terra que, livre de gelo no verão, constitui-se num local de nidacão de pássaros e reprodução de mamíferos marinhos, que produzem matéria orgânica que é transportada pelo vento e ondas característicos da região, enriquecendo o solo e as águas interiores da Baía (RAKUSA-SUSCZEWSKI, 1993). A ictiofauna da Baía do Almirantado é composta principalmente por espécies de peixes circunantárticos pertencentes em sua maioria à família Nototheniidae. Compreende espécies residentes durante todo o ciclo de vida assim como espécies que habitam a área entre o estágio demersal e pelágico (SKORA, 1993).

Na Baía do Almirantado, às margens da Península Keller, em 1984, foi instalada a Estação Antártica Comandante Ferraz ( EACF ) que fornece apoio logístico para o desenvolvimento de pesquisas científicas ( Fig. 3a, b ). A Estação está equipada com botes infláveis e lancha oceanográfica para coleta de organismos marinhos. Suas instalações contam com um módulo de triagem para espécimes biológicos, um laboratório mantido a zero grau e laboratórios com temperatura controlada, destinados à execução dos projetos da área biológica.

## 3.2 Material Biológico

Dentre as espécies da família Nototheniidae que habitam a Baía do Almirantado durante todo o ciclo de vida inclui-se o peixe *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 (SKORA, 1993) (Fig. 4a)

O *T. newnesi* é uma espécie amplamente distribuída na costa da Península Antártica, ao sul das Shetlands do Sul, nas Ilhas Orkney, além das regiões costeiras do continente

Antártico, a profundidades de até 160 metros (FISHER e HUREAU, 1985) (Fig. 4b). Esta espécie possui o corpo moderadamente comprimido lateralmente, cabeça e boca comprimidas dorso-ventralmente e a boca apresentando-se em posição supraterminal. O corpo apresenta coloração marrom clara, sendo escuro dorsalmente (FISCHER e HUREAU, 1985).

*Trematomus newnesi* possui a dieta menos diversificada de todas as espécies estudadas nas Shetlands do Sul (CASAUX et al., 1990). Anfipodas gamarídeos são a sua principal presa, sendo as algas consumidas apenas ocasionalmente (VACCHI et al., 1995)

Apesar da espécie não ser ainda explorada comercialmente, *T. newnesi* tem sido objeto constante de estudo, pois possui importante posição na cadeia alimentar da região, constituindo-se em um item alimentar de diversos pássaros marinhos e das focas de Weddel (KOCK, 1992).

### 3.3 Método de Captura

As coletas foram realizadas na Enseada Martel, Baía do Almirantado, durante o verão antártico de 1993 e 1994.

A captura dos espécimes utilizados no desenvolvimento deste trabalho, foi realizada através de rede de espera de fundo, do tipo tri-malha “feiticeira”, lançada a profundidades entre 40 e 100 metros, por um período de 24 horas

Este método permitiu a captura de espécimes vivos de peixes de diversas espécies da família Nototheniidae, que foram transportados em tambores, contendo água do mar, para os tanques do módulo de triagem da Estação Antártica Comandante Ferraz

Foram realizadas coletas com rede de arrasto a profundidades entre 20 e 100 metros e coletas com redes manuais, tipo puçá, a profundidade de 0,5 a 1 metro para a captura de diversos gêneros anfípodas que foram utilizados como itens alimentares durante o desenvolvimento deste trabalho

### **3.4 Aclimação e Manutenção**

O laboratório zero grau da Estação Antártica Comandante Ferraz é dotado de sistema de captação de água do mar e sistema de refrigeração que permite a manutenção dos espécimes em condições abióticas controladas (temperatura  $1^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ), pH 7.5 ( $\pm 0.2$ ) e salinidade a 34 ‰. Os exemplares de *Trematomus newnesi* foram selecionados e transferidos para tanques de 500 litros por um período de 5 dias para recuperação e aclimação

Os invertebrados coletados, utilizados como itens alimentares, foram triados por gênero e mantidos em caixas plásticas, com condições abióticas controladas

Após período de aclimação, espécimes de *T. newnesi*, de comprimento total médio 12 cm ( $\pm 1,0$  cm) foram selecionados e transferidos para aquários de 70 litros.

#### **3.4.1 Aquários Experimentais**

Os aquários utilizados para aclimação e desenvolvimento da fase experimental deste trabalho foram revestidos externamente, nas faces laterais e posteriores por papel “contact” verde (FANTA, 1995) e as faces frontais foram quadriculadas com quadrados de

10cm<sup>2</sup> de lado (Fig. 16a ). O fundo do aquário foi recoberto com pequenos seixos, de modo a simular um substrato rochoso. Duas pedras maiores foram colocadas no fundo do aquário e dispostas de maneira a simular uma toca natural. A parte superior do aquário foi fechada com tela de “nylon”, contendo orifícios, por onde foram introduzidas mangueira de aeração e sensores que permitiram a aferição diária das condições abióticas. Sobre cada aquário foram colocadas lâmpadas de luz fria de 15 Volts, sendo estabelecido um fotoperíodo de 20 horas luz e 4 horas escuro, simulando as condições de luminosidade da região no período de realização do experimento

A temperatura da água foi mantida a 1° C ( $\pm 0.2$ ), pH 7.5 ( $\pm 0.2$ ) e a salinidade a 34‰. A temperatura e o pH da água dos aquários foram medidos com o auxílio de sensores eletrônicos de campo Digi-sense pH Meter, da marca Cole-Palmer modelo 59880 ® e a Salinidade através de um refratômetro Atamo ®

### 3.5 Fase Experimental

Na fase experimental foram utilizados dois aquários, cada um contendo 4 exemplares de *Trematomus newnesi*, identificados de acordo com FISCHER e HUREAU (1985)

A fase experimental foi desenvolvida em duas etapas. A primeira etapa, foi realizada com o objetivo de analisar a cronologia alimentar e preferências alimentares de *Trematomus newnesi*. Na segunda, foi analisada a capacidade de detecção, captura e seleção dos alimentos.

As condições abióticas, utilizadas na aclimação, foram mantidas durante toda a fase experimental. Nas duas etapas experimentais o período de luz iniciou-se às 6:00 horas encerrando-se às 02:00 horas, perfazendo um total de 20 horas luz.

Todos os testes alimentares foram realizados durante o período de luz. O período destinado à realização dos testes alimentares foi estabelecido em 15 horas, iniciando-se duas horas após o início do período de luz e encerrando-se três horas antes de seu término. Este período foi dividido em três subperíodos: até 6 horas após início do período de luz (T<sub>0</sub>), entre 6 e 12 horas após o início do período de luz (T<sub>0</sub>) e entre 12 e 18 horas após o início do período de luz (T<sub>0</sub>). Os testes foram realizados em cada aquário em cada um dos três subperíodos. Foi estabelecido um intervalo de três horas entre um teste e outro, evitando-se assim a estimulação constante. Cada teste alimentar teve duração de 72 horas, sendo seguido de um intervalo de 24 horas, destinado à manutenção e preparação dos aquários para um novo teste.

Diariamente, após o encerramento dos períodos de testes, os peixes recebiam ração alimentar composta de vários gêneros de anfípodos.

Durante a realização dos testes da primeira e segunda etapas foram realizadas vídeo-filmagens para posterior análise do comportamento e das estratégias alimentares desenvolvidas pelo *Trematomus newnesi*.

### 3.5.1 Teste Alimentar 1

O teste alimentar 1 foi realizado com o objetivo de determinar a preferência alimentar de *Trematomus newnesi*, quando em presença de diferentes itens alimentares. Para seu desenvolvimento foi preparada uma ração alimentar contendo vários gêneros de

anfipodas vivos , que variavam no tamanho, na cor e nos níveis de motilidade. Esta ração foi oferecida por introdução direta nos aquários (Fig. 5a), observando-se a relação entre a dispersão e comportamento das presas, e o método de detecção, captura e seleção desenvolvidos pelo *Trematomus newnesi*.

### **3.5.2 Teste Alimentar 2**

O teste alimentar 2 foi realizado com o objetivo de ser observada a capacidade de detecção e seleção de alimentos acidificados e adocicados. Para o desenvolvimento dos testes foram preparadas três rações alimentares

- a) Ração Acidificada. anfipodas de vários gêneros foram imersos em solução diluída de ácido acético, por um período de 6 horas e, em seguida, lavados em água do mar.
- b) Ração Adocicada. anfipodas de vários gêneros foram imersos em solução de glicose saturada por um período de 6 horas e, em seguida, lavados em água do mar.
- c) Ração Neutra: anfipodas mortos de vários gêneros, sem tratamento prévio, lavados em água do mar

Nos horários previamente estabelecidos, estas rações alimentares foram introduzidas diretamente no aquário (Fig. 5b), tendo sido observadas a capacidade de detecção, bem como da seleção do alimento antes e depois da captura, e o índice de rejeição para cada alimento

### **3.5.3 Teste Alimentar 3**

O teste alimentar 3 foi realizado com o objetivo de analisar isoladamente a ação do estímulo apenas visual na detecção das presas. Para o seu desenvolvimento foram introduzidas no centro de cada aquário, cubas plásticas transparentes de 20 cm de diâmetro e contendo 1,5 litros de água do mar. No fundo de cada cuba foram colocadas pedras de modo a tornar o ambiente semelhante ao do aquário. Não foi estabelecido nem um tipo de comunicação entre a água das cubas e a água dos aquários (Fig. 6a). Nos horários previamente estabelecidos, anfípodas de vários gêneros eram introduzidos na cuba por um período de 10 minutos. Durante este período foi avaliada a resposta dos peixes ao estímulo visual resultante da presença de presas e o seu comportamento frente à impossibilidade de captura. Após o período destinado a cada teste, as cubas eram retiradas, lavadas e novamente posicionadas no centro do aquário para o novo teste. Este procedimento foi adotado para evitar-se um estímulo constante causado pela presença dos anfípodas.

#### **3.5.4 Teste Alimentar 4**

O teste 4 foi desenvolvido com o objetivo de analisar a capacidade de detecção de alimentos por estímulos apenas químico. Para seu desenvolvimento anfípodas de vários gêneros foram triturados em água do mar, sendo o caldo produzido filtrado e diluído em água do mar. Uma cuba plástica de 20 cm de diâmetro e com capacidade de 1,5 litros foi posicionada do lado externo do aquário, fora do alcance visual dos peixes (Fig. 6b). Nos horários previamente estabelecidos para a realização dos testes foi introduzido um sifão que estabeleceu comunicação entre a cuba contendo caldo de anfípodas e a água do aquário. Este método permitiu a troca contínua de substância química entre os dois meios,

sem a introdução de grandes quantidades de substâncias no aquário. Durante a realização do teste foi avaliada a reação de *Trematomus newnesi* frente a estímulos apenas químicos, sem a presença da presa.

### 3.5.5 Teste Alimentar 5

O teste alimentar 5 foi desenvolvido com o objetivo de analisar a resposta a estímulo apenas químico desencadeado pela presença de presas vivas e estímulos químico e visual simultaneamente. Para seu desenvolvimento foram utilizadas duas cubas plásticas transparentes, dispostas da seguinte maneira:

Cuba A: a cuba foi introduzida no centro do aquário (Prancha 07a). Nos horários previamente estabelecidos foram introduzidos na cuba anfípodas de vários gêneros e estabelecida a comunicação, por intermédio de sifão entre a água do aquário e das cubas plásticas. Assim permitiu-se o contato químico e visual entre predador e presas.

Cuba B: posicionada do lado externo do aquário, fora do campo visual dos peixes (Fig. 07b). Nos horários previamente estabelecidos foram introduzidos nesta cuba anfípodas de vários gêneros, sendo estabelecido contato, através de sifão, entre a água da cuba e a água do aquário sem no entanto ocorrer a introdução dos anfípodas no aquário. Esta situação permitiu o contato químico entre predador e presa, mas não visual.

Os testes foram realizados com intervalos de 3 horas, utilizando-se alternadamente as cubas internas e externas. Durante a realização dos testes foi analisado o comportamento de *Trematomus newnesi* frente a estímulo apenas químico e químico e visual simultaneamente.

## **3.6 Estudos Morfológicos**

### **3.6.1 Dissecção**

Visando o estudo das estruturas químio-sensoriais, após o período de testes, todos os exemplares foram sacrificados, após secção medular, para coleta de amostras para estudo morfológico através de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura

A dissecção dos espécimes foi realizada a 4°C, tendo sido coletados os lábios superior e inferior, a região infra-orbital, as narinas, as bochechas, a região do assoalho bucal externo, e a região infra-orbital (Fig 8). Todas as peças coletadas foram lavadas em solução salina de Cortland (WOLF, 1963).

### **3.6.2 Fixação e Processamento Histológico para Microscopia Óptica<sup>1</sup>**

Após a lavagem, as amostras foram fixadas em Fluido de Bouin (CULLING et al., 1985) por um período de 8 horas, em formol tamponado (CULLING et al., 1985) por 12 horas ou em Gendre (CULLING et al., 1985) por 6 horas. Após o período de fixação as peças foram transferidas para álcool 70% onde foram conservadas para posterior processamento.

O processamento histológico foi realizado no Laboratório de Impacto Ambiental, Departamento de Biologia Celular, da Universidade Federal do Paraná. Todas as peças

---

<sup>1</sup> Roteiros de técnicas descritos no apêndice

foram submetidas à desidratação em série alcoólica, diafanizadas em Xilol e incluídas em Paraplast-Plus®.

Os blocos obtidos foram trimados em forma de pirâmide e seccionados em Micrótomo de parafina da marca Wetzlar. Os cortes obtidos, com espessura entre 2 e 4 µm, foram dispostos sobre lâmina de vidro contendo Albumina de Mayer (CULLING et al., 1985), distendidos em placa aquecedora e secos em temperatura ambiente

### **3.6.3 Colorações para Microscopia Óptica.**

Várias técnicas de coloração foram utilizadas visando a identificação morfológica e funcional das estruturas químio-sensoriais

O corante Giemsa (BDH, 1969) foi utilizado para evidenciar as lamelas que compõem a roseta olfatória.

A coloração com Hematoxilina-Eosina (BÜCHERL, 1962) foi utilizada por permitir a identificação e localização dos diferentes tipos celulares existentes no epitélio aonde estão contidas as diversas estruturas estudadas

O Tricrômico de Mallory (CLARK, 1981, modificado) foi utilizado para a diferenciação dos diferentes tecidos que compõem as estruturas estudadas.

Para a identificação de glicosaminoglicanas presentes em abundância no epitélio dos peixes foi utilizado o Alcian Blue em pH 0,5 e pH 2,5 (CULLING et al., 1985) que possibilitam a diferenciação entre glicosaminoglicanas ácidas sulfatadas e carboxiladas. O contraste foi em alguns casos obtidos com Hematoxilina de Harris ou Hematoxilina Férrica de Heidenhain (CULLING et al., 1985)

### **3.6.4 Análise das Lâminas Histológicas**

As lâminas histológicas foram analisadas e documentadas em Fotomicroscópio Olympus PM 10AD do Laboratório de Estudos de Impacto Ambiental, Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná, utilizando-se filmes Kodakcolor 35mm e Asa 100

### **3.6.5 Fixação e Processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura<sup>1</sup>**

As peças destinadas ao estudo através de Microscopia Eletrônica de Varredura, foram fixadas em Glutararaldeído a 3,0% em tampão cacodilato a 0,2 M, pH 7,2 por um período de 24 horas, a 4°C Após o período de fixação, as peças foram lavadas em água destilada e submetidas à desidratação em série alcoólica, sendo conservadas em álcool 70% a 4°C

No Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, estas peças foram desidratadas em álcool 90% e álcool 100%, submetidas ao ponto crítico em um Balzers SCD-030 e metalizadas em ouro (CULLING et al., 1985 e GLAUERT, 1986) A análise e documentação foram realizadas em Microscópio Phillips 505.



**FIG. 1**

- Mapa do Continente Antártico mostrando as montanhas Transantárticas que separam a Antártica Leste da Antártica Oeste e a localização da Península Antártica

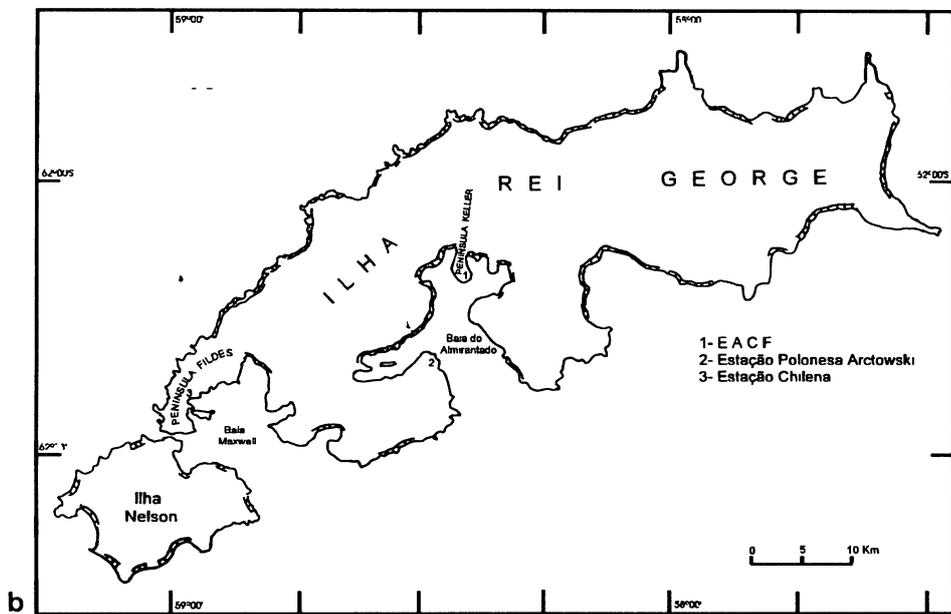
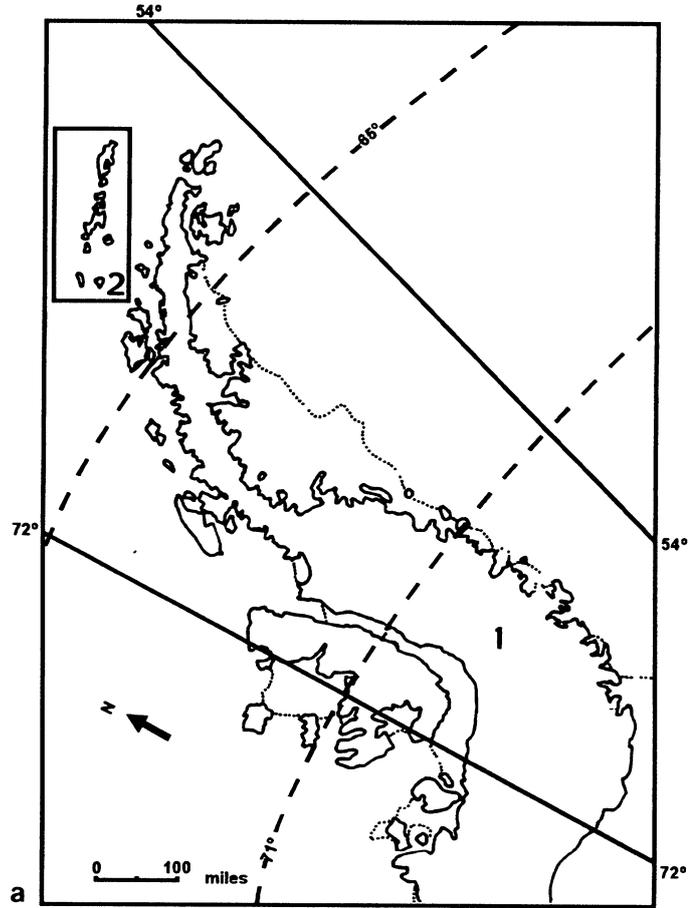
FIGURA 1



**FIG. 2**

- ( a ) Mapa da Península Antártica ( 1 ) Em detalhe, o Arquipélago das Shetlands do Sul ( 2 )
- ( b ) Mapa da Ilha Rei George, onde se localiza a Baía do Almirantado, na qual se situa a Estação Antártica Comandante Ferraz ( EACF ).

FIGURA 2



**FIG. 3**

- ( a ) Vista da Estação Antártica Comandante Ferraz, localizada às margens da Península Keller, Baía do Almirantado
  
- ( b ) Vista aérea da Estação Antártica Comandante Ferraz, com disposição dos módulos que a compõem e do lago de captação de água.

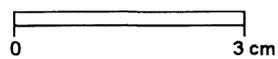
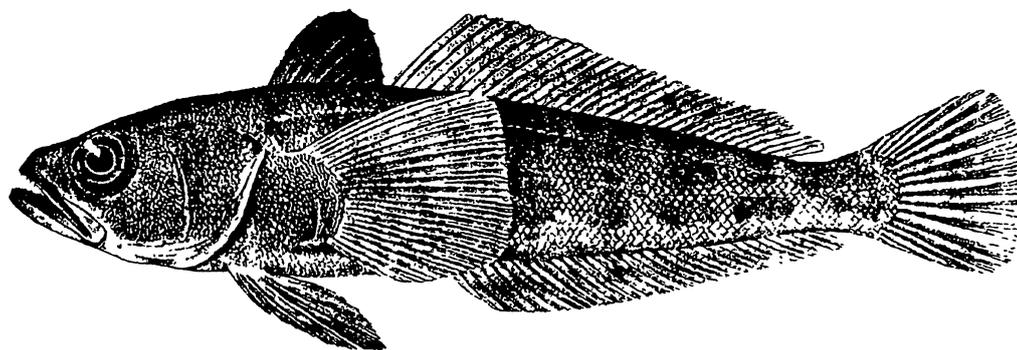
FIGURA 3



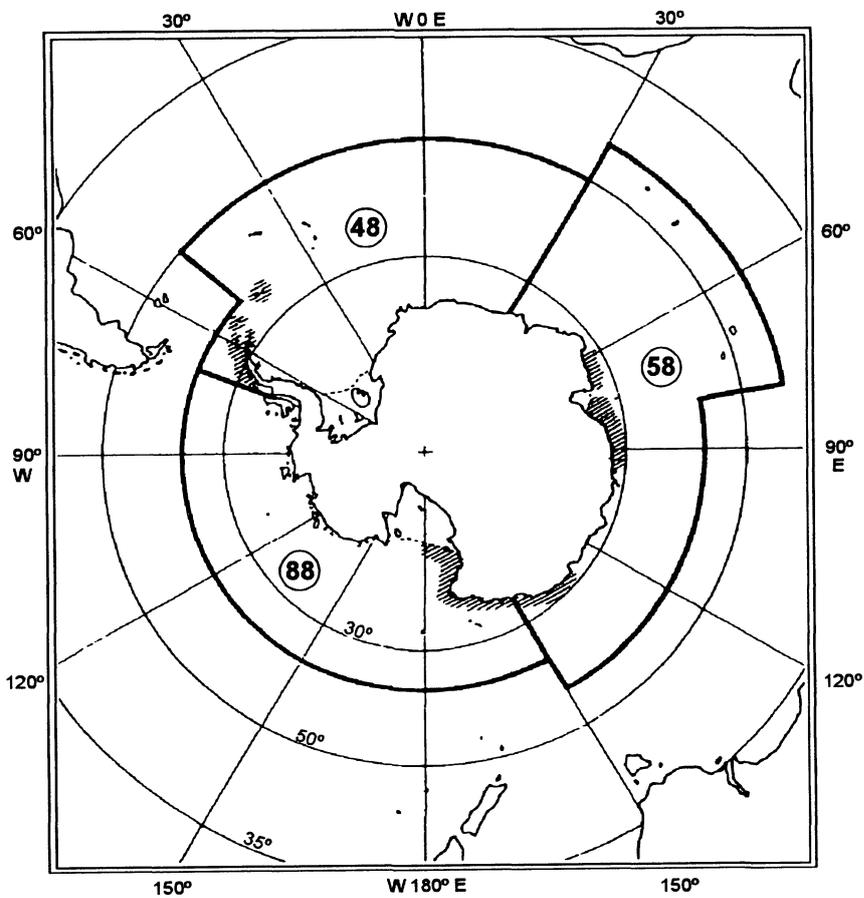
**FIG. 4**

- ( a ) *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 ( FISHER e HUREAU, 1985 )
  
- ( b ) Mapa da região Antártica. Em sombreado, a distribuição da espécie *Trematomus newnesi* na costa da Península Antártica, no sul das Shetland do Sul, nas Ilhas Orkney, além das regiões costeiras do continente (FISHER et al, 1985 ). Os números 48, 58 e 88 referem-se a áreas em que a Convenção para Conservação dos Recursos vivos Marinhos Antárticos (CCAMLR ) regulamenta as atividades pesqueiras.

