

JOSÉ CLARO DA FONSECA NETO

ARCO BRANQUIAL DE JUVENIS DE *Mugil platanus* : CARACTERIZAÇÃO DA ULTRAESTRUTURA SUPERFICIAL E ESTUDO SOBRE A VARIAÇÃO DO PORO DE CÉLULAS DE CLORO, FRENTE A DIFERENTES SALINIDADES.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zoologia do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas - Zoologia.

Orientador:
Prof. Dr. Henry Louis Spach

Curitiba
1995

**ARCO BRANQUIAL DE *Mugil platanus*: CARACTERIZAÇÃO DA
ULTRAESTRUTURA SUPERFICIAL E ESTUDO SOBRE A VARIAÇÃO DO
PORO DE CÉLULAS DE CLORO, FRENTE A DIFERENTES SALINIDADES.**

Por

JOSÉ CLARO DA FONSECA NETO

Tese aprovada, como requisito parcial para a obtenção do Grau de
Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia -
Universidade Federal do Paraná.

Prof. Dr. Henry Louis Spach

Prof. Dr. Waldemiro Gremski

Prof. Dr. Paulo de Tarso C. Chaves

**ANTES TARDE
DO QUE NUNCA !**
Dito popular

À LUCIANA

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Estudos do Mar pelo apoio logístico e infra-estrutura para a realização do trabalho;

Ao Prof. Dr. Henry Louis Spach, pela orientação, pelo estímulo desde o início dos trabalhos e principalmente, por ter fornecido um suporte pessoal para a sua conclusão;

À CAPES pelo fornecimento da bolsa de pesquisa.

À Prof. Dr^a. Theresinha Monteiro Absher pelos primeiros conselhos profissionais que recebi, pela ajuda no custeio de material para a microscopia eletrônica e pela entusiasmada força que dispôs em meu auxílio para a conclusão do trabalho;

Ao Prof. MSc. Marco Fábio Corrêa pelo auxílio na identificação dos exemplares, pelos conselhos e sugestões durante a execução do trabalho;

Ao Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana pelo incentivo e pela ajuda na correção do abstract.

À Prof^a. Dr. Daura Regina Eiras-Stofella do Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR agradeço pelo auxílio durante as longas sessões de microscopia eletrônica de varredura, e pelo empréstimo de bibliografias. Às técnicas Regina pela revelação e ampliação das fotos, e Matilde pela assistência durante as sessões de ponto crítico e metalização.

À Prof^a. Dr. Marina Silveira do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Física da Universidade de São Paulo, pela ajuda nas sessões de microscopia eletrônica de varredura.

À Prof^a. Dr. Edith Fanta do Laboratório de Impacto Ambiental, pelo empréstimo do material de laboratório, e à Ana Mayer pela ajuda no preparo das soluções fixadoras;

Ao Prof. Dr. Carlos Soares pela ajuda na descrição do local de coleta e pelo fornecimento da fotografia aérea;

Ao Prof. Dr. Arno Blankensteyn pelo fornecimento da foto de satélite do Complexo Estuarino Baía de Paranaguá;

A todos que me ajudaram durante o período dos experimentos: Jackson, Vilson, Geraldo, Seu Carlito, Abrão, Passoca, Tarcísio, Rodrigo;

Aos funcionários do Centro de Estudos do Mar, Vilma, Elair, João Batista, Raul e D. Maria, pela ajuda em todos os momentos.

À Marion pela ajuda na identificação e no processamento das amostras;

Ao Marcelo, Zão e Ciro pelas valiosas discussões.

A toda diretoria da Associação dos Moradores da Orla do Rio Perequê pelo incentivo durante o trabalho;

Ao Mr. Magoo pela companhia ;

A David Brubaker pela sonoplastia do trabalho.