FIGURA 4



a



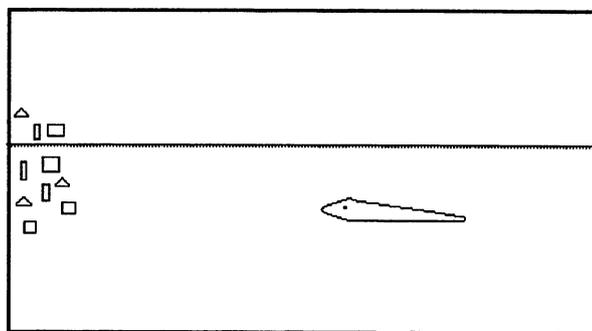
B

**FIG. 5**

- ( a ) Representação esquemática do Teste Alimentar 1 Oferta de anfípodas vivos introduzidos diretamente nos aquários
  
- ( b ) Representação esquemática do Teste alimentar 2 Anfípodas mortos acidificados e adoçados introduzidos diretamente no aquário.

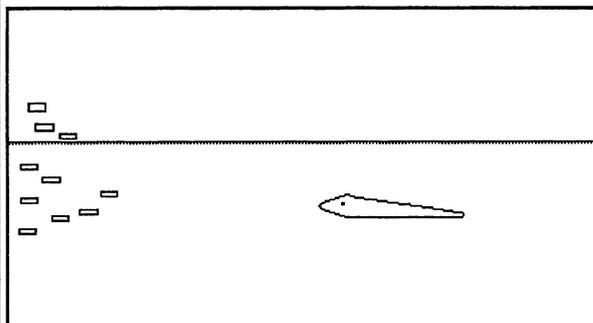
Obs Da mesma forma, neste teste, também foi introduzida a ração neutra

FIGURA 5

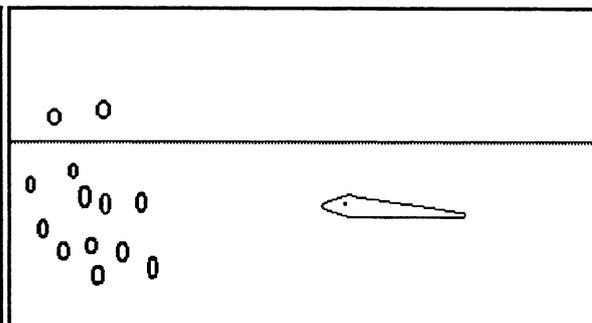
TESTE ALIMENTAR 1

□ - Anfipodas de vários gêneros  
△

a

TESTE ALIMENTAR 2

□ - Alimento Adocicado

TESTE ALIMENTAR 2

○ - Alimento Acidificado

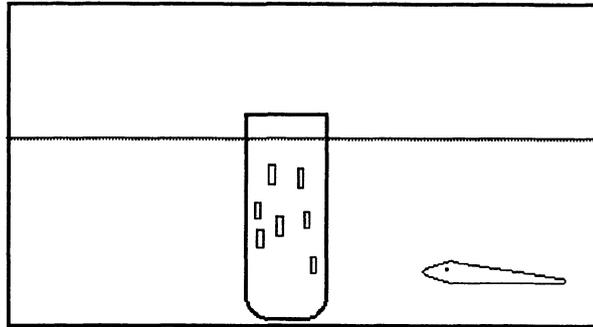
b

**FIG. 6**

- ( a ) Representação esquemática do Teste Alimentar 3 Anfipodas introduzidos em cuba posicionada no centro do aquário, permitindo apenas comunicação visual
- ( b ) Representação esquemática do Teste Alimentar 4 Extrato de anfipodas em cuba externa, permitindo apenas comunicação química

**FIGURA 6**

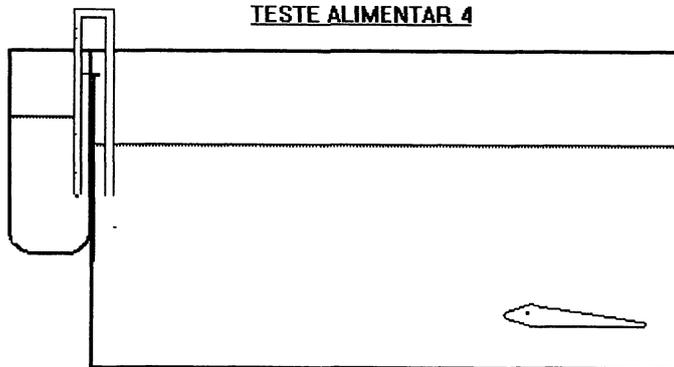
**TESTE ALIMENTAR 3**



□ - Anipodas na cuba sem comunicação com o aquário

a

**TESTE ALIMENTAR 4**



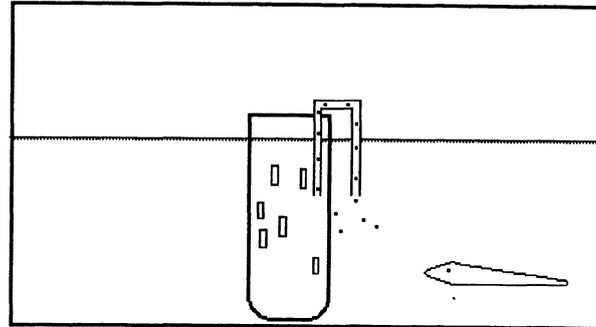
⊗ - Extrato de anipodas

b

**FIG.7**

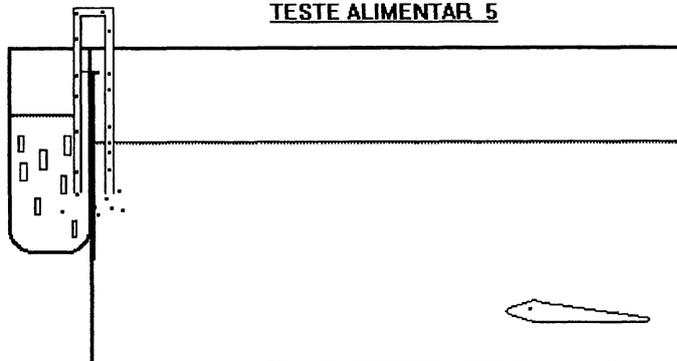
- ( a ) Representação esquemática do Teste Alimentar 5a oferecidos anfipodas na cuba com comunicação química e visual
- ( b ) Representação esquemática do Teste Alimentar 5b oferecidos anfipodas em cuba posicionada no lado externo do aquário, com comunicação química e sem comunicação visual.

## FIGURA 7

TESTE ALIMENTAR 5

▭ - Anfipodas na cuba com comunicação com o aquário

a

TESTE ALIMENTAR 5

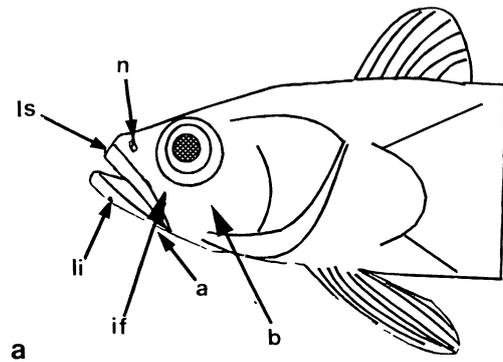
▭ - Anfipodas em cuba externa com comunicação

b

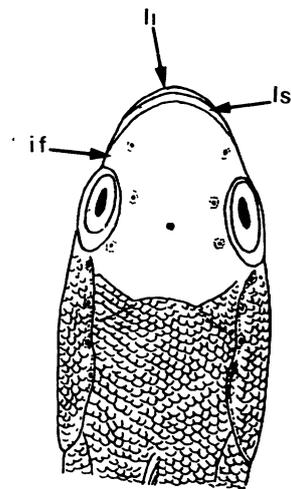
**FIG. 8**

- ( a ) e ( b ) Estruturas e regiões da cabeça de *T. newnesi* coletadas para estudos histológicos e ultraestruturais através de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura ( n ) narina, ( ts ) lábio superior; ( li ) lábio inferior, ( if ) região infra-orbital; ( b ) bochecha, ( a ) assoalho bucal externo

FIGURA 8



a



b

## 4. RESULTADOS

### 4.1 - Testes Alimentares

#### 4.1.1 Teste Alimentar 1

No teste alimentar 1 foram introduzidos diretamente no aquário vários gêneros de anfípodas vivos, entre os quais predominam *Gondogenea antarctica* e *Waldeckia obesa* que apresentaram dois comportamentos distintos. Os anfípodas do gênero *G. antarctica* nadam ativamente por todo o aquário, apenas nos dois primeiros minutos do teste, indo em seguida ao fundo e permanecendo sobre o substrato rochoso, enquanto que os anfípodas do gênero *W. obesa* permanecem em atividade ao longo de todo o teste.

Na presença dos anfípodas o *Trematomus newnesi*, inicialmente em repouso, entra imediatamente em atividade, nadando na coluna de água, com o corpo orientado paralelamente em relação ao fundo do aquário. O ataque à presa é rápido e após a apreensão ocorre um giro do corpo de 180 graus com retorno à posição inicial. O *T. newnesi* alimenta-se preferencialmente dos anfípodas do gênero *G. antarctica*, apresentando um índice de acerto de captura de 100%. Os anfípodas do gênero *W. obesa* são capturados apenas nos 2 minutos iniciais do teste, quando há uma grande dispersão de anfípodas no aquário, sendo posteriormente rejeitados.

O número de presas ingeridas pelo *T. newnesi* diminui em todos os testes em média de 10 presas ingeridas no primeiro minuto do teste para uma presa no quinto minuto (Fig. 9). Após a diminuição do número de anfípodas em atividade o *T. newnesi*, permanece

ativo, adotando uma nova postura, mantendo o corpo oblíquo ao fundo do aquário, nadando lentamente e, posteriormente, voltando à sua posição inicial de repouso no substrato, preferencialmente atrás de rochas ou dentro de tocas

Os testes realizados 6, 12 e 18 horas após o início do período de luz ( $T_0$ ) revelaram o mesmo padrão de comportamento alimentar. Observou-se, entretanto, uma diminuição do número total de presas capturadas e ingeridas: de uma média de 25 presas nos testes realizados até 6 horas após o início do período de luz ( $T_0$ ) para 20 presas nos testes realizados entre 6 e 12 horas e 12 presas nos testes realizados entre 12 e 18 horas após o início do período de luz ( $T_0$ ) (Fig. 9).

#### 4.1.2 Teste Alimentar 2

O teste alimentar 2 foi realizado oferecendo-se anfípodas mortos acidificados, adocicados, e neutros. Ao serem introduzidos no aquário, os anfípodas permaneceram flutuando na água durante os dois primeiros minutos do teste e posteriormente depositaram-se no substrato rochoso.

Imediatamente após a introdução de anfípodas acidificados e adocicados, ocorreu detecção das presas pelos *T. newnesi*, que entraram em natação. Ocorreu a captura e posterior rejeição de 100% do alimento capturado em todos os horários do período de luz (Fig 10 e 11). Entretanto ao ser ofertado anfípoda neutro, observou-se detecção e captura das presas, ocorrendo rejeição apenas nos testes realizados entre 12 e 18 horas após o início do período de luz (Fig 12)

Ao ser ofertada ração morta, com os três tipos de tratamento, foi observado uma diminuição do número total de presas apreendidas. Em média, ao longo do período de luz,

foram apreendidas 32 presas adocicadas, 19 presas acidificados, posteriormente rejeitadas e 26 presas neutras, (Fig. 10, 11 e 12) enquanto que no Teste Alimentar 1 foram apreendidas e ingeridas 60 presas.

#### 4.1.3 Teste Alimentar 3

Foram introduzidos anfipodas de vários gêneros em cuba posicionada no centro do aquário, estabelecendo-se, assim, comunicação visual, sem no entanto estabelecer-se comunicação química com a água do aquário. Os anfipodas na cuba mantiveram-se em movimento constante durante todo o tempo de duração do teste. O *T. newnesi*, detectou imediatamente as presas (Fig. 13a), abandonando a posição inicial de repouso, nadando em torno da cuba, com o corpo posicionado horizontalmente em relação ao fundo do aquário e disparando ataques à cuba, executando os mesmos movimentos para captura de presas observados no teste alimentar 1 (Fig. 13b)

O número de ataques à cuba decresceu em média de 10 no primeiro minuto para 2 ataques no quinto minuto do teste, sendo substituído por natação em torno da mesma, quando então o *T. newnesi* adotou posicionamento do corpo oblíquo ao fundo do aquário (Fig. 14a) Ao final do teste todos os indivíduos permanecem em repouso no substrato rochoso, em torno da cuba (Fig. 14b). Observa-se agressões e perseguições quando da aproximação de outros exemplares do local de repouso.

O número total de ataques à cuba é maior nos testes realizados até 6 horas após o início do período de luz quando foram observados em média 50 ataques em cada teste, diminuindo para 17 nos testes realizados entre 6 e 12 horas após o início do período de luz e 7 nos testes realizados entre 12 e 18 horas após o início do período de luz (Fig 15).

#### 4.1.4 Teste Alimentar 4

No Teste alimentar 4, a cuba plástica foi posicionada no lado externo do aquário, sem permitir o contato visual com o alimento ao *T. newnesi*. Foi introduzida na cuba, uma solução de extrato de anfípodas e estabelecido comunicação química entre esta e o aquário, através de um sifão. Imediatamente após ser estabelecido a comunicação química, o *T. newnesi* abandonou a posição inicial de repouso no substrato e nadou lentamente, com o corpo orientado obliquamente em relação ao fundo do aquário, em torno da mangueira, disparando ataques à sua extremidade. Após os três minutos iniciais do teste, a natação se estendeu por todo o aquário

No quinto minuto do teste todos os exemplares do aquário repousaram no substrato, concentrados na região de entrada do fluxo do extrato de anfípodas no aquário. Não foi observado movimentos de agressividade ou disputa de território

#### 4.1.5 Teste Alimentar 5

O Teste Alimentar 5 foi realizado utilizando-se duas cubas, a primeira sendo introduzida no aquário e a segunda mantida do lado externo.

Na cuba interna foram adicionados anfípodas vivos permitindo o contato visual e sendo também estabelecido contato químico da água do aquário com a mesma através de um sifão (Fig 16a). Ao ser estabelecido o contato visual e químico, o *T. newnesi* abandona a posição de repouso e dispara ataques à cuba com o mesmo padrão de comportamento observado nos testes 1 e 2. O número médio de ataques a cuba por teste foi de 50 nos testes

realizados até 6 horas, 28 nos realizados até 12 horas e 24 nos testes realizados até 18 horas após o início do período de luz (Fig. 17).

Nos testes realizados com a cuba posicionada externamente ao aquário, foram introduzidos anfípodas vivos sendo estabelecido apenas o contato químico com a água do aquário (Fig. 16b). O *T. newnesi* nadou lentamente, com o corpo orientado obliquamente em relação ao fundo do aquário, inicialmente na região onde foi estabelecida a comunicação e posteriormente por todo o aquário. O repouso ao final do teste foi concentrado na região de entrada do fluxo de comunicação. Não foram observados movimentos de agressão ou perseguição nos dois testes.

## 4.2. Morfologia dos Órgãos Químio-sensoriais

Foram estudados os órgãos químio-sensoriais vinculados ao comportamento alimentar de *T. newnesi* localizados na região da cabeça: órgão olfatório, órgão de gustação e epiderme da região da cabeça ( Fig 8 )

### 4.2.1 Órgão olfatório.

*Trematomus newnesi* possui um par de órgãos olfatórios localizados lateralmente acima da boca, que mantém contato com o meio através de um bulbo olfatório simples (Fig. 18a )

O bulbo olfatório é revestido interna e externamente por epitélio estratificado, apoiado em espessa membrana basal, abaixo da qual se observa tecido conjuntivo denso modelado e não modelado, separados por uma camada de cromatóforos (Fig.18b)

Na face externa, na região da base do bulbo, observa-se superfície irregular contendo numerosas células secretoras de muco, que apresentam reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 (Fig. 18c) e que diminuem em número no epitélio que reveste o bulbo. As células epiteliais superficiais apresentam-se revestidas por microsaliências punctiformes em sua base e longas de disposição irregular no epitélio que reveste o bulbo (Fig.18d,e)

A face interna apresenta a mesma estrutura da face externa, não sendo observadas células secretoras de muco e cromatóforos na interface dos tecidos conjuntivos denso modelado e não modelado (Fig 18b). Superficialmente as células apresentam microsaliências com o mesmo padrão de forma e distribuição das da camada externa (Fig 18f).

A roseta olfatória, de forma oval, localiza-se na câmara olfatória e é composta por 2 fileiras de lamelas olfatórias (Fig. 19a) que evaginam-se a partir de um sulco mediano composto por tecido conjuntivo (Fig. 19a,c). As lamelas são menores na parte anterior, aumentando de tamanho na parte posterior da roseta (Fig. 19a).

As faces de cada lamela são compostas por um epitélio com regiões que apresentam características não-sensoriais e regiões com características sensoriais (Fig 19b). O epitélio com características não-sensoriais está localizado nas partes periféricas da lamela olfatória, apresentando células de muco globosas, com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 (Fig. 19c). A superfície é recoberta por microsaliências semelhantes as observadas em outras regiões da epiderme (Fig 19d)

O epitélio com características sensoriais está apoiado em espessa membrana basal e recobre as faces centrais da lamela olfatória (Fig 20a). É composto por células sensoriais, células de sustentação e células basais

As células sensoriais são células fusiformes, com núcleos ovais, de coloração mais intensa, localizados na região intermediária e superior do epitélio (Fig 20a). São neurônios bipolares, que emitem longos processos em direção à superfície da lamela que se exteriorizam em forma de cílios (Fig. 19d e 20b) e na região basal unem-se formando o nervo olfatório (Fig 20c)

As células de suporte localizam-se na camada intermediária do epitélio olfatório, possuem núcleos arredondados e coloração menos intensa quando comparadas às células sensoriais (Fig. 20a)

As células basais são observadas nas camadas mais profundas do epitélio, em contato com a membrana basal. Possuem forma esférica ou cubóide e núcleos arredondados ou alongados (Fig. 20a).

Em toda a região superficial do epitélio olfatório observa-se células secretoras de muco (Fig 20d) e reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 próximo à superfície epitelial (Fig.20e).

#### **4.2.2. Órgãos de Gustação.**

*O Trematomus newnesi* possui botões gustativos presentes no lábio superior e inferior, na região em torno da narina, no assoalho bucal externo, na bochecha e na região infra-orbital entre outros.

A região central dos lábios superiores do *T. newnesi* apresenta superfície irregular com saliências e reentrâncias, onde observa-se um grande número de botões gustativos concentrados acima de inúmeros denticulos (Fig. 21a, b). Os botões desta região apresentam forma e tamanho constantes. São compostos por células de sustentação, com núcleos claros, localizadas na região basal e células sensoriais, com núcleos escuros, localizados na região intermediária (Fig. 21c, e). Essas células emitem seus processos citoplasmáticos para a superfície epitelial, onde fazem contato com o meio ambiente (Fig. 21d, e). Em vista superficial observa-se a exteriorização das células sensoriais, circundadas por células epiteliais indiferenciadas que apresentam-se recobertas por microsaliências (Fig. 21e).

Nas regiões laterais do lábio superior foi observado reduzido número de botões gustativos. A distribuição de células de sustentação e sensoriais é semelhante à observada nos botões gustativos da região central, diferenciando-se apenas na região superficial onde apresentam-se mais afilados. Ao nível da última camada epitelial, os prolongamentos das células sensoriais apresentam-se em forma de tufo. (Fig. 22a, b). Foram observadas células sensoriais com prolongamentos dicotomizados que emitem ramificações para o interior do botão gustativo e do tecido epitelial (Fig. 22a).

No lábio inferior os botões são escassos e não se concentram em uma região específica. Diferenciam-se dos observados no lábio superior por apresentarem a superfície das células sensoriais localizadas em criptas formadas na camada superficial do epitélio (Fig. 22c).

Em vista superficial, o epitélio apresenta inúmeros orifícios e depressões entre as células recobertas por microsaliências longas (Fig. 22d). Entretanto não é possível identificar, através de microscopia eletrônica de varredura, quais orifícios que correspondem aos botões gustativos.

Na região em torno da narina foram observados dois tipos de botões gustativos que diferem dos anteriores descritos em sua porção apical. O primeiro tipo é fusiforme, com os núcleos das células sensoriais e de suporte concentradas na região intermediária (Fig. 22e). Na região basal parece haver processos citoplasmáticos que se projetam no interior do tecido epitelial. Na região apical os prolongamentos citoplasmáticos estão recobertos pela última camada superficial composta por células pavimentosas (Fig. 22e). Em vista superficial observa-se elevação do epitélio e projeções das células sensoriais em meio a células epiteliais recobertas por microsaliências longas (Fig. 22f).

O segundo tipo de botão gustativo foi observado em depressões em torno do bulbo olfatório (Fig. 23a), circundado por inúmeras aberturas de células secretoras de muco (Fig. 23b). Estas estruturas são globosas e ocupam toda a espessura da epiderme. As células de suporte possuem núcleos localizados na região basal, em contato com a membrana basal. As células sensoriais apresentam os núcleos localizados na região central e intermediária da estrutura (Fig. 23d). Em vista superficial observa-se emissão de muco (Fig. 23c).

No assoalho bucal, os botões gustativos observados possuem os núcleos das células de suporte e das células basais localizados na região basal. A superfície externa dos botões se encontra no mesmo nível das células epiteliais superficiais em depressões do tecido epitelial (Fig. 23e). Em vista superficial, não foram identificados botões gustativos.

Na bochechas de *T. newnesi* foram observados botões gustativos com forma característica, totalmente diferente da observada em outras regiões estudadas. Estas estruturas estão localizadas em invaginações do tecido epitelial que se aprofundam no tecido conjuntivo. São compostas por células alongadas fusiformes, dispostas paralelamente desde a base da estrutura até a superfície epitelial, com núcleos alongados, concentrados na região basal (Fig. 24a). Todas as células estão apoiadas na membrana basal e seus prolongamentos citoplasmáticos estendem-se até a superfície epitelial (Fig. 24b),

abrangendo uma área proporcionalmente grande. Entre as células do “botão” gustativo são observados núcleos localizados na região central e células secretoras de muco na região apical. Uma fina camada de muco é observada na região superficial apresentando reação fraca ao Alcian Blue pH 2,5 (Fig. 24a).

Em vista superficial, o epitélio da bochecha apresenta-se irregular, com células recobertas por microsaliências e inúmeros orifícios e aberturas de células secretoras de muco (Fig 24c). No entanto, não foi possível identificar superficialmente botões gustativos nesta região, bem como, na região infra-orbital.

#### **4.2.3 Epiderme da Região da Cabeça**

A epiderme da região da cabeça é o órgão que está em contato com o meio ambiente e apresenta regiões com estruturas de senso químico geral.

A epiderme do lábio superior e inferior, região em torno da narina, assoalho bucal externo, bochecha e região infra-orbital apresenta-se constituída por um número variável de camadas celulares, onde distingue-se basicamente três regiões: basal, intermediária e superficial (Fig. 25a).

Em todas as regiões da cabeça a camada basal do epitélio é constituída por células cilíndricas, que apresentam núcleos que variam da forma esférica a oval. Entre as células da camada basal observa-se espaços intercelulares (Fig 25b)

A região intermediária apresenta células de formato irregular, com núcleos esféricos. Não são observados espaços intercelulares, ocorrendo, no entanto, vacuolização do citoplasma, que é mais acentuada na região infra-orbital e na bochecha (Fig 25b, c).

A camada superficial é constituída por células pavimentosas. O número de células que constituem esta camada varia de 2 no lábio inferior a 5 a 15 na região infra-orbital (Fig 25b).

Em vista superficial todas as regiões da cabeça apresentam células superficiais poliédricas de formato irregular, recobertas principalmente por microsaliências longas no lábio superior e inferior (Fig 25e, f) e predominantemente punctiformes na região em torno da narina (Fig 25d).

Células secretoras de muco estão presentes em todas as regiões estudadas. Apresentam forma globosa, com núcleos comprimidos basolateralmente. Seu conteúdo é positivo ao Alcian Blue pH 2,5 (Fig. 26a) e negativo ao Alcian Blue pH 0,5. São distinguidas das células epiteliais na camada intermediária (Fig 26b) tornando-se maiores a medida que se aproximam da superfície epitelial, onde liberam seus conteúdos (Fig 26b, c)

Apesar de apresentarem formas e origens semelhantes, observou-se uma grande variação na distribuição destas células nas diferentes regiões. As células secretoras de muco estão presentes na região infra-orbital em grande número (Fig. 26b, d), sendo relativamente escassas no lábio inferior e superior (Fig 26e, f). Na região em torno da narina estão concentradas na região da base do bulbo (Fig. 18c,) e em reentrâncias conspícuas localizadas próximas ao bulbo olfatório (Fig 27a). O assoalho bucal apresenta superfície irregular, com saliências, reentrâncias e depressões (Fig 27b, c), nas quais há grande concentração de células secretoras de muco (Fig 27d), reveladas através de microscopia óptica.

Na narina, assoalho bucal externo e região infra-orbital foram observados, abaixo do epitélio, canais circulares circundados externamente por faixas de tecido conjuntivo denso modelado e não modelado (Fig. 28a). Estes canais apresentam-se revestidos internamente

por tecido epitelial constituído por células epiteliais de formato irregular, células de muco globosas e células claviformes com citoplasma eosinófilo (Fig. 28a,b, c)

Em cortes histológicos do lábio superior, assoalho bucal externo e região em torno da narina, fixados com formol tamponado e corados com Tricrômico de Mallory e Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina Férrica, foram observadas células que apresentam coloração diferenciada em relação às células epiteliais

No lábio superior estas células são observadas entre as células da camada basal (Fig 29a). São células alongadas fusiformes, orientadas perpendicularmente à superfície epitelial, com núcleos ovais posicionados no centro da célula. O prolongamento basal está apoiado na membrana basal e o citoplasma apical faz contato com células epiteliais (Fig 29b). O citoplasma destas células aparece corado fortemente pela fucsina básica apresentado as mesmas características de coloração observadas nas células sensoriais dos botões gustativos (Fig. 22c, 23e, 25a) O mesmo tipo celular foi observado no epitélio da região em torno da narina.

Na camada superficial foram observadas células com a mesma característica de coloração, mas com forma diferenciada São células mais ou menos cilíndricas, que emitem projeções citoplasmáticas a partir de sua extremidade basal em direção à região basal da epiderme e a partir de sua extremidade apical, em direção à superfície epitelial ( Fig 29d, e).

No assoalho bucal externo foram observadas células que se diferenciam das células epiteliais, pela sua coloração, por terem duas vezes seu tamanho e pelo formato piriforme (Fig 29c) Estas células emitem prolongamento citoplasmático na região apical que se direciona para a superfície epitelial dispendo-se entre as células epiteliais desta camada.

**FIG. 9**

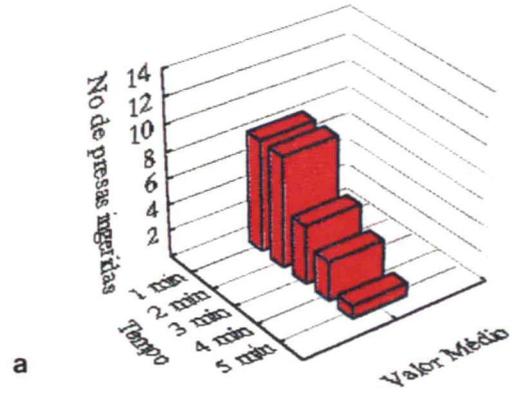
**Teste Alimentar 1. Anfípodas vivos oferecidos diretamente no aquário**

- ( a ) Anfípodas vivos ingeridos nos testes realizados até 6 horas após o início do período de luz ( To )
- ( b ) Anfípodas vivos ingeridos nos testes realizados entre 6 e 12 horas após início do período de luz ( To )
- ( c ) Anfípodas vivos ingeridos nos testes realizados entre 12 e 18 horas após início do período de luz ( To )

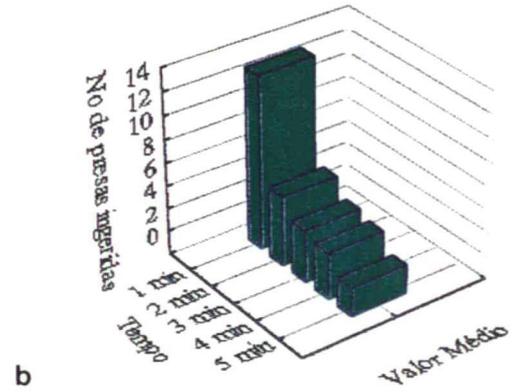
OBS 1 min, 2min, ... indicam o tempo decorrido após a introdução do alimento no aquário

FIGURA 9

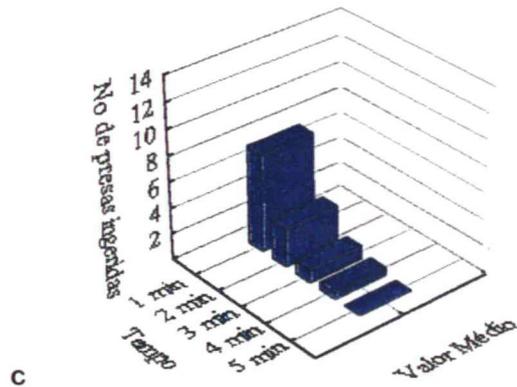
Teste Alimentar 1  
até 6 horas após To



Teste Alimentar 1  
entre 6 e 12 horas após To



Teste Alimentar 1  
entre 12 e 18 horas após To



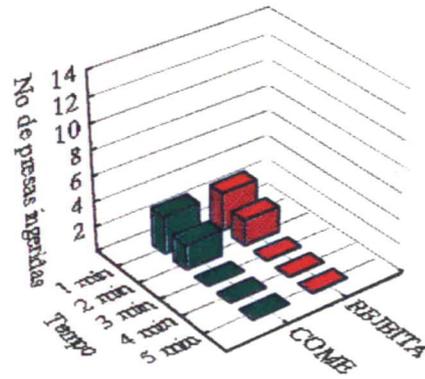
**FIG. 10**

**Teste Alimentar 2:** Anfípodas mortos acidificados oferecidos diretamente no aquário.

- ( a ) Anfípodas acidificados ingeridos e rejeitados nos testes realizados até 6 horas após o início do período de luz (  $T_0$  ).
- ( b ) Anfípodas acidificados ingeridos e rejeitados nos testes realizados entre 6 a 12 horas após o período de luz (  $T_0$  ).
- ( c ) Anfípodas acidificados ingeridos e rejeitados nos testes alimentares realizados entre 12 e 18 horas após início do período de luz (  $T_0$  ).

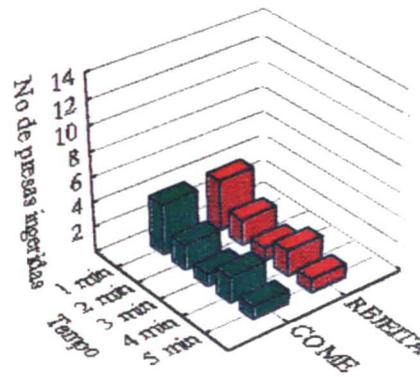
FIGURA 10

Alimento acidificado  
até 6 horas após To



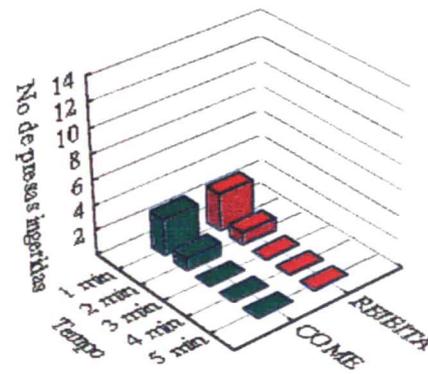
a

Alimento acidificado  
entre 6 e 12 horas após To



b

Alimento acidificado  
entre 12 e 18 horas após To



c

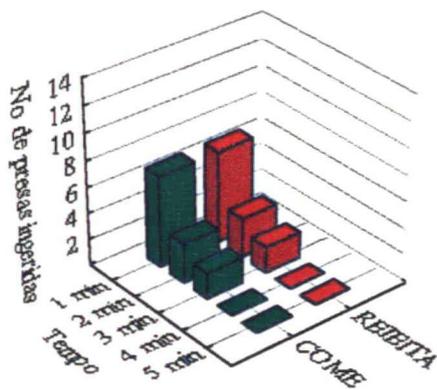
**FIG. 11**

**Teste Alimentar 2:** Anfípodas mortos adocicados oferecidos diretamente no aquário.

- ( a ) Anfípodas mortos adocicados ingeridos e rejeitados nos testes realizados até 6 horas após o início do período de luz ( To ).
- ( b ) Anfípodas mortos adocicados ingeridos e rejeitados nos testes realizados entre 6 e 12 horas após início do período de luz ( To ).
- ( c ) Anfípodas mortos adocicados ingeridos e rejeitados nos testes realizados entre 12 e 18 horas após início do período de luz ( To ).

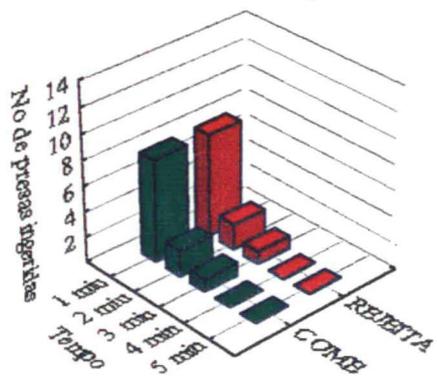
FIGURA 11

Alimento adocicado  
até 6 horas após To



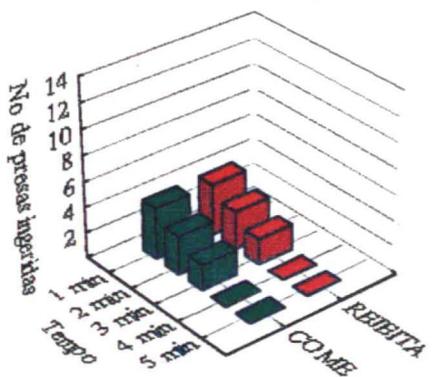
a

Alimento adocicado  
entre 6 e 12 horas após To



b

Alimento adocicado  
entre 12 e 18 horas após To



c

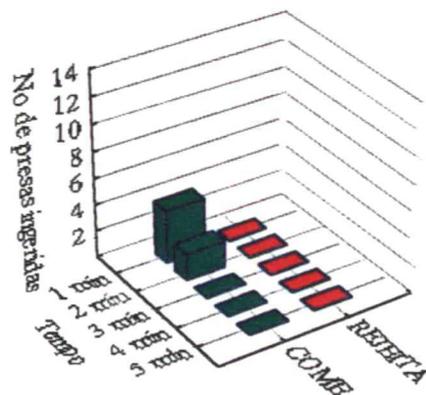
## FIG 12

**Teste Alimentar 2:** Anfípodas mortos neutros oferecidos diretamente no aquário.

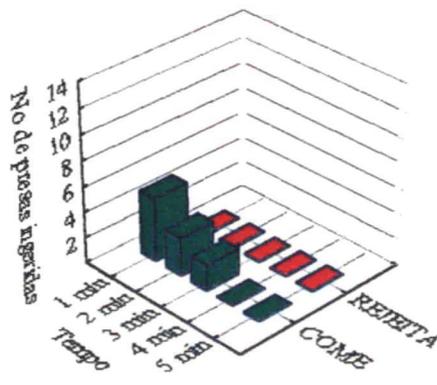
- ( a ) Anfípodas mortos neutros ingeridos e rejeitados nos testes realizados até 6 horas após início do período de luz (  $T_0$  ).
- ( b ) Anfípodas mortos neutros ingeridos e rejeitados nos testes realizados entre 6 e 12 horas após início do período de luz (  $T_0$  ).
- ( c ) Anfípodas mortos neutros ingeridos e rejeitados nos testes realizados entre 12 e 18 horas após início do período de luz (  $T_0$  ).

FIGURA 12

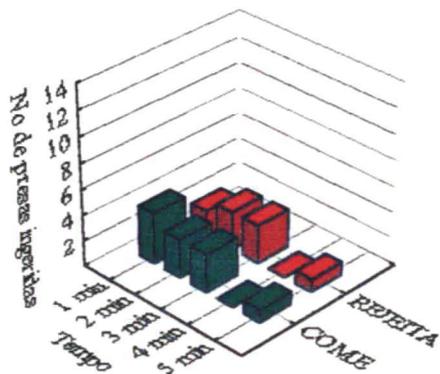
Alimento neutro  
até 6 horas após To



Alimento neutro  
entre 6 e 12 horas após To



Alimento neutro  
entre 12 e 18 horas após To

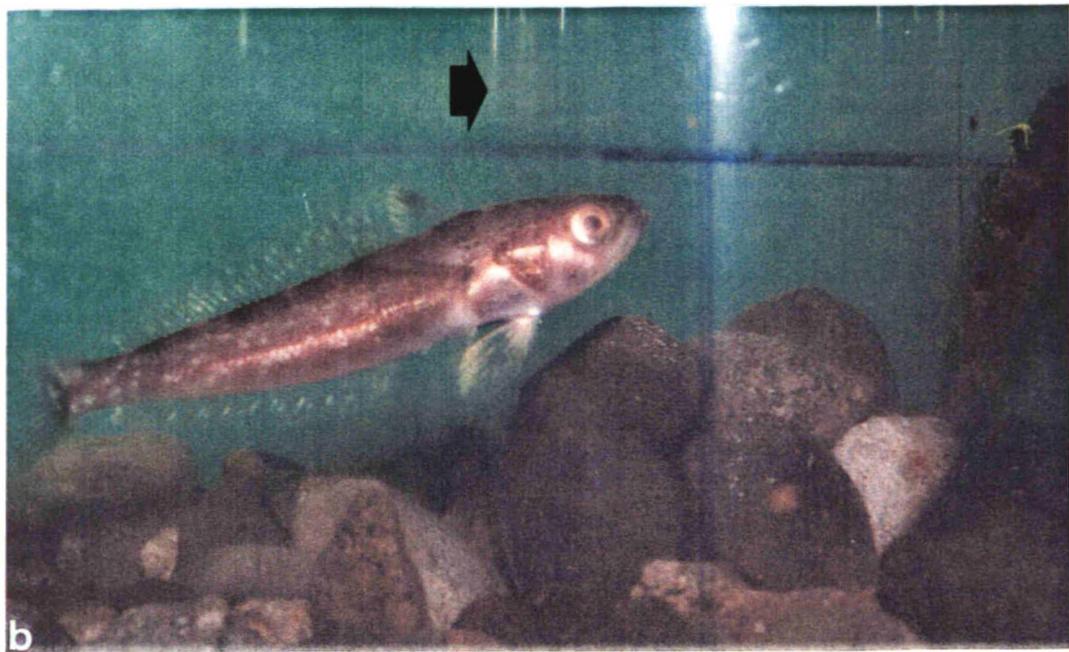
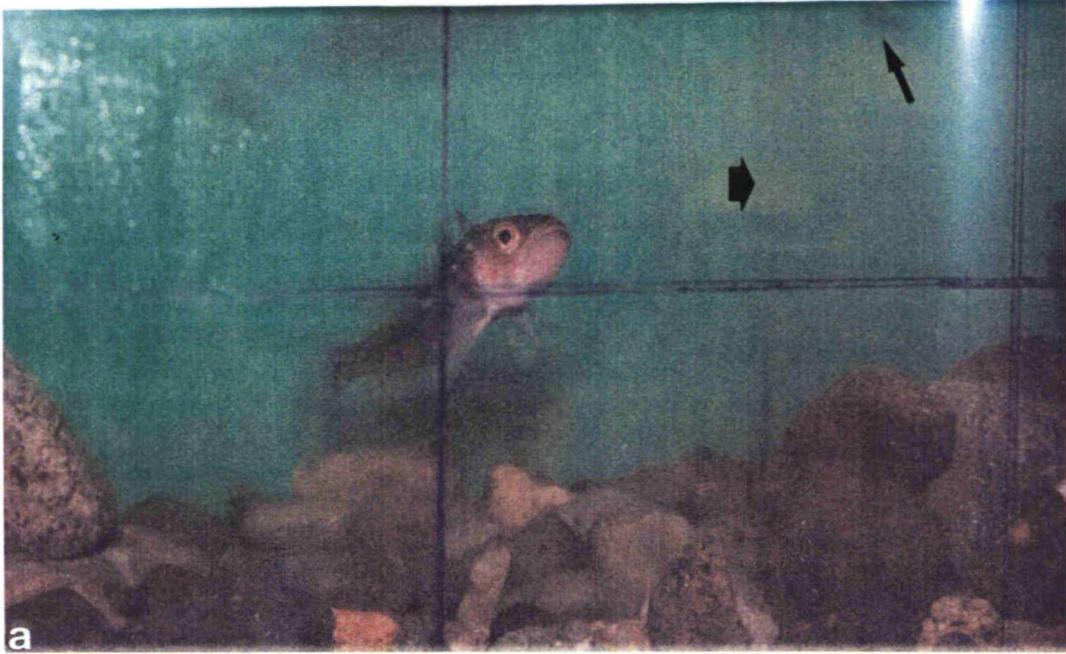


**FIG.13**

**Teste Alimentar 3:** Anfípodas oferecidos em cuba, com comunicação apenas visual

- ( a ) *Trematomus newnesi* no momento de detecção visual da presa ( ↑ ) oferecida dentro da cuba ( ▶ ).
- ( b ) *Trematomus newnesi* no momento de ataque à cuba ( ▶ ), com o corpo posicionado paralelamente em relação ao fundo do aquário.

FIGURA 13

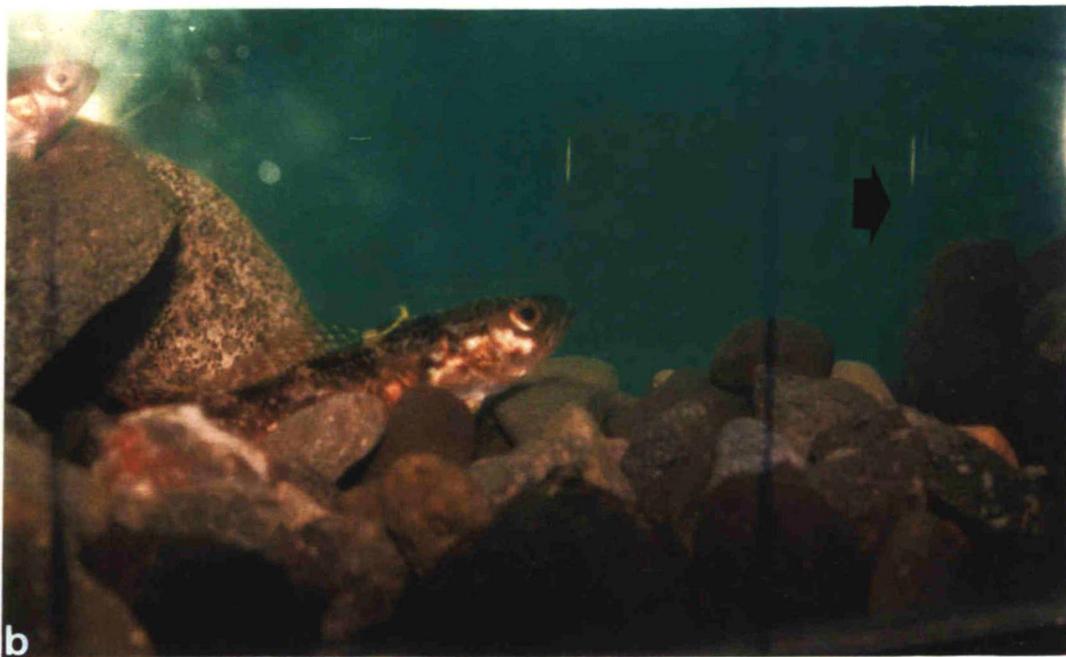
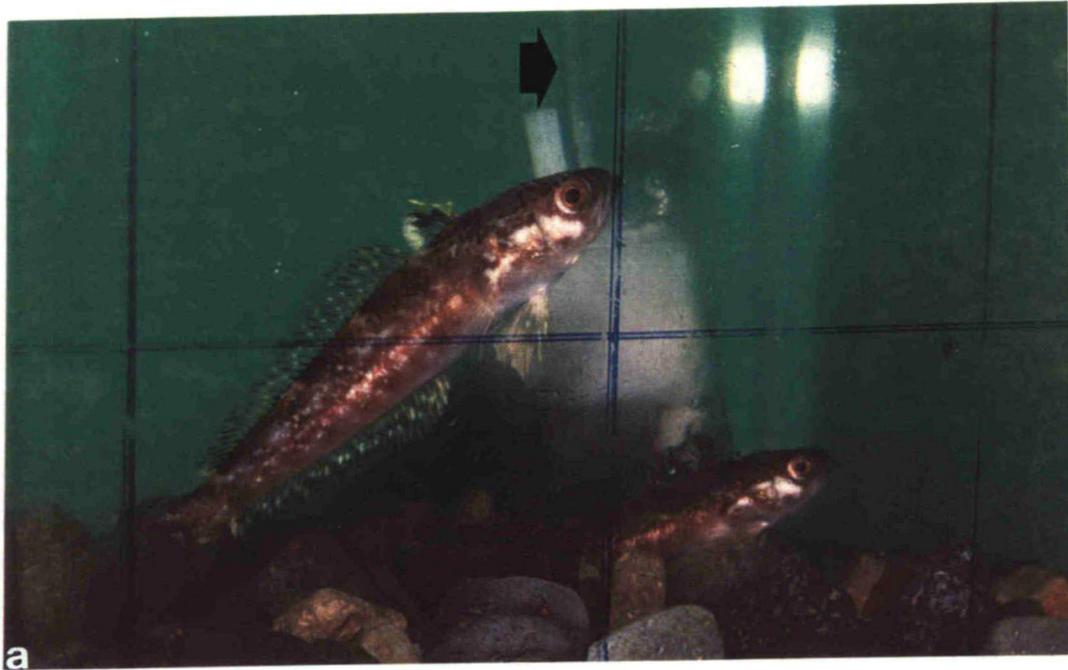


**FIG. 14**

**Teste Alimentar 3:** Anfípodas oferecidos em cuba, com comunicação apenas visual.

- ( a ) *Trematomus newnesi* ao 5º minuto do Teste, quando nada em torno da cuba (  ), com o corpo posicionado obliquamente em relação ao fundo do aquário.
  
- ( b ) *Trematomus newnesi* ao final do 5º minuto do Teste, quando permanece em repouso em torno da cuba (  ).

FIGURA 14



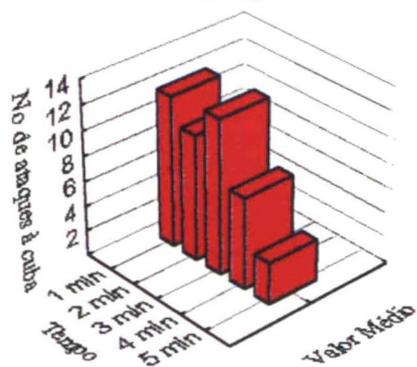
**FIG. 15**

**Teste Alimentar 3:** Anfípodas vivos oferecidos em cuba apenas com comunicação visual, sem comunicação química.

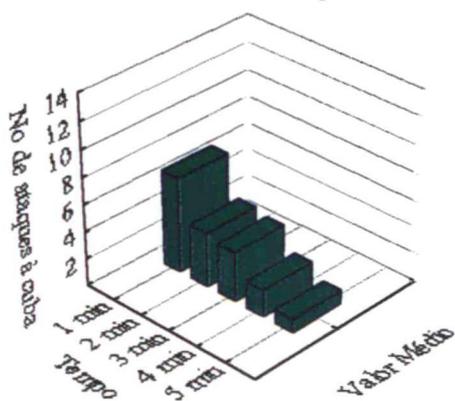
- ( a ) Número total de ataques à cuba nos Testes realizados até 6 horas após início do fotoperíodo.
- ( b ) Número total de ataques à cuba nos Testes realizados entre 6 e 12 horas após início do fotoperíodo.
- ( c ) Número total de ataques à cuba nos Testes realizados entre 12 e 18 horas após início do fotoperíodo.

FIGURA 15

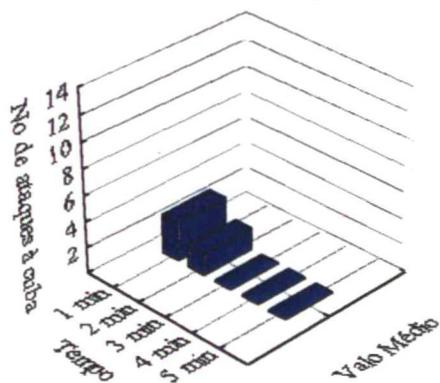
Cuba sem comunicação química  
até 6 horas após To



Cuba sem comunicação química  
entre 6 e 12 horas após To



Cuba sem comunicação química  
entre 12 e 18 horas após To

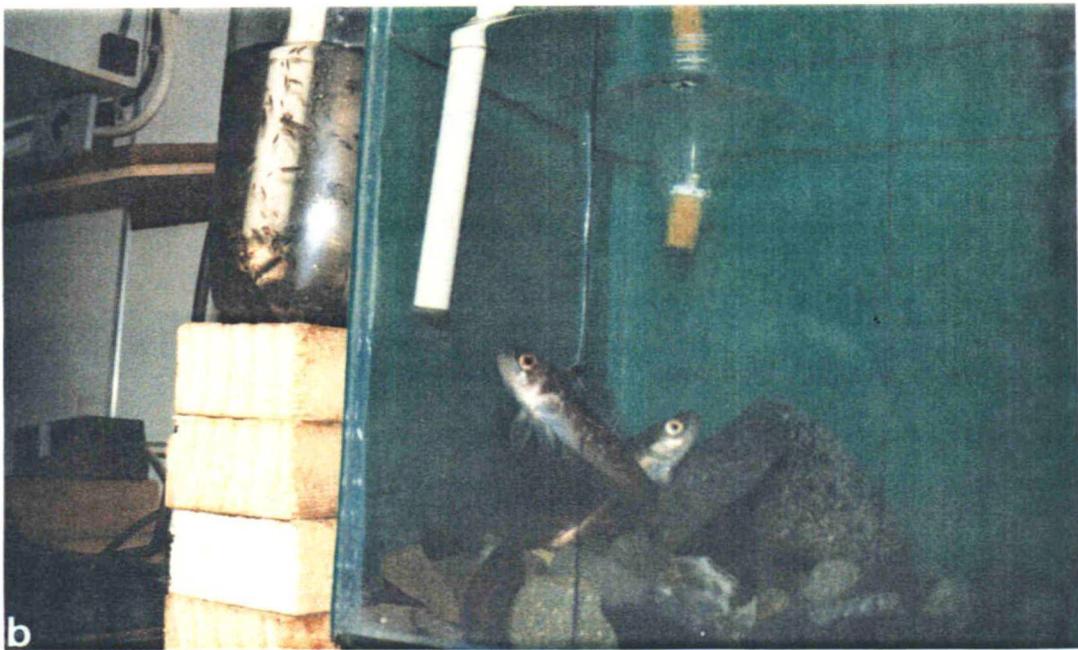
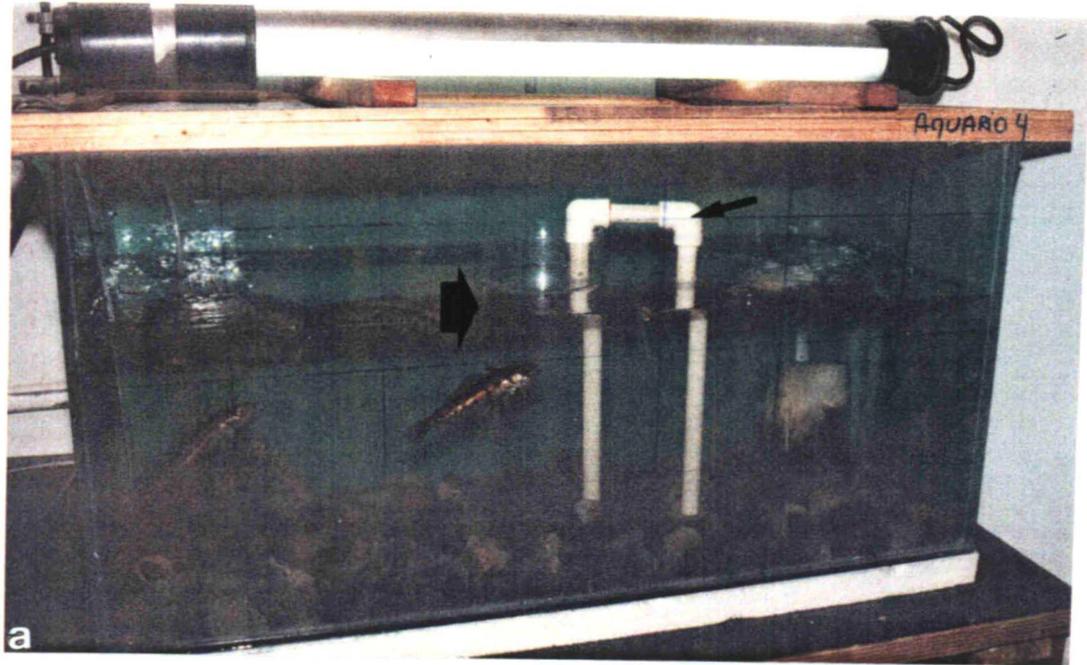


**FIG. 16**

**Teste Alimentar 5:** Anfípodas vivos oferecidos na cuba com comunicação visual e química e em cuba apenas com comunicação química

- ( a ) *Trematomus newnesi* em ataque à cuba (  ) com comunicação química com a água do aquário através de sifão (  ) e comunicação visual.
- ( b ) *Trematomus newnesi* nadando com o corpo orientado obliquamente em relação ao fundo do aquário, em torno da extremidade da mangueira, após ser estabelecida comunicação química com a água do aquário

FIGURA 16



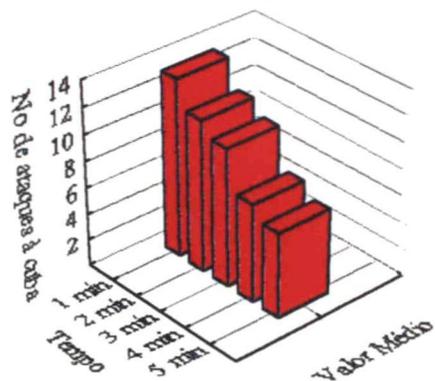
**FIG. 17**

**Teste Alimentar 5:** Anfípodas vivos oferecidos em cuba com comunicação visual e química.

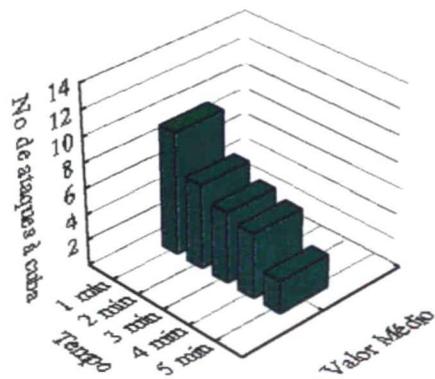
- ( a ) Número total de ataques à cuba nos testes realizados até 6 horas após início do período de luz ( To ).
- ( b ) Número total de ataques à cuba nos Testes realizados entre 6 e 12 horas após o início do período de luz ( To ).
- ( c ) Número total de ataques à cuba nos Testes realizados entre 12 e 18 horas após início do período de luz ( To ).

FIGURA 17

Cuba com comunicação química e visual  
até 6 horas após To



Cuba com comunicação química e visual  
entre 6 e 12 horas após To



Cuba com comunicação química e visual  
entre 12 e 18 horas após To

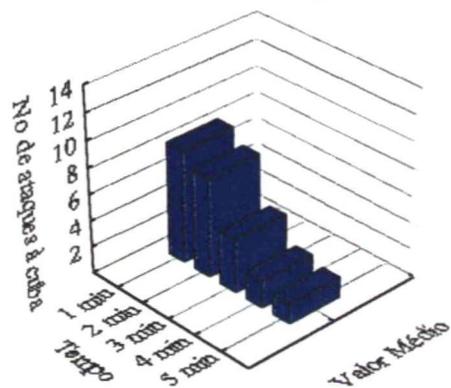
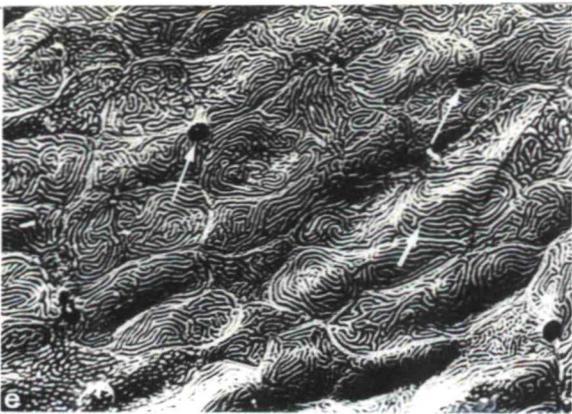
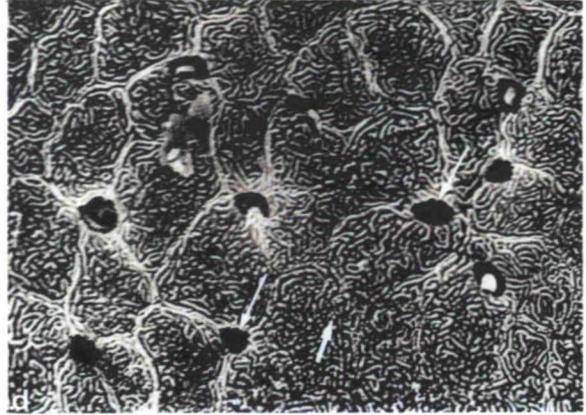
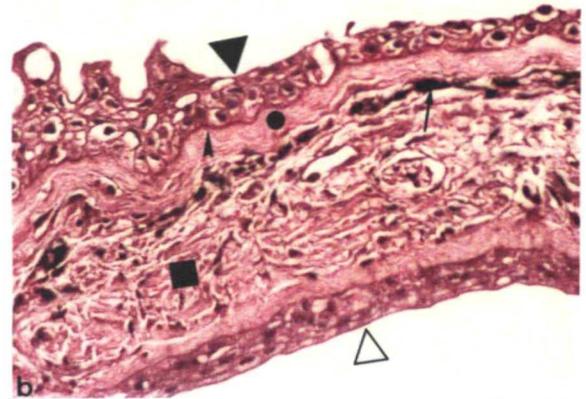
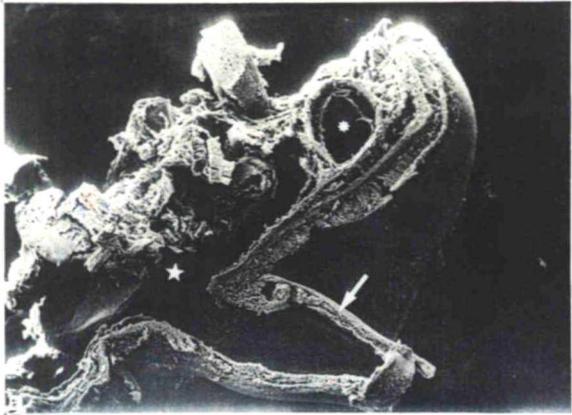


FIG. 18

Órgão Olfatório

- ( a ) Narina de *T. newnesi*, onde se observa: bulbo olfatório ( ↑ ); câmara olfatória ( ★ ); canal circular ( \* ). ( MEV, Aum. 40x )
- ( b ) Corte longitudinal do bulbo olfatório, onde se observa: epitélio que recobre a face externa ( ▲ ) e a face interna ( △ ); membrana basal ( ▲ ); conjuntivo denso modelado ( ● ); conjuntivo denso não modelado (   ); cromatóforos (   ). ( Aum. 550x. H.E. ).
- ( c ) Corte longitudinal da base do bulbo olfatório. Face interna ( △ ) e face externa ( ▲ ) do bulbo, onde se observa células secretoras de muco com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 ( ↑ ). ( Aum. 270x. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris. )
- ( d ) Vista superficial da base do bulbo olfatório, onde se observa aberturas de células secretoras de muco ( ↑ ) e células superficiais recobertas por microsaliências punctiformes ( ↑ ). ( MEV. Aum. 1980x ).
- ( e ) Vista superficial da face externa do bulbo olfatório, onde se observa microsaliências longas de distribuição irregular ( ↑ ) e aberturas de células secretoras de muco ( ↑ ). ( MEV. Aum. 1860x ).
- ( f ) Vista superficial do epitélio que reveste a face interna do Bulbo olfatório, onde se observa microsaliências longas de distribuição irregular ( ↑ ). ( MEV. Aum. 1920x )

FIGURA 18

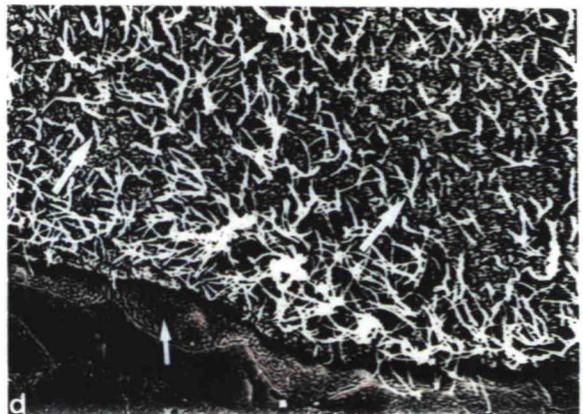
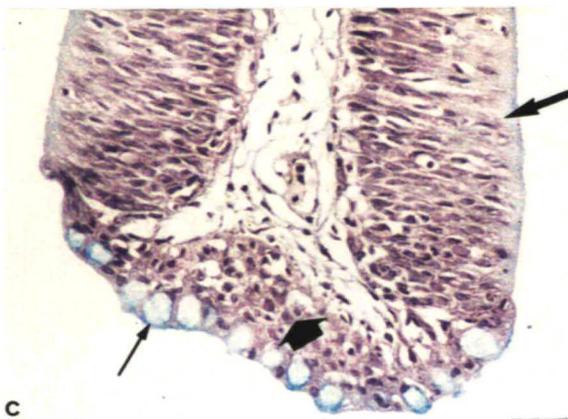
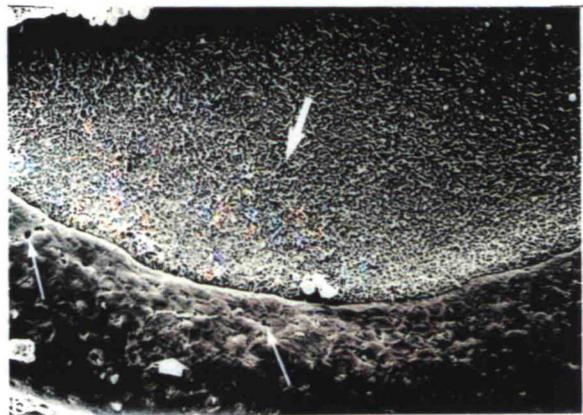


**FIG. 19**

**Órgão Olfatório**

- ( a ) Roseta Olfatória onde se observa: região anterior (  ) e região posterior (  ); sulco mediano (  ) e lamelas olfatórias. ( Aum. 150x. Corado por Giemsa).
- ( b ) Lamela olfatória: epitélio sensorial (  ) e epitélio indiferenciado (  ), onde se observa abertura de células secretoras de muco (  ). ( MEV. Aum. 550x ).
- ( c ) Corte longitudinal da lamela olfatória: epitélio sensorial (  ) epitélio indiferenciado (  ), onde se observa células secretoras de muco com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5. (  ). (Aum. 550 x. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris ).
- ( d ) Vista superficial da lamela olfatória, onde se observa cílios das células sensoriais (  ) e microsaliências no epitélio indiferenciado (  ). ( MEV. Aum. 1800 x ).

FIGURA 19

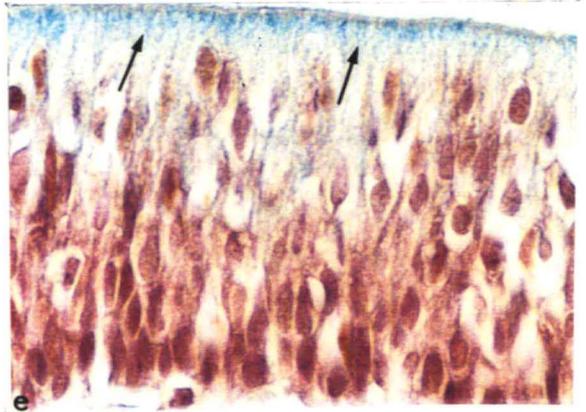
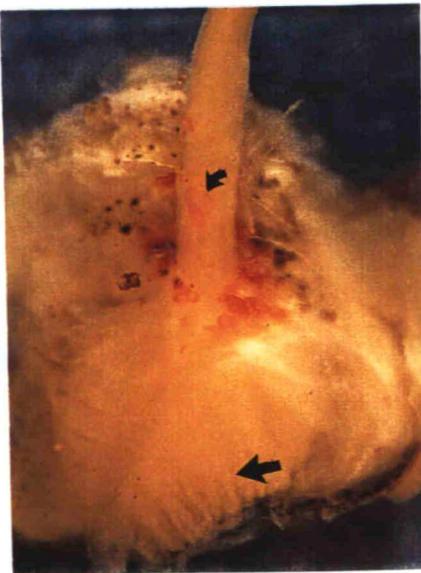
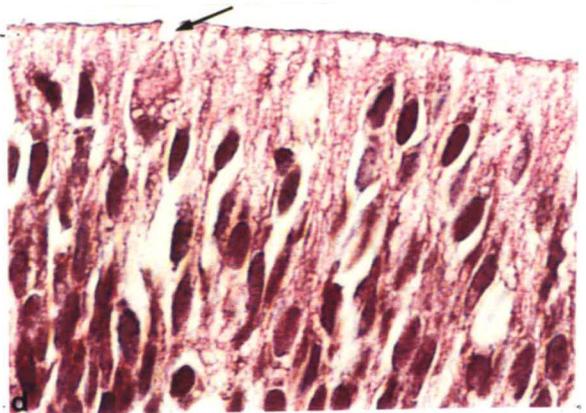
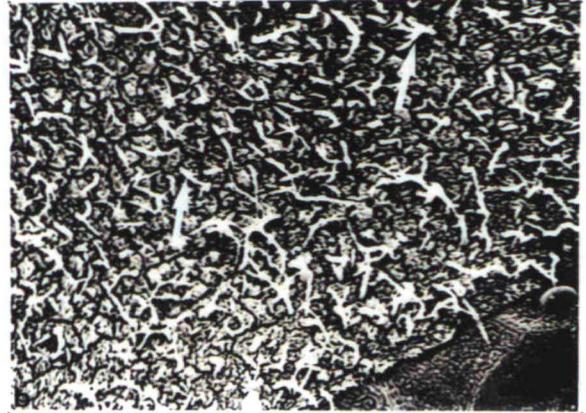
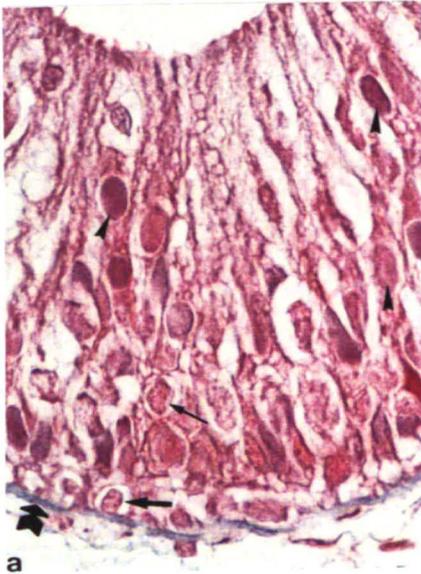


**FIG. 20**

**Órgão Olfatório**

- ( a ) Corte longitudinal do epitélio olfatório onde se observa: núcleos ovais das células sensoriais na região superior e intermediária ( ▲ ); núcleos das células de sustentação na região intermediária ( ↑ ); núcleos das células basais ( ↑ ); membrana basal ( 🏠 ). ( Aum. 1370x Formol. Tricrômico de Mallory).
- ( b ) Vista superficial do epitélio sensorial onde se observa cílios das células sensoriais ( ↑ ). (MEV, Aum. 2700x ).
- ( c ) Roseta olfatória ( 🏠 ) e nervo olfatório ( 🏠 ). ( Aum. 115x. Formol. )
- ( d ) Corte longitudinal do epitélio sensorial onde se observa abertura de células secretoras de muco ( ↑ ). ( Aum. 1370x. Bouin. H.E. ).
- ( e ) Epitélio sensorial onde se observa região apical com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 ( ↑ ). ( Aum. 1370x .Bouin. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris).

FIGURA 20

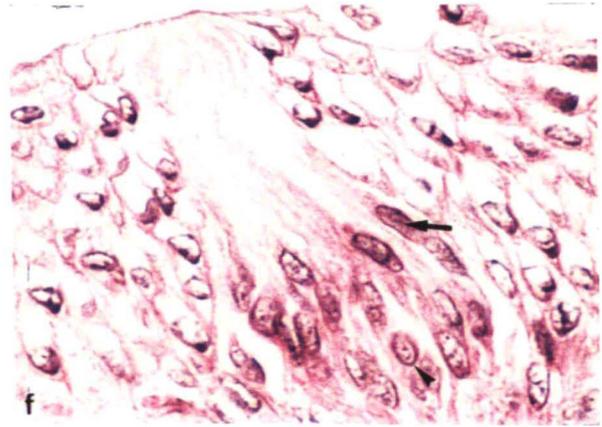
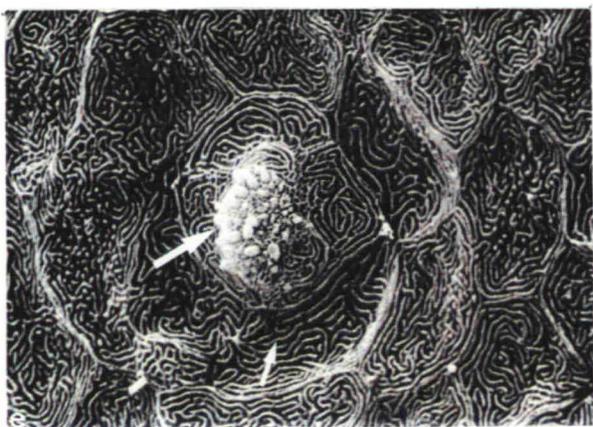
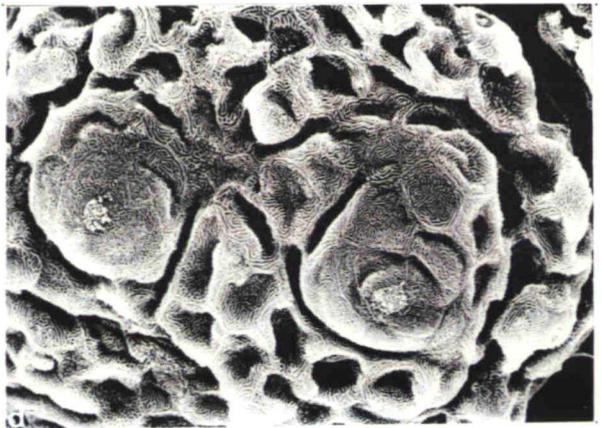
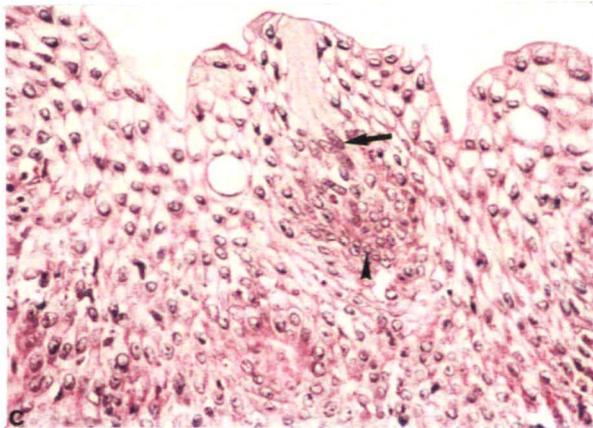
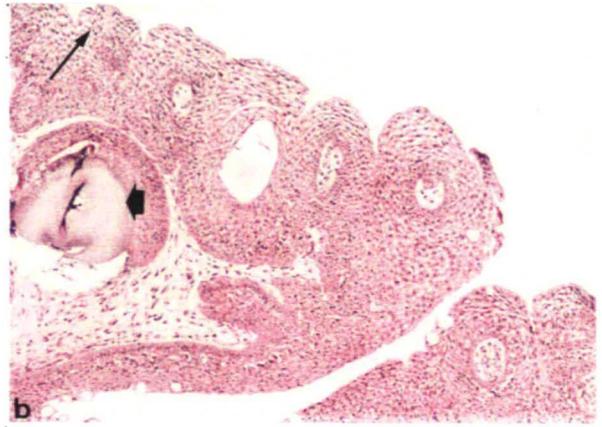
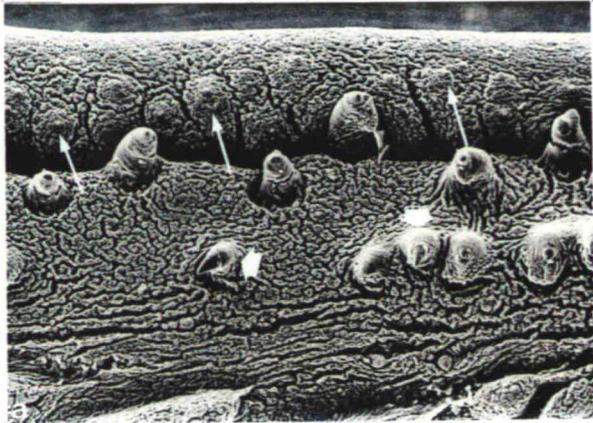


**FIG. 21**

**Órgão de Gustação**

- ( a ) Vista superficial do lábio superior onde se observa: botões gustativos ( ↑ ); denticulos ( ▣ ). (MEV. Aum. 70x ).
- ( b ) Corte transversal do lábio superior correspondente à mesma região observada em ( a ) com botões gustativos ( ↑ ) e denticulos ( ▣ ). ( Aum. 270x. Gendre. H.E. ).
- ( c ) Corte transversal do lábio superior onde se observa: núcleos das células de sustentação localizados na região basal do botão gustativo ( ▲ ); núcleos das células sensoriais localizados na região intermediária ( ↑ ). ( Aum. 550x. Gendre. H.E. ).
- ( d ) Vista superficial dos botões gustativos onde se observa porção apical das células sensoriais. ( MEV. Aum. 1180x ).
- ( e ) Detalhe da porção apical das células sensoriais ( ↑ ) circundadas por células epiteliais recobertas por microsaliências longas ( ↑ ). ( MEV. Aum. 1370x ).
- ( f ) Corte transversal do lábio superior onde se observa: núcleos das células de sustentação ( ▲ ); núcleos das células sensoriais ( ↑ ). ( Aum. 2926x. Gendre. H.E. ).

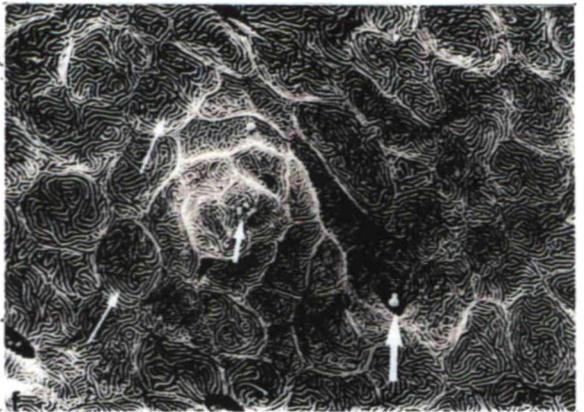
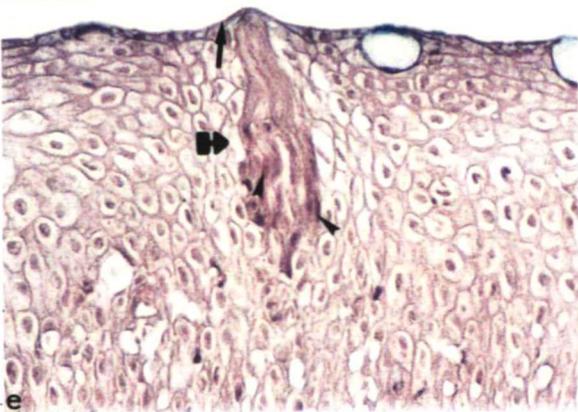
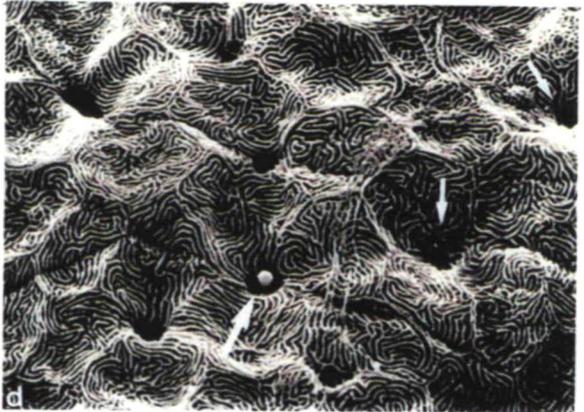
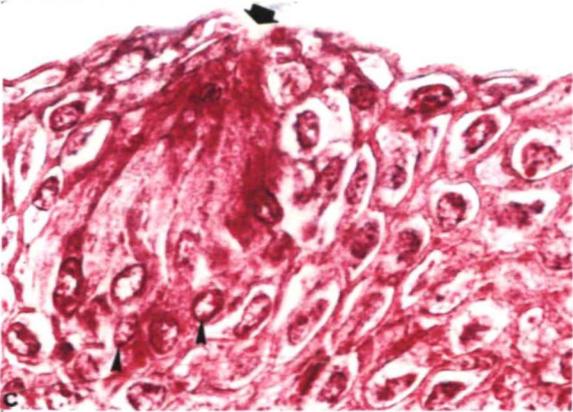
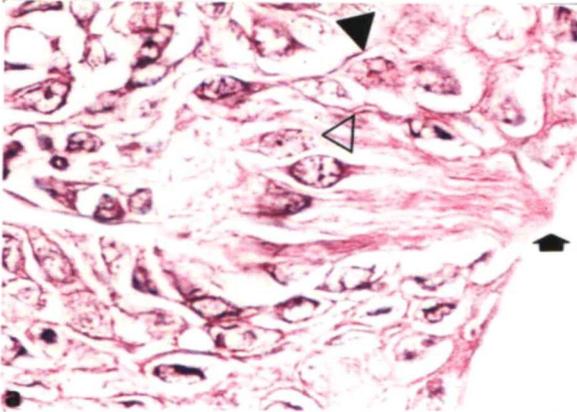
FIGURA 21



**FIG. 22**  
**Órgão de Gustação**

- ( a ) Corte transversal do lábio superior onde se observa: prolongamentos das células sensoriais em forma de tufo (  ); células sensoriais com prolongamentos dicotomizados, com ramificações para o interior do botão gustativo (  ) e do tecido epitelial (  ). ( Aum. 1390x. Bouin. H.E. )
  
- ( b ) Vista superficial do lábio inferior onde se observa a exteriorização das células sensoriais (  ), circundadas por células epiteliais recobertas por microsaliências longas (  ). ( MEV. Aum. 2150x ).
  
- ( c ) Corte transversal do lábio inferior onde se observa botão gustativo com células de sustentação na região basal (  ) e superfície das células sensoriais localizadas em criptas na camada superficial do epitélio (  ). ( Aum. 1370x. Formol. Tricrômico de Mallory. )
  
- ( d ) Vista superficial do lábio inferior onde observa-se orifícios (  ), aberturas correspondendo a células secretoras de muco (  ) e células epiteliais recobertas por microsaliências longas. ( MEV. Aum. 2160x ).
  
- ( e ) Corte transversal da região em torno da narina onde se observa botão gustativo fusiforme (  ), com núcleos das células de sustentação e sensoriais localizados na região intermediária e basal (  ), e células sensoriais recobertas por camada de células pavimentosas (  ). ( Aum. 550x. Bouin. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris. )
  
- ( f ) Vista superficial da região em torno da narina onde se observa elevação das células sensoriais (  ), abertura de células secretoras de muco (  ) e células epiteliais recobertas por microsaliências longas (  ). ( MEV. Aum. 1590 ).

FIGURA 22

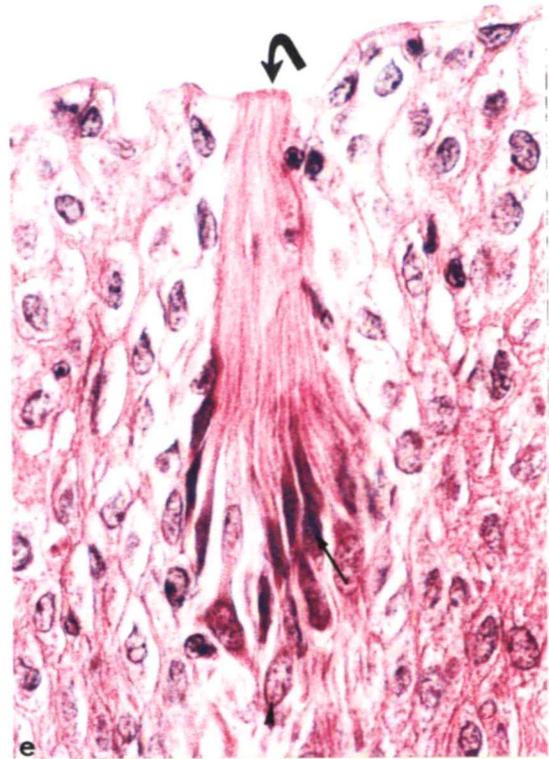
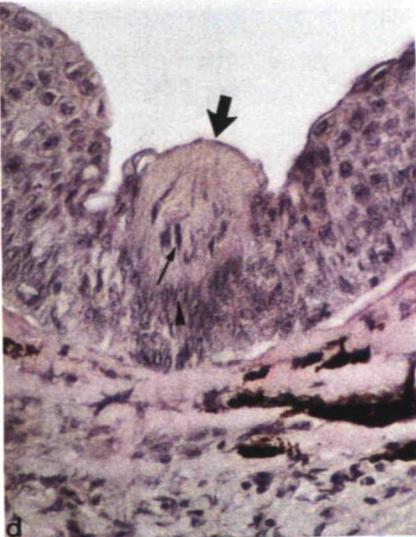
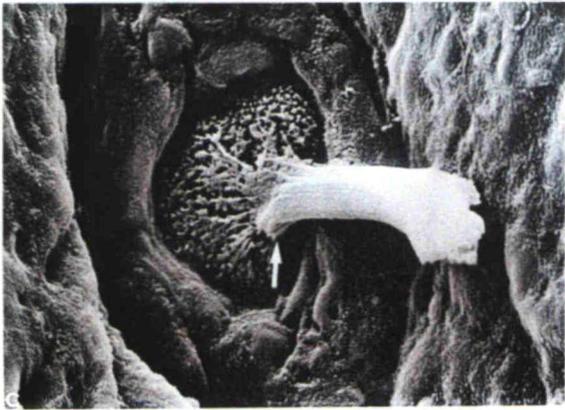
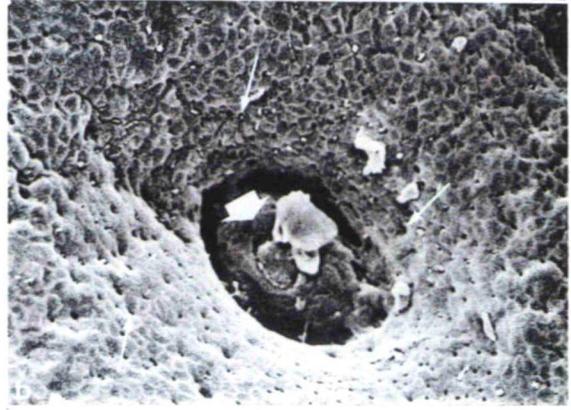
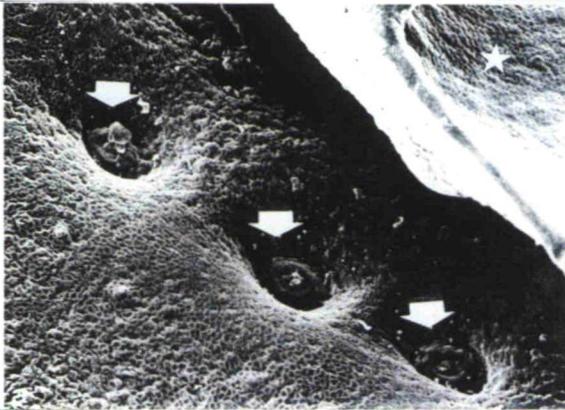


**FIG. 23**

**Órgão de Gustação**

- ( a ) Vista superficial da região em torno da narina, onde se observa o bulbo olfatório (★), e botões gustativos (◆). ( MEV. Aum. 40x ).
- ( b ) Detalhe do botão gustativo (◆) circundado por aberturas de células secretoras de muco (↑). ( MEV. Aum. 380x ).
- ( c ) Detalhe do botão gustativo onde se observa a emissão de muco (↑). ( MEV. Aum. 380x ).
- ( d ) Corte transversal da região em torno da narina onde se observa botão gustativo de forma globosa (↓), com núcleos das células de sustentação na região basal (▲) e núcleos das células sensoriais na região central e intermediária (↑). ( Aum. 550x. Bouin. H.E. ).
- ( e ) Corte transversal do assoalho bucal onde se observa botão gustativo com núcleos das células sensoriais (↑) e de sustentação (▲) na região basal. Observar a superfície externa do botão localizada em depressões do epitélio (↪). ( Aum. 1390x. Bouin. H.E. ).

FIGURA 23

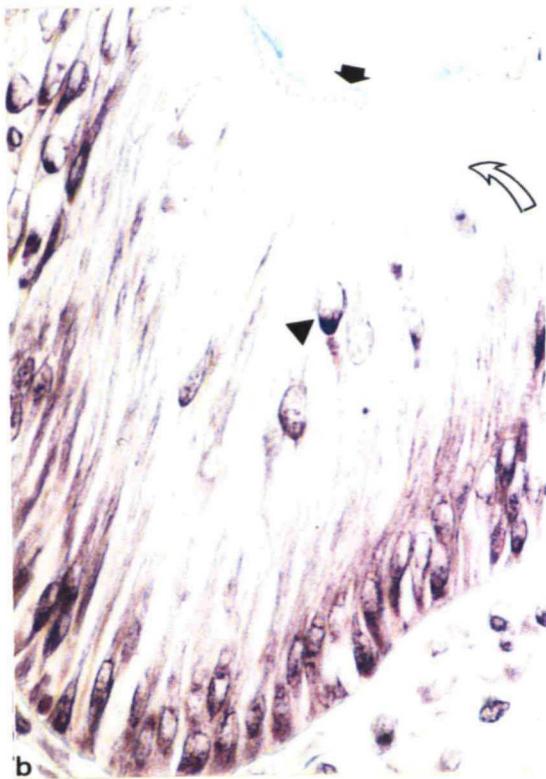
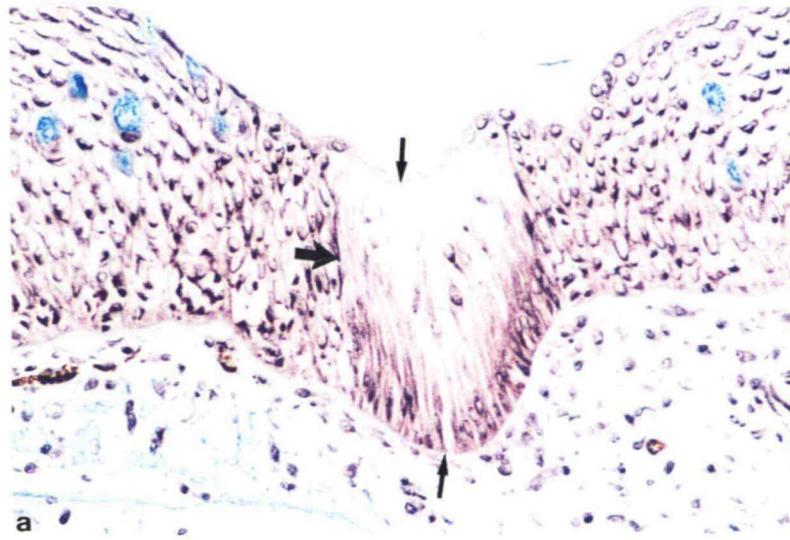


**FIG. 24**

**Órgão de Gustação**

- ( a ) Corte transversal da bochecha onde se observa “botão gustativo” com células alongadas fusiformes (  ), dispostas paralelamente da região basal à região apical (  ). ( Aum. 550x. Gendre. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris ).
- ( b ) Detalhe da foto ( a ) onde se observa células secretoras de muco (  ), núcleos localizados na região central (  ), disposição paralela das células e reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 na região superficial (  ). ( Aum. 1390x. Gendre. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris ).
- ( c ) Vista superficial da bochecha que apresenta superfície irregular, onde se observa orifícios (  ) e secreção de muco (  ). ( MEV. Aum. 2320x ).

FIGURA 24

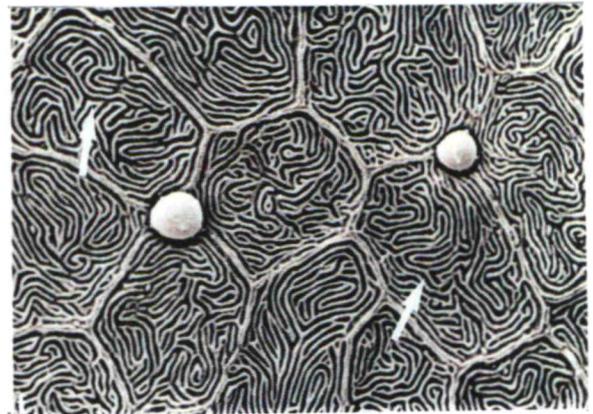
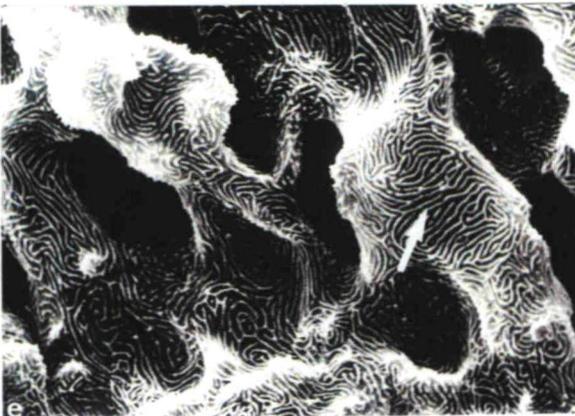
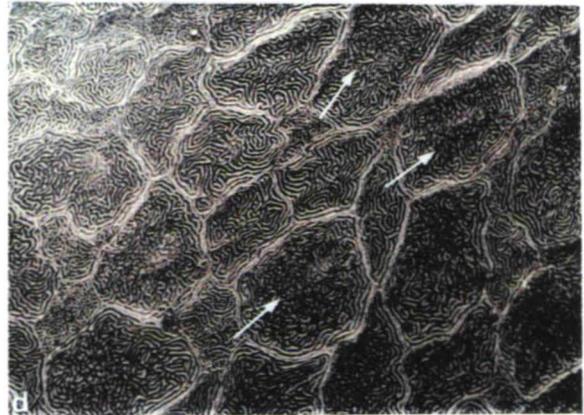
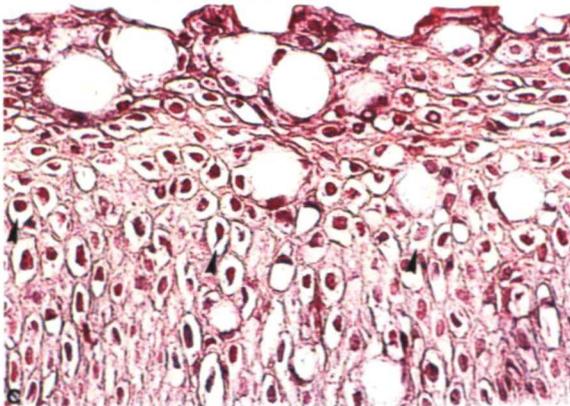
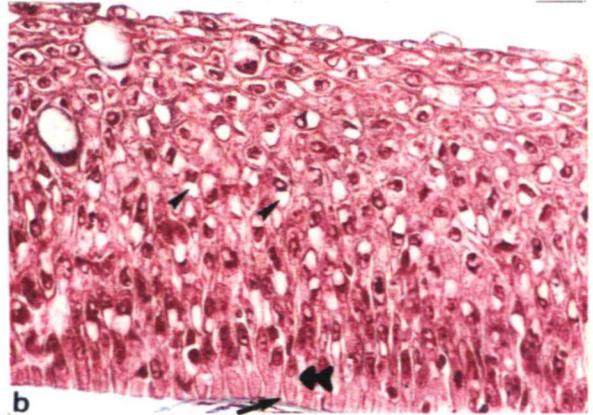
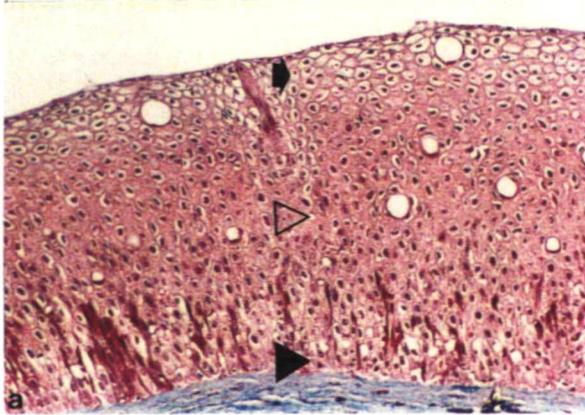


**FIG. 25**

**Epiderme da Cabeça**

- ( a ) Corte transversal da epiderme do lábio superior onde se observa camada basal ( ► ) intermediária ( ◁ ) e superficial ( ◼ ). ( Aum 300x . Formol. Tricrômico de Mallory ).
- ( b ) Corte transversal da bochecha onde se observa células basais cilíndricas ( ⬆ ), espaços intercelulares na camada basal ( ↑ ) e vacuolização do citoplasma na camada intermediária ( ▲ ). ( Aum. 550x. Bouin. H.E. ).
- ( c ) Corte transversal do epitélio da região infra-orbital onde se observa vacuolização mais acentuada das células da camada intermediária ( ▲ ) e camada superficial composta por várias camadas de células pavimentosas. ( Aum. 1390x. Bouin. H.E. ).
- ( d ) Vista superficial da região em torno da narina recoberta por microsaliências predominantemente punctiformes ( ↑ ). ( MEV. Aum. 2180x ).
- ( e ) Vista superficial do epitélio do lábio inferior com células de formato irregular ( ◼ ) recobertas por microsaliências longas ( ↑ ) de distribuição irregular. (MEV. Aum. 2180x ).
- ( f ) Vista superficial do epitélio do lábio superior com células de formato irregular recobertas por microsaliências longas ( ↑ ) de distribuição irregular. ( MEV. aum 3250x )

FIGURA 25

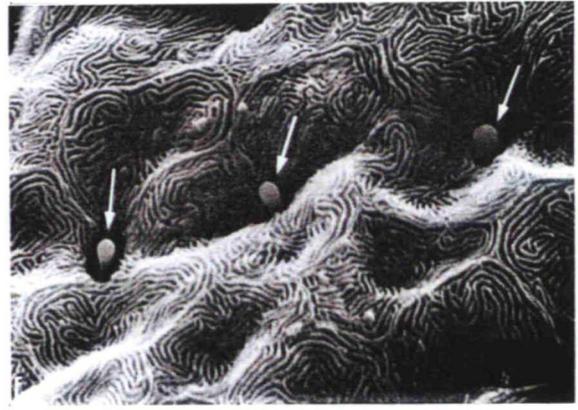
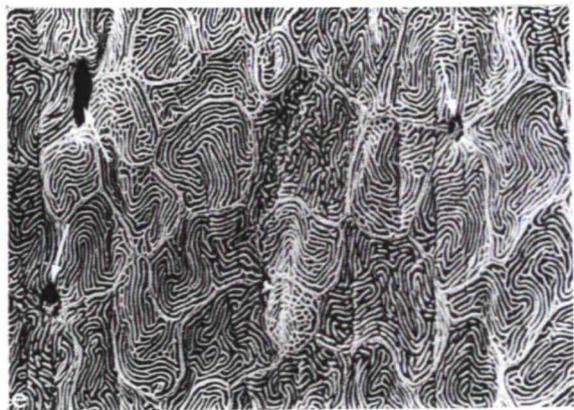
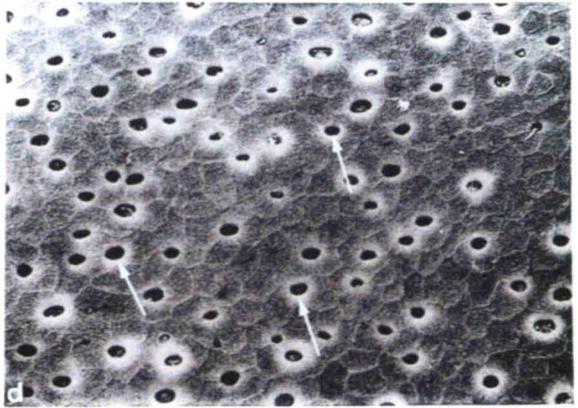
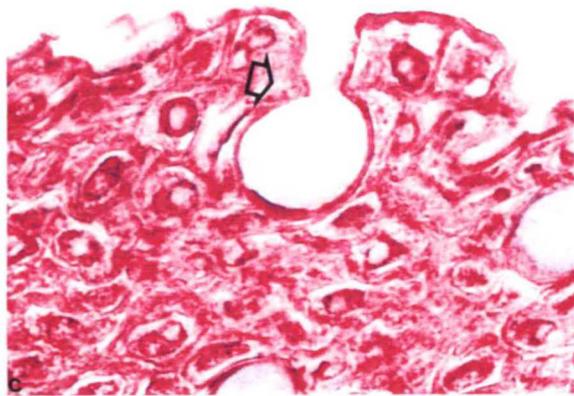
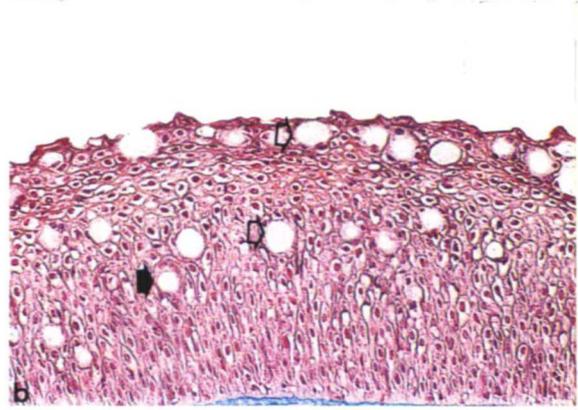
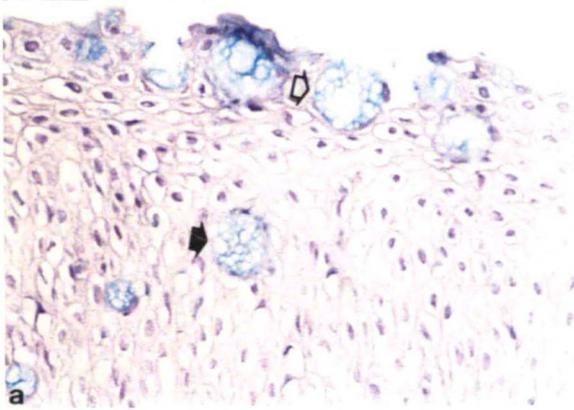


**FIG. 26**

**Epiderme da região da cabeça**

- ( a ) Corte transversal da bochecha com células secretoras de muco globosas com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 na região intermediária (  ) e superficial (  ). ( Aum. 1390x. Bouin. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris ).
- ( b ) Corte transversal do epitélio da região infra-orbital onde se observa células secretoras de muco na região intermediária (  ) que tornam-se maiores à medida que se aproximam da superfície epitelial (  ). ( Aum. 390x. Formol. Tricrômico de Mallory ).
- ( c ) Corte transversal da epiderme do lábio superior onde se observa liberação de muco na camada superficial (  ). ( Aum. 1390x. Formol. Mallory ).
- ( d ) Vista superficial da região infra-orbital com inúmeras aberturas de células secretoras de muco (  ). ( MEV. Aum. 590x ).
- ( e ) Vista superficial do lábio superior com poros correspondentes às células secretoras de muco (  ) entre as células epiteliais recobertas por microsaliências longas. ( MEV. Aum. 2081x ).
- ( f ) Vista superficial do lábio inferior com poros correspondentes às células secretoras de muco (  ). ( MEV. Aum. 2920x )

FIGURA 26

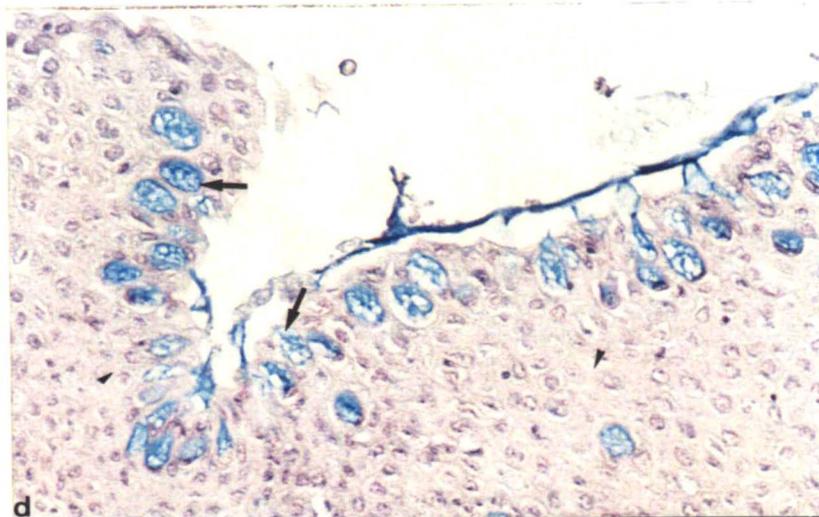
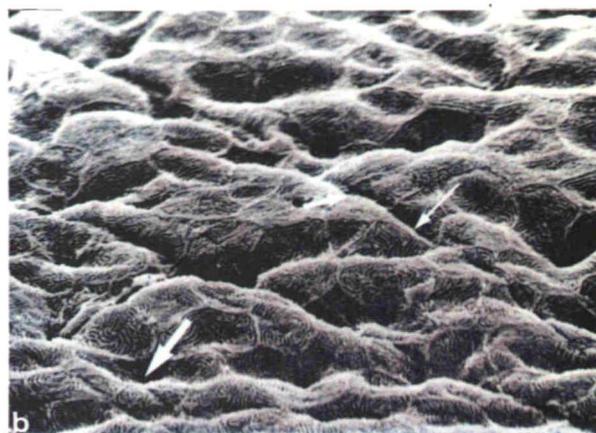
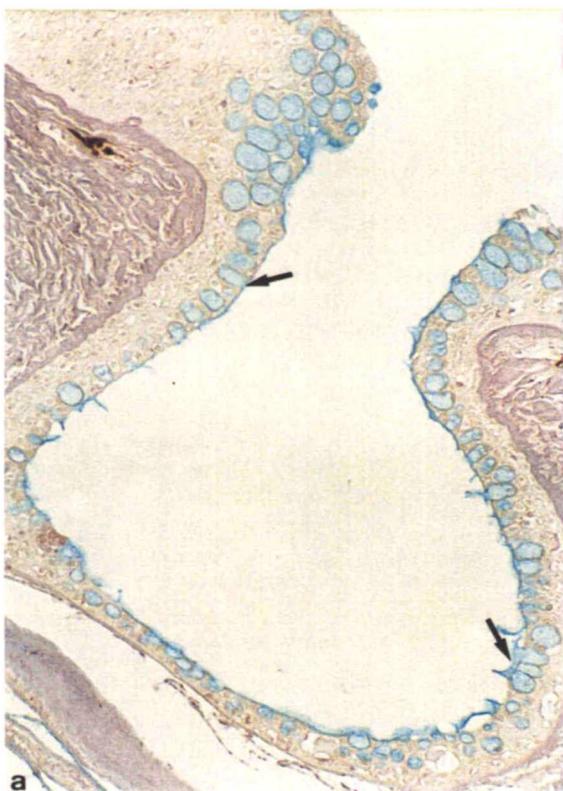


**FIG. 27**

**Epiderme da região da cabeça**

- ( a ) Corte transversal da epiderme da região em torno da narina onde se observa reentrâncias do epitélio com células secretoras de muco ( ↑ ) com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5. (Aum. 550x. Formol. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris ).
- ( b ) Vista superficial da epiderme do assoalho bucal externo com superfície irregular onde se observa saliências ( ↑ ), reentrâncias ( ↑ ) e depressões ( ↑ ). ( MEV. Aum. 1530x. ).
- ( c ) Detalhe da foto ( b ) onde se observa reentrância do epitélio. ( MEV. Aum. 2360x ).
- ( d ) Corte transversal da epiderme do assoalho bucal em região correspondente a foto ( c ) onde se observa reentrância do epitélio com concentração de células secretoras de muco com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5( ↑ ). ( Aum. 1390x. Bouin. Alcian Blue pH 2,5 contrastado com Hematoxilina de Harris ).

FIGURA 27

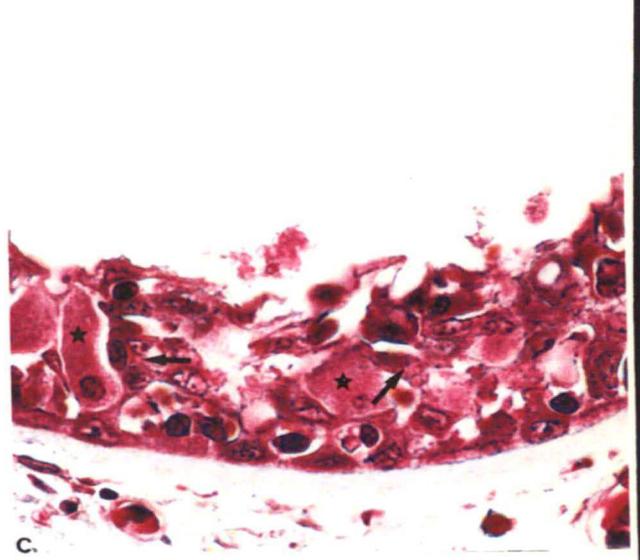
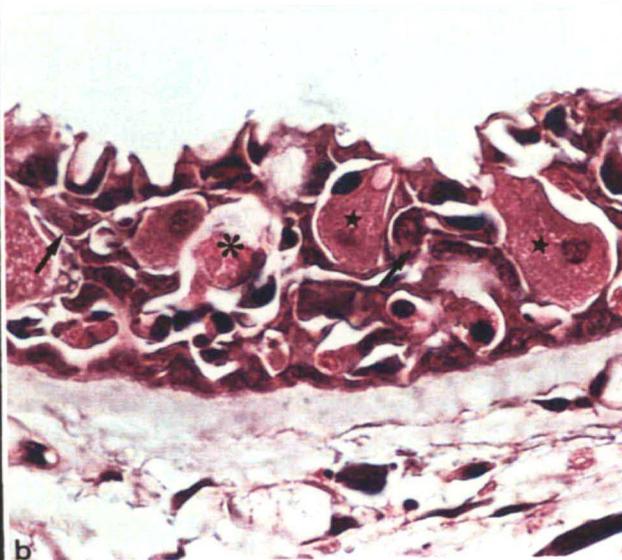
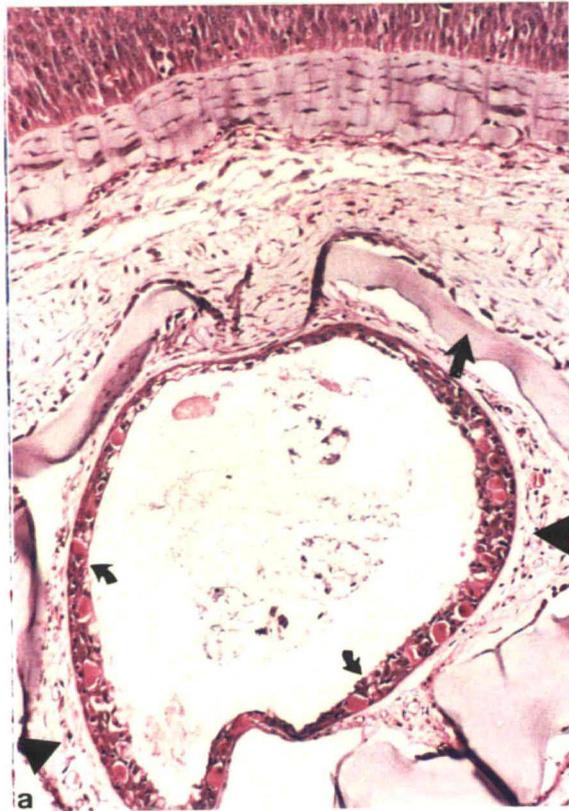


**FIG. 28**

**Epiderme da Região da cabeça**

- ( a ) Corte transversal da epiderme do assoalho bucal onde se observa canal circular (    ), circundado externamente por tecido conjuntivo denso modelado (  ) e não modelado (  ) e revestidos por tecido epitelial (  ). ( Aum. 390x. Bouin. H.E. ).
- ( b ) Epitélio de revestimento do canal da região infra-orbital com células claviformes (  ), células epiteliais de formato irregular (  ) e células secretoras de muco (  ). ( Aum. 1390x. Bouin. H.E. ).
- ( c ) Epitélio de revestimento do canal circular localizado no assoalho bucal com células claviformes (  ) e células epiteliais de forma irregular (  ) ( Aum. 1397. Bouin. Tricrômico de Mallory ).

FIGURA 28

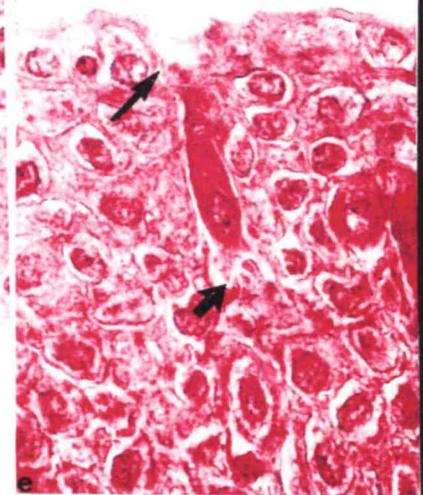
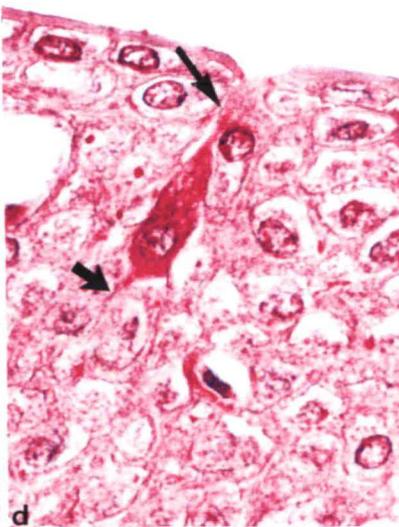
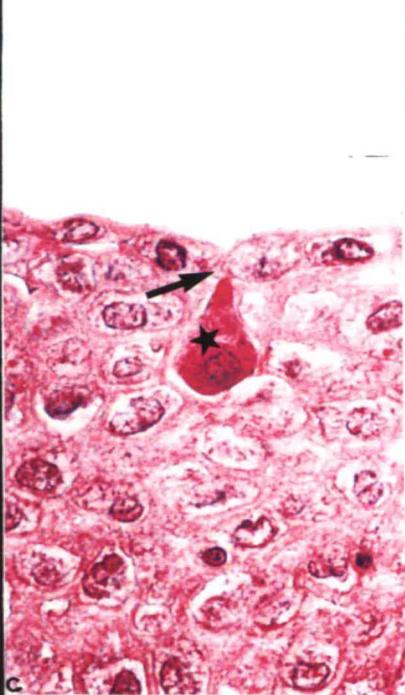
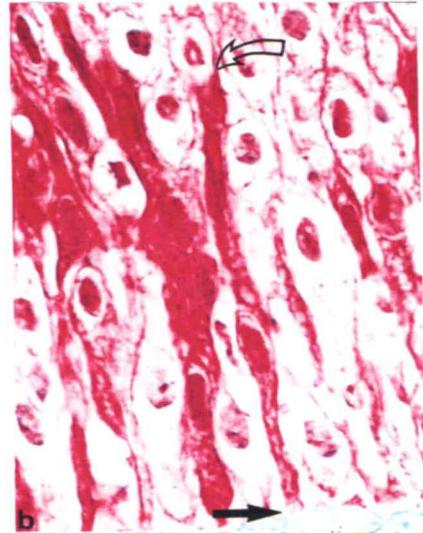
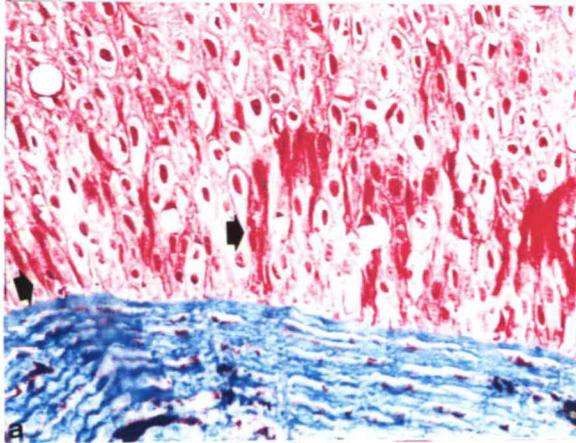


**FIG. 29**

**Epiderme da região da cabeça**

- ( a ) Corte transversal da epiderme do lábio superior onde se observa na camada basal células alongadas fusiformes que apresentam coloração diferenciada das células epiteliais (  ). ( Aum. 552. Formol. Tricrômico de Mallory ).
- ( b ) Detalhe da foto ( a ) onde se observa prolongamento basal em contato com a membrana basal (  ) e região apical em contato com células epiteliais (  ). ( Aum. 1397x. Formol. Tricrômico de Mallory ).
- ( c ) Corte transversal da epiderme do assoalho bucal externo onde se observa células com coloração diferenciada, de formato piriforme (  ), com prolongamentos citoplasmáticos na região apical (  ). ( Aum. 1397x. Formol. Tricrômico de Mallory ).
- ( d ) Corte transversal da epiderme do assoalho bucal externo com células de coloração diferenciada das células epiteliais com prolongamentos citoplasmáticos na região apical (  ) e região basal (  ). ( Aum. 1397x. Formol. Tricrômico de Mallory ).
- ( e ) Corte transversal da epiderme do lábio superior onde observa-se células de coloração diferenciada das células epiteliais, com prolongamentos citoplasmáticos na região basal (  ) e apical (  ). ( Aum. 552x. Formol. Tricrômico de Mallory ).

FIGURA 29



## 5. DISCUSSÃO

Com base em estudos de conteúdo estomacal, o *T. newnesi* foi definido por ANDRIESHEV (1970) e WILLIAMS (1985) como espécie criopelágica, sendo sua alimentação associada ao mar congelado. Já RICHARDSON (1975) a considera como espécie semi-pelágica alimentando-se principalmente de anfípodas. VACCHI e LA MESA (1995) e DANIELS (1982) concluíram que, apesar dos anfípodas serem a principal presa, o *T. newnesi* alimenta-se ocasionalmente de algas, enquanto que CASAUX et al (1990) o consideram como espécie planctívora alimentando-se principalmente de algas.

Esses resultados foram obtidos de espécimes coletados em diferentes regiões e estações do ano demonstrando, assim, que ocorrem variações na composição da dieta de uma mesma espécie. Este fenômeno é, em geral, explicado pela variação sazonal da produção primária que, por sua vez, é determinada pela intensidade luminosa da região que naturalmente alterna períodos de intensa luminosidade com períodos de baixa luminosidade (RIVKIN e PUTT, 1987).

Entretanto, a maior parte dos estudos demonstrou que os anfípodas são o principal item alimentar do *T. newnesi*, mesmo quando há abundância de outras presas na área de estudo. Isto sugere que outros fatores, além da abundância, como por exemplo tamanho, motilidade e sabor, influenciam a seleção e captura do alimento (BARRERA-ORO e CASAUX, 1990). Esta seletividade pode ser observada no Teste alimentar 1, quando ao ser oferecido ao *T. newnesi* diversos gêneros de anfípodas vivos ocorreu a captura preferencial do gênero *G. antarctica*. A estratégia de captura desenvolvida envolve vários tipos de comportamento (KEENLEYSIDE, 1979, GEHRKE, 1988) e foi descrita com base em trabalhos experimentais para *T. newnesi* por FANTA et al (1994). o *T. newnesi* detecta

visualmente a presa, entra em alerta, posiciona o corpo paralelo ao fundo do aquário, apreende e ingere a presa, promove um giro de 180° no corpo posicionando-se para um novo ataque. O índice de sucesso de captura de 100% observado nos testes alimentares realizados é próximo ao observado por FANTA et al. (1994)

No teste alimentar 1, observou-se que o *T. newnesi* alimenta-se na coluna de água, ingerindo um número maior de presas durante os períodos de grande dispersão das mesmas, demonstrando que esta espécie comporta-se como um predador de emboscada sendo o movimento das presas suficiente para estimular sua captura por um ato reflexo (DANIELS, 1982)

Através do Teste alimentar 3, quando os anfípodas foram oferecidos dentro de cubas plásticas, com contato apenas visual entre predador e presa, confirmou-se esses resultados e demonstrou-se que o estímulo visual é suficiente para desencadear a sucessão de comportamentos que envolvem a detecção e captura da presa

Nos dois testes, a seletividade para tentativa de apreensão e captura foi inversamente proporcional a esta dispersão. Com a diminuição do número de presas em movimento, o *T. newnesi* tornou-se gradativamente mais seletivo. No entanto, a rejeição do anfípoda *W. obesa* em períodos de alta e baixa concentração de presas sugere que, ao contrário da apreensão e captura, a ingestão não é influenciada pela presença abundante da presa, mas por estímulos químico-sensoriais que determinam sua aceitabilidade ou digestibilidade, resultando em sua posterior ingestão ou rejeição

Os estímulos químico-sensoriais envolvidos neste processo são a gustação e a olfação. A gustação em peixes é mediada pelos botões gustativos que, em *T. newnesi*, estão presentes em grande número na região central dos lábios superiores, onde também se observa inúmeros denticulos que auxiliam na apreensão da presa favorecendo o contato da mesma com a região sensorial.

No Teste Alimentar 2, quando foram oferecidos anfípodas mortos acidificados, adocicados e neutros, o estímulo visual foi suficiente para o desencadeamento do mesmo padrão de captura e apreensão das presas, observado no teste alimentar 1, ocorrendo a detecção e apreensão dos três tipos de alimento. Entretanto, os alimentos acidificados e adocicados foram sempre posteriormente rejeitados e o alimento neutro ingerido. Este comportamento confirma que o contato com a presa é que desencadeia a funcionabilidade ou seja, estimula as estruturas sensoriais, na seletividade do alimento.

A ingestão do alimento neutro demonstra que a natureza morta das presas não influencia decisivamente em sua detecção. A rejeição do alimento neutro observada apenas nos testes realizados entre 12 e 18 horas após o início do período de luz pode ser explicada por um aumento na seletividade neste horário ou pela diminuição do nível de atividade do *T. newnesi*. Esta alteração foi observada em todos os testes alimentares realizados, quando os picos de maior ingestão de alimentos foram registrados nos testes realizados até 6 horas após o início do fotoperíodo e um menor número sendo observado nos testes realizados nos períodos entre 12 e 18 após o início do fotoperíodo.

Esta variação pode ser atribuída a diferentes necessidades metabólicas e ajustes fisiológicos, característicos para cada espécie (FANTA et al., 1994) e de ocorrência cíclica, circadianamente, e que nem sempre pode ser relacionada a necessidades alimentares (HESTHAGEN, 1976).

Apesar dos alimentos acidificados e adocicados terem sido sistematicamente rejeitados, observou-se a apreensão de um número relativamente maior de presas adocicadas. Portanto, possivelmente, outras estruturas além dos botões gustativos, como por exemplo as envolvidas na olfação, possam ser estimuladas pela natureza do sinal químico emitido pela presa (BARDACH, 1975). Além disso, talvez a acidez seja mais desagradável ao animal.

No Teste alimentar 4, quando foi introduzido extrato de anfípodas no aquário, ficou demonstrado que o *T. newnesi* é estimulado por sinais químicos e que este estímulo é suficiente para desencadear um comportamento de alerta e orientação do corpo, em posição oblíqua em relação ao fundo do aquário, característico da procura de alimento (FANTA et al, 1994 ). Verifica-se, assim que uma vez desencadeado o processo através do estímulo adequado, o predador é capaz de orientar-se até a fonte do estímulo e reproduzir movimentos de apreensão.

Comprovou-se através dos testes que isto acontece independentemente da visão, normalmente considerada como principal sentido desencadeador do comportamento alimentar e independente também dos órgãos mecanorreceptores, usualmente indicados como responsáveis pela detecção da presa, em períodos de baixa intensidade luminosa, característica do inverno antártico (MONTGOMERY e MACDONALD, 1987, MONTGOMERY e COOMBS, 1992a,b, e 1994). Resultados semelhantes foram obtidos no teste alimentar 5b, quando foram introduzidos anfípodas vivos em uma cuba posicionada externamente ao aquário, permitindo também neste caso apenas estímulo químico.

A olfação e a gustação são dificilmente distinguidas em organismos aquáticos, pois ambas dependem de moléculas dissolvidas na água e várias substâncias são capazes de ativar os dois sentidos (LAGLER et al., 1962, VALENTINCIC e CAPRIO, 1994), intensificando a resposta e produzindo um comportamento mais definido ou efetivo. Isto pode ser observado no Teste alimentar 5a, quando anfípodas foram oferecidos em cuba com comunicação visual e química. Neste caso foi observado um número maior de ataques à cuba quando comparado ao teste 3, realizado sem comunicação química. Observou-se ainda que o número de ataques decresce menos acentuadamente ao longo do teste,

demonstrando que quando ocorre uma somatória dos estímulos visual e químico o *T. newnesi* permanece predisposto à procura do alimento por um período de tempo maior

O órgão olfatório de *T. newnesi* possui apenas uma abertura para cada cavidade nasal, característica para nototenídeos e diferindo, portanto, da maioria dos teleósteos que possuem órgão olfatório com duas aberturas nasais para cada cavidade nasal. Esta característica está ligada aos hábitos sedentários da maioria dos nototenídeos, sendo a entrada do fluxo de água pulsátil e acoplado aos movimentos respiratórios (EASTMAN, 1993)

A roseta olfatória de forma oval, comum para a maioria dos peixes, proporciona ao *T. newnesi* acuidade olfatória intermediária (HARA, 1971). A disposição perpendicular da lamela ao sulco mediano central é comum à maioria dos peixes da ordem Perciformes (EASTMAN, 1993). O número de lamelas olfatórias encontradas para nototenídeos, no entanto, demonstra uma larga escala de variação. Em *Notothenia agustata*, 45, *Pleuragramma antarcticum* 22-26; *Trematomus bernacchii*, 23-27 (JAKUBOWSKI, 1975). Nos espécimes utilizados para este estudo, o *T. newnesi* apresentou 26 ( $\pm 2$ ) lamelas olfatórias. EASTMAN (1993) afirma que o número de lamelas não está relacionado com a acuidade olfatória, já que as células sensoriais são irregularmente distribuídas dentro do epitélio lamelar. Entretanto, é de se supor que um número maior de lamelas, deva implicar em um maior número de células nelas distribuídas, o que poderia aumentar a acuidade olfatória da espécie.

No epitélio olfatório de *T. newnesi* foi possível distinguir, através de microscopia óptica, células sensoriais, células epiteliais de sustentação, células basais e células de muco que são os mesmos tipos celulares descritos para a maioria dos teleósteos (HARA, 1971, LANGLER et al, 1962, SINGH e SINGH, 1984, 1987; SINGH, 1994). As observações

realizadas através de microscopia eletrônica de varredura demonstraram que a distribuição das células sensoriais na lamela olfatória é contínua, semelhante à encontrada por HARA ( 1971 ) para *Anguilla* e *Ictalurus*.

SINGH e SINGH (1984, 1987) descrevem, através de microscopia óptica, o epitélio olfatório de *Crossocheilus latius latius*, *Barilius bendilensis* e *Pseudecheneis sulcatus* como sendo constituído por células de sustentação ciliadas e não ciliadas, células receptoras, células basais e de muco. Estudando a superfície do epitélio olfatório de 4 teleósteos de água frias SINGH (1994) identificou células sensoriais ciliadas, não ciliadas e as recobertas por microvilos que diferem em número e na distribuição nas diferentes espécies estudadas. Como se trata, de um estudo superficial, não foram analisadas as células de sustentação e basais. BANISTER (1965) e OJHA e KAPOOR (1973) entretanto, descrevem as células de sustentação como sendo as ciliadas.

Nas observações realizadas em *T. newnesi* foi possível identificar superficialmente células ciliadas e células com microvilos. No entanto, nenhuma das técnicas utilizadas ofereceu condições para identificação do tipo funcional destas células. Apesar de cílios e microvilos estarem ligados à função de recepção de estímulos sensoriais em diferentes classes de vertebrados e invertebrados (VINNIKOV, 1975), parece ser mais provável que a presença de microvilos esteja relacionada à função sensorial, já que estes representam um aumento de superfície de membrana, favorecendo os processos moleculares e fisiológicos da gustação.

Os dois tipos de células basais observadas no epitélio olfatório de *T. newnesi* são distinguidas pela forma celular e de seus núcleos e correspondem às identificadas por SINGH e SINGH (1987) para *Barilius bendelisis*. Sua função não é discutida na literatura pesquisada. Estas células, no entanto, podem ser células epiteliais indiferenciadas, com a função de reposição de células através de proliferação celular, já que o número de lamelas

olfatórias aumenta com a idade e o tamanho dos peixes (SINHA, 1987a ) As duas formas celulares observadas podem representar diferentes estágios de diferenciação de um mesmo tipo celular ou, ainda, células que originam os diferentes tipos celulares presentes no epitélio.

A presença de células de muco no epitélio olfatório é descrita por vários autores (SINGH e SINGH, 1984, 1987, SINGH, 1994; BANISTER, 1965; OJHA e KAPOOR, 1973). Estas células variam na forma, número e distribuição nas diferentes espécies estudadas. Em *T. newnesi*, são globosas e localizadas em maior quantidade no epitélio indiferenciado sendo mais escassas na região apical do epitélio olfatório. Nas duas regiões ocorreu reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 e negativa em pH 0,5 indicando a presença de glicosaminoglicanas ácidas carboxiladas. A função do muco no epitélio olfatório é discutida por SINHA (1987b) que conclui que o muco presente no epitélio olfatório possui função anti-tóxica e de proteção contra vários tipos de infecções. VINNIKOV (1975) acrescenta a esta função, a preservação da via de interação entre as proteínas odoríferas e as proteínas receptoras presentes nas membranas das células sensoriais.

Os botões gustativos, responsáveis pela gustação estão, em peixes, distribuídos em estruturas externas, como lábios superior e inferior e nas diversas regiões do epitélio da cabeça e do corpo bem como em estruturas internas da boca, como a farínge e os arcos branquiais. A investigação para localização e distribuição dos botões gustativos no presente estudo, foi realizada na superfície externa da cabeça, por ser esta a região do corpo envolvida mais diretamente com a detecção e apreensão do alimento.

Os testes alimentares 1 e 2 demonstraram que, em *T. newnesi*, principalmente a ingestão é determinada pela aceitabilidade do alimento, ou seja, seu sabor é fator decisivo para que ocorra o desencadeamento dos movimentos que levam a sua ingestão. Em *T. newnesi* foram observados, nas diferentes regiões estudadas botões gustativos, que diferem

principalmente em sua forma e tamanho. Entretanto, são semelhantes em sua constituição básica aos descritos para teleósteos por diversos autores, entre eles LAGLER et al. (1962); BEIDLER e SMALLMAN (1965), HARA (1971) e ZUWALA e JAKUBOWSKI (1993) São constituídos de células de sustentação e células sensoriais, diferenciadas através de microscopia óptica como células claras e células escuras (OVALLE e SHINN, 1977 e RAJBANSHI 1966). Através de microscopia de transmissão JOHNSON-GROVER e FARBMAN (1976) descreveu dois tipos celulares como constituintes dos botões gustativos: as células de Tipo I que associou às células claras e as células do Tipo II que associou às escuras, concluindo que estas células poderiam ser estágios diferentes do mesmo tipo celular KITO et al (1987) denominaram as células claras de células tubulares, devido a presença de grande quantidade de tonofilamentos e microtúbulos em seu citoplasma, e as células escuras, de células filamentosas, devido à presença de grande quantidade de retículo endoplasmático liso e mitocôndrias. Apesar das diferentes denominações todos os autores concordam que as células claras estão relacionadas com a manutenção da forma do botão gustativo enquanto que as células escuras estão relacionadas com os processos de percepção gustatória e também de secreção de muco, que manteria um microambiente favorável para os processos.

Apesar dos botões gustativos de *T. newnesi* basicamente não apresentarem aspectos estruturais diferentes dos descritos na literatura, no presente estudo observou-se que apresentam diferentes morfologias nas diferentes regiões: alongados, fusiformes, e globosos além de apresentarem a parte apical saliente, no nível da superfície apical ou em reentrâncias. Isto pode significar que botões gustativos responsáveis pela identificação de diferentes substâncias estariam localizados em diferentes regiões ou ainda, maior ou menor capacidade na captação do estímulo. Ficou demonstrado, ainda, que estudos acerca da distribuição destas estruturas através de microscopia eletrônica de varredura são

insuficientes já que em muitos casos, como o observado para o lábio inferior e assoalho bucal externo, a superfície apical dos botões está localizada em depressões ou criptas do epitélio, impossibilitando sua visualização através desta técnica. No entanto, é de grande valor o desenvolvimento simultâneo de microscopia eletrônica de varredura e de microscopia óptica, já que permitindo a observação interna, leva à real identificação dos botões gustativos.

A morfologia da epiderme da cabeça de *T. newnesi* é semelhante à descrita para peixes teleósteos em geral por KAPOOR (1961, 1965), HENRIKSON e MATOLTSY (1968a), WHITEAR (1970) HAWKES (1974) e WHITEAR e MITTAL (1986). As camadas celulares, basal intermediária e superficial que compõem a epiderme são bem nítidas em todas as regiões analisadas.

A camada intermediária da epiderme apresenta células com citoplasma vacuolizado. Esta vacuolização pode estar relacionada com o desenvolvimento intenso de células secretoras, já que ela foi mais acentuada em regiões onde esses tipos celulares estão presentes em grande número como, por exemplo, a bochecha e a região infra-orbital. A vacuolização destas células também pode ser consequência da extração de conteúdos celulares durante o processo de fixação, já que a vacuolização foi mais acentuada em fragmentos de tecidos fixados por Gendre, que tem base alcoólica.

As células secretoras de muco, apresentaram sempre reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 e negativa quando utilizado o pH 0,5 o que indica que, em todas as regiões analisadas, são produzidas glicosaminoglicanas ácidas carboxiladas. Estes resultados diferem do encontrado por EASTMAN e HIKIDA (1991) para a epiderme do peixe antártico *Gymnodraco acuticeps*. No entanto, a presença de glicosaminoglicanas ácidas carboxiladas ou sulfatadas está relacionada com o habitat da espécie, sendo as sulfatadas encontradas mais frequentemente em espécies bentônicas (WHITEAR e MITTAL, 1986).

O muco presente na camada superficial em peixes possui múltiplas funções, estando relacionado com a redução do coeficiente de atrito durante a natação, a proteção contra agentes patogênicos, e a regulação iônica (SPERRY e WASSERSUG, 1976)

A presença de muco na superfície epitelial possui estreita relação funcional com a presença de microsaliências presentes nas células epiteliais superficiais. De acordo com HENRIKSON e MATOLSKY (1968a), as microsaliências formam vias de distribuição do muco e atuam na manutenção da camada mucóide superficial, com o que concorda WHITEAR (1990) acrescentando ainda que as microsaliências possibilitam uma economia na produção de muco, que seria facilmente lavado se a superfície fosse lisa.

Em *T. newnesi* as microsaliências possuem geralmente formato alongado e disposição irregular, na maioria das regiões estudadas, apresentando-se punctiformes na região em torno da narina. FISHELSON (1984) estudou as microsaliências de 43 espécies de teleósteos marinhos e de água doce e concluiu que as microsaliências são espécie - específicas podendo inclusive, ser utilizadas em taxonomia. As variações particulares na forma das microsaliências observadas podem também, segundo WHITEAR (1990), refletir diferentes estágios de maturação celular e atividade secretora, idéia compartilhada por outros autores, porém ainda não comprovada.

A epiderme dos peixes possui plexos nervosos formados por fibras mielinizadas de diferentes origens e de vários calibres que fazem parte do sistema sensorial somático, atuando na recepção tátil, de temperatura e de senso químico comum (WHITEAR, 1971a) KOTRSCHAL et al. (1993) estudando a epiderme de *Ciliata mustela*, através de microscopia de epifluorescência, divide a inervação sensorial do epitélio em dois sistemas, de acordo com a origem de suas fibras nervosas os nervos espinhais inervam as terminações livres enquanto que os nervos faciais providenciam inervação para o senso

químico comum. No entanto, devido ao seu pequeno calibre, em geral menor que 1  $\mu\text{m}$ , essas fibras são de difícil demonstração em microscopia óptica e não foram identificadas neste estudo. Observou-se, porém, células que apresentam coloração diferenciada das células epiteliais e com a mesma propriedade de coloração observada para células sensoriais presentes nos botões gustativos. Células com estas características foram descritas por WHITEAR (1952, 1976) para diversos teleósteos. Estas células ocorrem em áreas onde ocorrem botões gustativos e em áreas onde eles estão ausentes, o que indica que elas não fazem parte do sistema gustatório mas sim, são pertencentes ao senso químico comum (WHITEAR, 1971b).

Verifica-se, portanto, que o *T. newnesi* apresenta grande competência no seu comportamento alimentar, conseqüente de um sistema químico-sensorial bem complexo e desenvolvido, demonstrando assim, que esta espécie está bem adaptada a situações diversas de luminosidade, o que inclui as épocas do inverno antártico.

## 6. CONCLUSÕES

1. Nos períodos de luminosidade, o *T. newnesi* pode utilizar-se tanto do sistema visual como do sistema olfatório para detecção de suas presas
2. A ingestão das presas detectadas e apreendidas pelo *T. newnesi* depende da percepção gustatória
3. O estímulo olfatório, por si só em *T. newnesi* é suficiente para desencadear a procura pelo alimento e determinar a localização de suas presas
4. O *T. newnesi* possui órgãos de olfação desenvolvidos, que permitem a detecção de suas presas, independentemente do sistema mecano-receptor, em condições de baixa luminosidade, característica do inverno antártico
5. Os botões gustativos em *T. newnesi* possuem distribuição variável nas diferentes regiões estudadas, estando concentrados principalmente na região central do lábio superior, local do contato inicial entre o predador e a presa.
6. Os botões gustativos nas diferentes regiões possuem semelhanças em relação a seus componentes estruturais básicos diferindo, entretanto, quanto ao tamanho, à forma e à porção apical, sendo possível que estas diferenças estejam relacionadas com a sensibilidade a diferentes substâncias

7 A epiderme da região da cabeça de *T. newnesi*, possui células diferenciadas possivelmente responsáveis pela recepção de estímulos do senso químico comum.

8 O peixe antártico *Trematomus newnesi* é um predador de emboscada, eficiente ao se alimentar coluna de água, sendo capaz de selecionar seu alimento, em todas as estações do ano na antártica, utilizando-se principalmente de seu sentido químio-sensorial

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, S. K.; SHAH, K. K. Histochemistry of the epidermis of a hill-stream fish, *Garra gotyla*. **Indian J. Anim. Sci.**, New Delhi, v 57, n 8, p. 908 - 914, 1987.
- ANDRIASHEV, A. P. Criopelagic fishes of the Arctic and Antarctic and their significance in polar ecosystems. In: HOLDEGATE, M. W ( ed. ) **Antartic Ecology**. Academic Press, London, 1970 p. 297 - 304
- BANISTER, L. H. The fine structure of the olfactory surface of teleosteos fishes **Quart. Jour. Micr. Sci.**, v.106, p. 334 - 342, 1965.
- BARDACH, J. Olfaction and taste. In DENTON, D A , COGHLAN, J. P. ( eds ) **Olfaction and Taste**. Proceedings of the Fifth International Symposium Academic Press, New York, 1975, p 101 - 130.
- BARRERA-ORO, E. R ; CASAUX, R J Feeding selectivity in *Notothenia neglecta*, Nybelin, from Potter Cove, South Shetland Islands, Antarctica. **Antarct. Sci.**, Oxford, v. 2, n 3, p. 207 - 213, 1990.
- BDH.CHEMICAL LTD. **Biological stains and staining methods** BDH Chemicals Ltd, England, 1969, 48 p.
- BEIDLER, L M , SMALLMAN, R L. Renewal of cells within taste buds. **J. Cell Biol.**, New York, v. 27, p. 267 - 271, 1965.
- BÜRCHEL, W. **Técnicas microscópicas**. São Paulo. Polígono, 1962, 178p

- BURNE, R. H. The anatomy of the olfactory organ of teleostean fishes. **Proc. R. Soc. Lond. Ser. B. Biol. Sci.**, London. v 2, p. 610 - 663, 1909.
- CASAUX, R. J., MAZZOTTA, A. S., BARRERA-ORO, E. R. Seasonal aspects of the biology and diet of nearshore nototheniid fish at Potter Cove, South Shetland Islands, Antarctica **Polar Biol.**, Heidelberg, v. 44, p 63 - 72, 1990.
- CLARK, G. ( ed ) **Staining Procedures**. 4ed Baltimore: Williams & Wilkins, 1981. 512 p.
- CLARKE, A. Life in cold water: the physiological ecology of polar marine ectotherms. **Oceanogr. Mar. Bio. Annu Rev.**, USA, v 21, p. 341 - 453, 1983
- CULLING, C. F. A., ALLISON, R. T.; BARR, W. T. **Cellular pathology technique** 4 ed. London: Butterworth, 1985. 642p.
- DANIELS, R. A. Feeding Ecology of some fishes of the Antarctic Peninsula. **Fish. Bull. (Dublin)**, v 80, p. 575 - 588, 1982
- DANIELS, R. A., LIPPS, J. H. Predation on foraminifera by Antarctic fish **J. Foraminiferal Res.**, Washington, v. 8, n 2, p. 110 - 113, 1978.
- DANIELS, R. A.; LIPPS, J. H. Distribution and Ecology of Fishes of the Antarctic Peninsula. **J. Biogeogr.**, Oxford, v 9, p. 1 - 9, 1982
- DE GROOT S. J. Digestive system and sensorial factors in relation to feeding behaviour of flatfishes ( Pleuronectiformes ). **J. Cons. Cons. Int. Explor. Mer.**, Copenhagen, v. 32, p. 385 - 394, 1969.
- DE VRIES, A. L. Freezing resistance in Antarctic fishes. In HOLDGATE, N. W ( ed ). **Antarctic Ecology** London: Academic Press, 1970 v. 1, p 321 - 327.
- DE VRIES, A. L. Glycoproteins as biological antifreeze agents in Antarctic fish **Science ( Washington D C )**, v 172, p. 1152 - 1155, 1971

- DE VRIES, A. L ; EASTMAN, J T. Physiology and ecology of Notothenioid fishes of the Ross Sea. **J. R. Soc. N. Z.**, Wellington, v. 11, p 329 - 340, 1981
- DE WITT, H H Coastal and deep water benthic fishes of the Antarctic In BUSHNELL, V C ( ed ). **Antarctic Map. Folio Series**, New York: American Geographical Society, 1971 Folio 15, p. 1 - 10
- DOBBS, G H., LIN, Y , De VRIES, A L. Agglomerism in antarctic fish **Science (Washington D C )**, v 185, p. 793 - 794, 1975
- DOROSHENKO, M. A ; MOTAVKIN, P. A Olfactory epithelium of marine fishes in scanning electron microscopy. **Acta Morphol. Hung.**, Budapest, v. 34, n. 3, p. 143 - 156, 1986.
- DOWNING, W S , NOVALES, R R The fine structure of lamprey epidermes I. Introduction and mucous cells **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v 35, p. 282 - 294, 1971a.
- DOWNING, S. W., NOVALES, R R The fine structure of Lamprey epidermis II Club Cells **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v. 35, p 301 - 314, 1971b.
- EASTMAN J T. *Pleuragramma antarcticum* ( Pisces, Nototheniidae) as Food for Other Fishes in McMurdo Sound, Antarctica. **Polar Biol.**, Heidelberg, v 4, p. 155 - 160, 1985a
- EASTMAN, J T The evolution of neutrally buoyant Notothenioid fishes: Their specializations and potential interactions in the antarctic marine food web. In SIEGFRIED, W. R ; CONDY, P R ; LAWS, R M ( eds ). **Antarctic nutrient cycles and food webs**. Berlin Heidelberg Springer - Verlag, 1985b p. 431 - 435
- EASTMAN, J T Ocular morphology in Antarctic notothenioid fishes. **J. Morphol.**, New York, v. 196, p. 283 - 306, 1988

- EASTMAN, J T Evolution and diversification of Antarctic notothenioid fishes **Am. Zool.**, Lawrence, v. 31, n. 1, p 93 - 109, 1991.
- EASTMAN, J. T. **Antarctic Fish Biology: Evolution in a Unique Enviroment.** California: Academic Press, 1993 322 p.
- EASTMAM, J. T ; DeVRIES, A L , HIKIDA, R S Buoyancy studies and microscopy of skin and subdermal extracelular matrix of the antarctic snailfish, *Paraliparis devriesi* **J. Morpho.**, 220, p. 85 - 101, 1994.
- EASTMAN, J. T ; GRANDE, L Evolution of the Antarctic fish fauna with emphasis on the recent notothenioids. In J A CRAME ( ed ) **Origins and Evolution of the Antarctic biota** Geological Society, Special Publication, v. 47, 1989 p. 241 - 252
- EASTMAN, J. T.; HIKIDA, R S Skin structure and vascularization in the Antarctic Notothenioid fish *Gymnodraco acuticeps*. **j. Morphol.**, New York, v 208, p. 347 - 365, 1991
- EVERSON, I Antarctic marine secondary production and the phenomenon of cold adaptation. **Phil. Trans. R. Soc. Lond.**, v 279, p 55 - 66, 1977.
- EVERSON, I. Fish Biology. In LAWS, R M ( ed ) **Fish Ecology**. London. Academic Press, 1984 p 491 - 532.
- EKAU, W Demersal fish fauna of the Weddell Sea, Antarctica. **Antarct. Sci.**, Oxford, v. 2, 129 - 137, 1990.
- FANTA, E. Influence of background color on the behavior of the fish *Oreochromis niloticus* ( Cichlidae ) **Arq. Biol. Tecnol. Curitiba**, v 38, p 1237 - 1251, 1995.

FANTA, E.; MEYER, A A ; GRÖTZNER, S. R LUVIZOTTO, M. F. Comparative Study on Feeding strategy and activity patteerns of two Antarctic Fish: *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 and *Gobionotothen gibberifrons* ( Lönnberg, 1905 ) ( Pisces, Nototheniidae ) under different light conditions **Antarct. Rec.**, Itabashi - Ku , v 38, n. 1, p 13 - 29, 1994.

FISHELSON, L. A comparative study of ridge - mazes on surface epithelial cell - membranes of fish scales ( Pisces, Teleostei ). **J. Morphol.**, New York, v. 104, p 231 - 238, 1984

FISHER, W , HUREAU, J C ( ed ) **FAO species identification sheets for fishery purposes: Southernn ocean.** v II. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations, 1985

FOSTER, B A.; CARGILL, J. M., MONTGOMERY, J C. Planktivory in *Pagothenia borchgrevinki* ( Pisces: Nototheniidae ) in McMurdo Sound, Antarctica **Polar Biol.**, Heidelberg, v 8, p. 49 - 54, 1987

GEHRKE, P C Influence of gut morphology, sensory cues and hunger on feeding behavior of spangled perch, *Leiopotherapon unicolor* ( Günter, 1859 ) ( Percoidei, Teraponidae ) **Fish. Biol.**, New York, v.33, p 189 - 201, 1988.

GLAUERT, A M ( ed ) **Practical methods in electron microscopy** 4 ed New York Elsevier Biomedical Press, 1986 v. 5, part I, 311 p.

GRÖTZNER, S. R. **Estudo Morfofuncional comparativo da retina dos peixes antáticos *Notothenia ( gobionotothen ) gibberifrons* Lönnberg, 1905 e *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902.** Curitiba, 1995 Tese ( Mestrado em Biologia Celular ) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná

HARA, J. T Chemoreception. In: HOAR, W S.; RANDALL, D J. ( eds ). **The fish physiology.** London: Academic Press, 1971. v. VI, p 79 - 120

- HAWKES, J W. The structure of fish skin. I. General organization. **Cell Tiss. Res.** Heidelberg, v. 149, p. 147 - 158, 1974.
- HEADLAND, R K., KEAGE, P L. Activities on the King George Island group, south Shetland Islands, Antarctica. **Polar Rec.**, Cambridge, v. 22, p 475 - 484, 1985
- HENRIKSON, R. C., MATOLTSY, A G. The fine structure of teleost epidermis I Introduction and filament - containing cells **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v, 21, p 194 - 212, 1968a
- HENRIKSON, R C., MATOLTSY, A. G. The fine structure of teleost epidermis. III Club cells and other cells types. **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v 21, p 222 - 232, 1968b.
- HESTHAGEN, I H. Locomotory activity of the black goby, *gobius niger* ( Pisces, Gobiidae), under artificial lighth conditions, including a false dawn and dusk **Sarsia**, v. 62, p 9 - 18, 1976.
- HIBIYA, T. ( ed. ) **An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features.** Tokyo: Kodansha, 1982 148 p.
- HOURIGAN, T. F ; RADTKE, R. L Reproduction of the Antarctic fish *Nototheniops nudifrons*. **Mar. Biol. Berl.**, Heidelberg, v 100, n 2, p 277 - 283, 1989.
- JAKUBOWSKI, M Anatomical structure of olfactory organs provided with internal nares in the antarctic fish *Gymnodraco acuticeps* Boul. ( Bathydraconidae ) **Bull. Acad. Pol. Sci., Ser. Sci. Biol.**, v 23, p 113 - 120, 1975
- JOHNSON - GROVER, N , FARBMAN, A I Fine structure of taste bud in the barbel of the catfish, *Ictalurus punctatus*. **Cell Tiss. Re.**, Heidelberg, v. 169, p 395 - 403, 1976.
- JOHNSTON, I. A., BATTRAM, J Feeding energetics and metabolism in demersal fish species from Antarctic, temperate and tropical environments. **Mar. Biol. Berl.**, Heidelberg, v 115, n 1, p 7 - 14, 1993

- KAPOOR, B. G. Histological notes on the skin of the head of a Cyprinoid fish, *Catla catla* (Hamilton). **Zool. Anz.**, Jena, v. 176, p. 264 - 270, 1961.
- KAPOOR, B. G. Histological observations on the skin of the head of a Siluroid fish, *Wallago attu* (Bl & Schn.). **Mikroskopie**, Vienna, v. 20, p. 123 - 128, 1965.
- KEENLEYSIDE, M.H.A. **Diversity and adaptation in fish behavior** Springer - Verlag, Berlin, 1979, 208 p.
- KELLERMANN, A. Food and feeding dynamics of the larval Antarctic fish *Nototheniops larseni*. **Mar. Biol. Berl.**, Heidelberg, v. 106, n. 2, p. 159 - 168, 1990.
- KELLERMANN, A., SCHADWWINKEL, S. Winter aspects of the ichthyoplankton community in Antarctic Peninsula waters. **Polar Biol.**, Heidelberg, v. 11, n. 2, p. 117 - 128, 1991.
- KIEST, K. A. A relationship of diet to prey abundance and the foraging behavior of *Trematomus bernacchii*. **Polar Biol.**, Heidelberg, v. 13, p. 291 - 296, 1993.
- KITOH, J.; HIOHARA, S.; YAMASHITA, S. Fine structure of taste buds in the minnow **Bull. JPN. Soc. Sci. Fish.**, Minato, v. 53, n. 11, p. 1943 - 1950, 1987.
- KITZAN, S. M.; SWEENEY, P. R. A light and electron microscope study of the structure of *Protopterus annectens* epidermis. I. Mucus production. **Can. J. Zool.**, Ottawa, v. 46, p. 767 - 772, 1968
- KOCK, K. H. Krill consumption by Antarctic Notothenioid fish. In. SIEGFRIED, W.R., CONDY, P. R., LAWS, R. M. (eds) **Antarctic Nutrient Cycles and Food Webs** Berlin - Heidelberg: Springer - Verlag, 1985. p. 431 - 435
- KOCK, K. H. **Antarctic Fish and Fisheries**. Cambridge. Cambridge University Press, 1992. 360 p

- KOCK, K. H , WILHELMS, S.; EVEVERSON, I.; GRÓGER, J Variations ins the diet composition and feeding intensity of mackerel icefish *Champscephalus gunnari* at South Georgia (Antarctic). **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Amelinghausen, v 108, p. 43 - 57, 1994
- KOTRSCHAL, K., WHITEAR, M.; FINGER, E. T. Spinal and facial innervation of the skin in the Gabid fish *Ciliata mustela* ( Teleostei ) **J. Comp. Neurol.**, New York, v. 331, p 407 - 417, 1993.
- LAGLER, K,F ; BARDACH, J. E , MILLER, R. R. **Ichthyology. The Study of Fishes** Toppan Company, Ltd., Tokio, 1962, 545p.
- LILLYWHITE, H. B ; MADERSON, P. F A. The structure and permeability integument. **Am. Zool.**, Lawrence, v 28, p 945 - 962, 1988
- LINKOWSKI, T B.; PRESLER, P.; ZUKOWSKI, C Food habits of nototheniid fishes (Nototheniidae ) in Admiralty Bay ( King George Island, South Shetland Islands ) **Polar res.**, Poland, v. 4, p 79 - 95, 1983.
- MAC DONALD, J A., WELLS, R. M G Physiological adaptation in Antarctic fishes. **Adv. Mar. Bio.**,USA, v. 24, p 321 388, 1987.
- MERRILEES, M. J Epidermal fine structure of the teleost *esox americanus* ( Esocidae, Salmoniformes ). **J. Ultrastruc. Res.**, Orlando, v 47, p. 272 - 283, 1974
- MEYER - ROCHOW, V B.; KLYNE, M. A retinal organization of the eyes of three nototheniid fishes from the Ross Sea ( Antarctica ) **Gegenbaurs Morphol. Fabr**, Leipzig, v. 128, p. 762 - 767, 1982

- MITTAL, A K ; BANERJEE, T K Histochemistry and the structure of the skin of a murrel, *Chana striata* ( Bloch, 1797 ) ( Channiformes, Channidae ) I Epidermis **Can. J. Zool.**, Ottawa, v 53, p. 833- 843, 1974.
- MONTGOMERY, J C , MACDONALD, J A. Sensory turning of lateral line receptors in Antarctic fish to the movements of planktonic prey. **Science ( Washington D C )**, v 235, n 4785, p. 195 - 196, 1987.
- MONTGOMERY, J.; COOMBS, S. Physiological characterization of lateral line function in the antarctic fish *Trematomus bernacchii*. **Brain Behav. Evol.**, Basel, v 40, p. 209 - 216, 1992a.
- MONTGOMERY, J.; COOMBS, S. Fibers innervating different parts of lateral line system of an antarctic Notothenioid, *Trematomus bernacchii*, have a similar frequency responses, despite large variation in the peripheral morphology. **Brain Behav. Evol.**, Basel, v. 40, p 217 - 233, 1992b
- MONTGOMERY, J.; COOMBS, S. Function and evolution of superficial neuromasts in an antarctic Notothenioid fish. **Brain Behav. Evol.**, Basel, v. 44, p. 287 - 298, 1994
- MORENO, C. A., OSÓRIO, H. H. Bathymetric food habit changes in the Antarctic fish, *Notothenia gibberifrons*, Lonnberg ( Pisces: Nototheniidae ). **Hidrobiologia ( Buchar. )**, v. 55, n 2, p 139 - 134, 1977
- OJEDA, F. P. Morphological characterization of the alimentary tract of antarctic fishes and its relation to feeding habits. **Polar Biol.**, Heidelberg, v. 5, n 2, p. 125 - 128, 1986.
- OJHA, P P ; KAPOOR, A S Histology of the olfactory epithelium of the fish, *labeo rohita* (Han., Buch.). **J. Morph.**, New York, v 140, p 77 - 85, 1973
- OVALLE, W K ; SHINN, S L. Surface morphology of taste buds in catfish barbels **Cell Tissue Res.**, Heidelberg, v 178, p. 375 - 384, 1977

- PARKER, G. H. The relation of smell, taste and the common chemical sense in vertebrates. **Proc. Acad. Nat. Sci.**, Philadelphia, v 15, p. 219 - 234, 1912
- POLICANSKY, D. History and Atlas of the fishes of the Antarctic Ocean. **Science (Washington D C)**, v 264, p. 1002 - 1004, 1994
- RICHARDSON, M. G The dietary composition of some Antarctic fish. **Br. Antarct. Surv. Bull.**, England, v 41, p. 113 - 120, 1975
- RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. **The marine antarctic coastal ecosystem of Admiralty Bay.** Warsaw Polish Academy of Sciences, 1993 p.9 - 13
- RAJBANSHI, V. K. A study on the cutaneous sense-organs of *Wallago attu*. **Anat. Anz.**, Jena, v 119, p. 86 - 93, 1966
- REUTTER, K., BREAPONT, W.; BUVANK, G. I. Taste bud types in fish. II Scanning electron microscopical investigation on *Xiphorus belleri* Heckel ( Pocaliidae, cyprinodontiformes, Teleostei ). **Cell Tissue Res.**, Heidelberg, v. 153, p 151 - 165, 1974
- RIVKIN, R. B ; PUTT, M. Diel periodicity of photosynthesis in polar phytoplanton: influence on primary production. **Science ( Washington D C )**, v. 238, p. 1285 - 1288, 1987.
- SCHELLART, N. A. M Interrelations Between the Auditory, the Visual and the Lateral Line Systems of Teleosts, a Mini-Review of Modelling Sensory Capabilities **Neth. J. Zool.**, Leiden, v. 42, n. 2 - 3, p. 459 - 477, 1992
- SCHLIWA, M Cytoarchitecture of surface layer cells of the teleost epidermis. **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v. 52, p 377 - 386, 1975.

- SIDELL, B D.; CROCKETT, E L , DRIEDZIC, W. R. Antarctic fish tissues preferentially catabolize monoenoic fatty acids. **J. Exp. Biol.**, Cambridge, v 271, n 2, p. 73 - 81, 1995.
- SINGH, N Scanning electron microscopic study of the olfactory epithelium of four coldwater hillstream teleosts from Garhwal hills ( India ). **J. Biosci. ( Bangalore )**, v. 19, n. 1, p. 91 - 102, 1994
- SINGH, S K ; MITTAL, A. K. A comparative study of the epidermis of the common carp and the three Indian major carp **J. Fish Biol.**, London, v. 36, n. 1, p 9 - 19, 1990
- SINGH, W , SINGH, H R Functional morphology and histology of the olfactory organs of the hill stream carp *Crossocheilus latius latius* **Folia Morphol. ( Prague )**, v. 32, n. 3, p 269 - 264, 1984.
- SINGH, W.; SINGH, H. R. Comparative histology of the olfactory epithelium of fishes *Bariliu bendelisis* and *Pseudecheneis sulcatus* in relation to their habitats. **Vestn. Cesk. Spol. Zool.**, Prague, v. 51, p. 39 - 42, 1987
- SINHA, R K. Histochemistry of the olfactory epithelium of a hillstream fish *Botia dario* (Ham ). **Folia Morphol. ( Prague )**, v 35, n 2, p 190 - 193, 1987a
- SINHA, R K. Morphology and anatomy of the olfactory organs of marine fish, *Sphyaena jello* ( C. ). **Folia Morphol. ( Prague )**, v 35, n. 2, p. 202 - 205, 1987b.
- SINQUE, C.; KOBLITZ, S ; COSTA, L. M. Distribution pattern of the ichthyoplankton in the Antarctic ecosystem **Arq. Biol. Tecnol. ( Curitiba )**, v 34, n 3 - 4, p. 617 - 638, 1991
- SKORA, K E. Fish. In RAKUSA - SUSZCZEWSKI, S ( ed ). **The marine antarctic coasta ecosystem of Admiralty Bay** Warsaw Polish Academy of Sciences, 1993 p 138 - 147

- SLOSARCZYR, W.; WYSOKINSKU, A. Ichtiological and fishery studies of the shelf fishing grounds in the region of Kerguelen Islands ( Antarctic ). **Pol. Badania Polarne**, Poland, v. 3, p. 173 - 190, 1980.
- SLOSARCZYK, W. Juvenile *Trematomus bernacchii* and *Pagothenia brachysoma* ( Pisces, Nototheniidae ) within Krill concentrations off Balleny Islands ( Antarctic ) **Al. Zjednoczenia**, v 1 p 81 - 91, Poland, 1981.
- SPERRY, D. G , WASSERSUG, R. J. A proposed function for microridges on epithelial cells **Anat. Rec.**, USA, v. 185, p. 253 - 257, 1976.
- TAKAHASHI, M.; NEMOTO, T. The food of Some Antarctic Fish in the Western Ross Sea in Summer 1979. **Polar Biol.**, Heidelberg, v 3, n 4, p 237 - 239, 1979
- TARVERDIYEVA, M. I. Daily food consumption and feeding pattern of the Georgian Cod ( *Notothenia rossi marmorata*, Fischer ) and the Patagonian toothfish ( *Dissostichus elegenoides*, Smitt ) ( Fam Nototheniidae ) in the South Georgia area. **J. Ichthyol.**, Bethesda, v. 12, n. 4, p 684 - 692, 1972
- TARGET, T. E. Trophic ecology and structure of coastal Antarctic fish communities. **Mar. Ecol.** , Progress Serie, West Germany, v 4, p. 243 - 263, 1981.
- TUCKER, D ; SMITH, J C. Vertebrate olfaction In: MASTERTON, R. B.; BITTERMAN, M. E.; CAMPBELL, C B. G , HOTTON, N. ( Eds ) **Evolution of Brain and Behavior in Vertebrates**. New Jersey: Lawrence Erlbaum associates, 1976, p. 25 - 51.
- VACCHI, M , LA MESA, M , CASTELLI, A Diet of two coastal nototheniid fish from Terra Nova Bay, Ross Sea. **Antarct. Sci.**, Oxford, v 6 ( 1 ), p. 61 - 65, 1994.
- VACCHI, M., LA MESA, M. The diet of the Antarctic fish *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 ( Nototheniidae ) from Terra Nova Bay, Ross Sea **Antarct. Sci.**, Oxford, v 7, p 37 - 38, 1995

- VALENTINCIC, T B , CAPRIO, J. Chemical and visual control of feeding and escape behaviors in the channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Physiol. Behav.**, Elmsford, v 55 n 5, p 845 - 855, 1994
- VALERIO, F P , KAO, M. H ; FLETCHER, G L Fish skin. An effective barrier to ice crystal propagation **J. Exp. Biol.**, Cambridge, v 164, p 135 - 151, 1992.
- VINNIKOV, Y. A. Evolution of Olfaction and Taste In: DENTON, D A., COGHLAN, J P. ( eds ) **Olfaction and Taste**. Proceedings of the Fifth International Symposium. Academic Press, New York, 1975, p 175 - 185
- WELLS, R. M G. Cutaneous oxygen uptake in the Antarctic Icequab, *Rhigophila dearborni* ( Pisces Zoarcidae ). **Polar Biol.**, Heidelberg, v 5, p 175 - 179, 1986
- WHITEAR, M The innervation of the skin of teleost fishes. **Q. J. Microsc. Sci.**, England, v 93, p. 289 - 305, 1952
- WHITEAR, M Presumed Sensory Cells in fish epidermis **Nature ( Lond. )**, v. 5011, p. 703 - 705, 1965.
- WHITEAR, M The skin surface of bony fishes. **J. Zool. ( Lond. )**, Eynsham, v 160, p 437 - 454, 1970.
- WHITEAR, M. Cell specialization and sensory function in fish epidermis. **J. Zool. ( Lond.)**, Eynsham, v. 163, p. 237 - 264, 1971a.
- WHITEAR, M The free nerve endings in fish epidermis **J. Zool. ( Lond. )**, Eynsham, v. 163, p 231 - 236, 1971b.
- WHITEAR, M. Apical secretion from taste bud and other epithelial cells in amphibians **Cell Tissue Res.**, Heidelberg, v. 172, p. 389 - 404, 1976

WHITEAR, M Causative aspects of microridges on the surface of fish epithelia **j. Submicrosc. Cyto. Pathol.**, Italy, v. 22, p 211 - 220, 1990.

WHITEAR, M ; MITTAL, A K Structure of the skin of *agonus cataphactus*, ( Teleostei) **J. Zool. ( Lond. )**, Eynsham, v 210, p. 551 - 574, 1986.

WILLIAMS, R Trophic Relationships Between Pelagic Fish and Euphausiids Waters In: SIEGFRIED, W. R.; CONDY, P R ; LAWS, R M. ( eds ). **Antarctic nutrient cycles and food webs**. Berlin Heidelberg. Springer - Verlag, 1985. p. 452 - 459.

WITHERS, C P **Comparative Animal Physiology**. USA: Saunders College, 1992. 950 p.

ZACCONE, G , TAGLIAFIERRO, G , FASULO, S , CONTINE, A , AINIS, L. RICCA, M B Serotonin - like immunoreactivity in the epidermal club cells of teleost fishes **Histochemistry**, West Germany, v 93, p 355 - 357, 1990

ZEISKE, E , THEISEN, B , BREUCKER, H. The olfactory organ of the hardhead sea catfish, *Arius felis* ( L. ): Gross Morphology and fine structure. **Acta Zool. ( Stockl. )**, v 75, n.2, p 115 - 123, 1994.

ZUWALA, K.; JAKUBOWSKI, M. Light and electron ( SEM, TEM ) microscopy of taste buds in the tench *Tinca tinca* ( Pisces Cyprinidae ). **Acta Zool. ( Stockl. )**, v. 74, n. 4, p. 277 - 282, 1993

## APÊNDICE

### 1. SOLUÇÕES FIXADORAS E CORANTES

#### 1.1 SOLUÇÃO SALINA DE CORTLAND

Fonte: WOLF, 1963

##### Reagentes para 1.000 ml de solução

H <sub>2</sub> O destilada...	1 000 ml ( q.s.p )
NaCl . . . . .	7,25 g
KCl. ....	0,38 g
CaCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O ....	0,23g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O . . . . .	0,23g
NaHCO <sub>3</sub> .. . . . .	1,00g
Glucose . . . . .	1,00 g

**Preparo** Dissolver um a um todos os reagentes, na ordem citada, em 950 ml de H<sub>2</sub>O destilada, utilizando-se agitador magnético com leve aquecimento. Ajustar o pH para 7,6 utilizando HCl ou NaOH. Completar o volume para 1.000 ml de H<sub>2</sub>O destilada. Conservar em frasco escuro sob refrigeração. O último reagente depois de

adicionado, determina o prazo de validade de 30 dias para a solução, mesmo sob refrigeração.

## 1.2 FLUIDO DO BOUIN

**Fonte:** BUCHERL, 1962; CULLING et al., 1985

### Reagentes para 50 ml de solução

Solução aquosa de ácido pícrico saturada	.....	37,50 ml
Formaldeído.	.....	12,50 ml
Ácido acético glacial	.....	2,50 ml

**Preparo.** Misturar os componentes da fórmula.

## 1.3 FLUIDO DE GENDRE

**Fonte:** CULLING et al., 1985

### Reagentes para 50 ml de solução

Ácido pícrico, solução saturada em álcool 95%	40,00ml
Formaldeído	7,50ml
Ácido acético glacial.	2,50ml

**Preparo.** Misturar os componentes da fórmula.

#### 1.4 ALBUMINA DE MAYER

**Fonte:** CULLING et al , 1985

##### **Reagentes para 50 ml de solução**

Glicerina ..	uma parte
Clara de ovo.....	uma parte

Cristais de Timol

**Preparo** Agitar a glicerina com a clara de ovo por 30 minutos Filtrar e acrescentar alguns cristais de timol para evitar fungos. Conservar sob refrigeração

### 1.5 GLUTARALDEÍDO a 3,0% em TAMPÃO CACODILATO 0,2M

**Fonte:** modificado a partir de GLAUERT, 1986 e CULLING et al , 1985

#### Reagentes para 50 ml de solução

Glutaraldeído em solução aquosa a 25%...	6,00 ml
Ácido cacodílico ( PM=160).	1,60 g
H <sub>2</sub> O destilada.....	q s p 50,00 ml

**Preparo:** Misturar os componentes da fórmula, sob capela, com máscara e luvas. Conservar a solução sob refrigeração e acertar o pH para 7,2 com HCl ou NaOH

### 1.6 TRICRÔMICO DE MALLORY

**Fonte:** modificado a partir de CLARK, 1981

#### Reagentes para 50 ml de solução

##### Solução A:

Fucsina ácida .	0,25 g
-----------------	--------

H <sub>2</sub> O destilada.....	50,00ml
Ácido acético glacial . . . . .	1,00 ml

**Solução B:**

Azul de metileno ou de anilina.....	0,25 g
Orange G. . . . .	1,00 g
Ácido fosfotungstênico. . . . .	0,50 g
H <sub>2</sub> O destilada .. . . .	50,00 ml

**Preparo** Misturar os componentes da solução A e B separadamente

**1.7 GIEMSA 4%**

**Fonte:** BDH Chemical Ltd , 1969

**Reagentes para 10 ml de solução****Solução Estoque.**

Giemsa. . . . .	0,8g
Glicerol . . . . .	100ml
Metanol . . . . .	100 ml

**Preparo** Misturar os reagentes.

**Solução útil:**

Solução estoque. . . . .	.3 ml
Acetona.....	2 ml
Solução Tampão de Sørensen . . . . .	2 ml
Água destilada. . . . .	.3 ml

**Preparo** Misturar todos os reagentes.

## 1.8 EOSINA

**Fonte:** modificado a partir de CULLING at al , 1985

**Reagentes para 50 ml de solução estoque a 1%**

Eosina . . . . .	0,50 g
Álcool 95% P A. . . . .	40,0 ml
H <sub>2</sub> O destilada. . . . .	10,00ml

**Preparo:** Para a solução estoque, misturar os reagentes até obter uma solução homogênea. A solução para uso terá uma parte de eosina a 1% e três partes de álcool a 80% P.A. Acrescentar 0,50 ml de ácido acético glacial para cada 95,00 ml de solução de eosina para uso.

### 1.9 HEMATOXILINA FÉRRICA DE HEIDENHAIN

**Fonte:** CULLING et al.,1985

#### Reagentes para 50 ml de solução

##### Solução A

Hematoxilina. ....	0,25 g
Álcool absoluto ... ..	5,00 ml
H <sub>2</sub> O destilada .....	45,00ml

##### Solução B

Sulfato férrico amoniacal. ....	2,50 g
H <sub>2</sub> O destilada .....	50,00ml

**Preparo:** Para a solução A, dissolver a hematoxilina no álcool antes de adicionar a H<sub>2</sub>O destilada. A solução deverá amadurecer durante 3 a 4 semanas antes do uso. Para a solução B dissolver o sulfato férrico amoniacal em H<sub>2</sub>O destilada.

### 1.10 HEMATOXILINA DE HARRIS

**Fonte:** modificado a partir de CULLING et al., 1985

#### Reagentes para 50 ml de solução

Hematoxilina ... .. .	0,2g
Alúmen de potássio (Sulfato de alúmen de potássio) ou deamônio... .. .	.5,00g
Óxido de mercúrio amarelo . . . . .	0,12g
Álcool 95%P A .. . . . . .	.2,50ml
Ácido acético glacial . . . . .	1,20ml
H <sub>2</sub> O destilada... .. .	50,00ml

**Preparo.** Dissolver a hematoxilina no álcool a 95% e reservar. Dissolver o alúmen de potássio em H<sub>2</sub>O destilada fervente. Misturar as duas soluções e adicionar o óxido de mercúrio amarelo. Esfriar em água corrente, filtrar e adicionar o ácido acético glacial.

### 1.11 ALCIAN BLUE pH 2,5 E pH 0,5

Fonte. Clark, 1981

#### Reagentes para 100 ml de solução

Alcian Blue .....	1,0 g
H <sub>2</sub> O destilada .....	97ml
Ácido acético glacial .....	3,ml

**Preparo:** Dissolver o Alcian Blue em 90 ml de água destilada, acrescentar o ácido acético glacial. Verificar o pH e se necessário ajustar com HCL ou NaOH, para o valor 2,5. Completar o volume para 100 ml com H<sub>2</sub>O destilada.

## 2. ROTEIRO DE PROCESSAMENTOS HISTOLÓGICOS

### 2.1 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO PARA MICROSCÓPIA ÓPTICA

Fonte: Culling et al., 1985 modificado

2.1.1 Fixação em Fluido de Bouin ..... 08 horas

**2.1.2 Lavagens em álcool 70%** . . . . . 45 dias

**2.1.3 Desidratação em:**

álcool 80% . . . . . 1 hora

álcool 85%. . . . . 1 hora

álcool 90 % . . . . . 1 hora

álcool 95%... . . . . 1 hora

álcool 100% . . . . . 1 hora

álcool 100% ... . . . . 1 hora

álcool 100% . . . . . 1 hora

álcool 100 com Xilol ( 1 1)... . . . . 1 hora

**2.1.4 Diafanização em.**

Xilol ( 1º banho ).... . . . . 1 hora

Xilol ( 2º banho ) . . . . . 30 min

**2.1.5 Impregnação na estufa a 56° C com:**

Xilol com paraplast plus ® ( 1:1 )... . . . . 1 hora

Paraplast plus ( 1º banho ) . . . . . 1 hora

Paraplast plus ( 2º banho ) . . . . . 1 hora

**2.1.6 Emblocagem**

**2.1.7 Microtomia**