A meus pais Altino e Zilda, e meus irmãos Marco e Rodrigo, por terem sempre acreditado neste esforço.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DA TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS.....	11
RESULTADOS.....	17
DISCUSSÃO.....	41
CONCLUSÕES.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXOS.....	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Mapa do complexo estuarino Baía de Paranaguá com a localização da praia de Pontal do Sul.....	12
Figura 2.	Vista lateral de um exemplar de <i>Mugil platanus</i>	18
Figura 3.	Arcos branquiais esquerdos de um juvenil de <i>Mugil platanus</i> de 34mm.....	18
Figura 4.	Desenho esquemático do segundo arco branquial esquerdo (ABII) e de um corte transversal (A) do mesmo arco.....	19
Figura 5.	Eletronmicrografias de rastelos branquiais do ABII esquerdo.....	21
Figura 6.	Eletronmicrografias dos filamentos do ABII esquerdo.....	24
Figura 7.	Eletronmicrografias da superfície epitelial.....	26
Figura 8.	Eletronmicrografias dos rastelos do ABII com as projeções secundárias.....	27
Figura 9.	Gráficos das taxas de sobrevivência média nas salinidades 30‰, 15‰ e 0‰, durante o experimento 1.....	29
Figura 10.	Gráficos das taxas de sobrevivência médio nas salinidades 30‰, 15‰, 10, 5 e 0‰, durante o experimento 2.....	31
Figura 11.	Gráficos das taxas de sobrevivência média nas salinidades 5‰, 4‰ e 3‰, durante o experimento 3.....	32
Figura 12.	Gráficos das taxas de sobrevivência média nas salinidades 2‰, 1‰ e 0‰, durante o experimento 3.....	33
Figura 13.	Eletronmicrografias de filamentos branquiais nas salinidades 34‰, 15‰ e 5‰.....	36
Figura 14.	Eletronmicrografias de filamentos branquiais na salinidade 3‰.....	37
Figura 15.	Eletronmicrografias de filamentos branquiais na salinidade 1‰	38
Figura 16.	Eletronmicrografias de filamentos branquiais na salinidade 0‰.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados da análise de variância bi-fatorial (ANOVA), avaliando a influência do posicionamento dos ABII (direito e esquerdo) e das diferentes regiões (medial e lateral) sobre o número de filamentos e rastelos de juvenis de <i>Mugil platanus</i>	22
Tabela 2. Média e desvio padrão do número de filamentos e rastelos branquiais de juvenis de <i>Mugil platanus</i> (n=30). Resultados da análise de variância uni-fatorial (ANOVA) e teste de comparação múltipla de Scheffe.....	23
Tabela 3. Média, desvio padrão, valores máximos e mínimos do número de lamelas por milímetro em filamentos da região mediana do ABII esquerdo de juvenis de <i>Mugil platanus</i>	23
Tabela 4. Média, desvio padrão, valores mínimo e máximo dos eixos maior e menor de células pavimentosas do epitélio branquial de ABII esquerdo de juvenis de <i>Mugil platanus</i>	25
Tabela 5. Resultado dos testes de sobrevivência com juvenis de <i>Mugil platanus</i>	28
Tabela 6. Resultado da análise de variância bi-fatorial aplicada aos eixos maior e menor dos poros de células de cloro de juvenis de <i>Mugil platanus</i> , comparando-se salinidades e tempos. Resultados da avaliação das diferenças significativas pelo teste de comparação múltipla da menor diferença significativa (MDS).....	40
Tabela 7. Valores médios dos eixos maior e menor dos poros das células de cloro de juvenis de <i>Mugil platanus</i> ao longo do tempo.....	55
Tabela 8. Resultados da análise de variância uni-fatorial aplicada aos eixos maior e menor dos poros das células de cloro de juvenis de <i>Mugil platanus</i> considerando como fator fixo a salinidade.....	57

RESUMO

Juvenis da tainha *Mugil platanus* foram transferidos por choque direto da água salgada (34‰) para diluições decrescentes de salinidade (15, 5, 4, 3, 2, 1 e 0‰) com o objetivo de ser observado alterações na morfologia do epitélio branquial, principalmente nos poros das células de cloro na região aferente do filamento branquial. Os juvenis não se adaptaram com sucesso a salinidades abaixo de 5‰.

Observações através do microscópio eletrônico de varredura, revelam que a ultraestrutura superficial do arco branquial é similar à de outros teleósteos. De cada arco projetam-se anteriormente, duas fileiras de rastelos (41-49 rastelos por fila) e posteriormente, duas fileiras de filamentos (42-46 filamentos por fila). Lamelas respiratórias em forma de folhas estão presentes em cada lado do filamento, desde a base até o ápice (37 mm^{-1}). A distribuição, tamanho e estrutura das superfícies celulares também foram descritas. Todo arco, exceto as lamelas respiratórias, são cobertas por células pavimentosas com micropregas arranjadas concentricamente, medindo cerca de $6,94 \times 4,61 \mu\text{m}$. Na superfície anterior dos rastelos de todo o primeiro arco e na região ventral do segundo arco estão presentes projeções secundárias simples. A partir da região dorsal as projeções secundárias modificam-se para projeções complexas com inúmeros espinhos. Botões gustativos foram observados na região ventral do segundo arco branquial e estavam presentes entre projeções secundárias simples. Poros das células de cloro ocorrem sobre a superfície aferente do filamento, abrindo-se entre as bordas das células pavimentosas. Os poros, em juvenis adaptados a água salgada (34‰), apresentam-se estreitos ($\varnothing 0,5\text{-}1 \mu\text{m}$) e profundos. Após a transferência para a água doce (0‰), foram observadas alterações no diâmetro do poro a partir de 15 min de exposição. Tornaram-se largos, com projeções da membrana apical evidentes. A resposta do poro da célula de cloro não é um fenômeno de tudo ou nada, pois observa-se poros com diferentes diâmetros após 6 hrs de exposição à água doce.

ABSTRACT

Juveniles of mullet *Mugil platanus* were transferred directly from saltwater (34) to decreasing salinities (15, 5, 4, 3, 2, 1 and 0‰) in order to observe changes in gill epithelium morphology, mainly at the apical surface of chloride cells from the afferent branchial filamental surface. Juveniles did not adapt successfully to salinities below 5.

Scanning electron microscopy revealed that the gill arch surface ultrastructure of juveniles is similar to that reported for other euryhaline teleosts. Two filament rows (about 41-49 filament per row) extend posteriorly, and two rows of rakers (about 42-46 rakers per row) extended anteriorly from each arch. Leaf-like respiratory lamellae protude along both sides of each filament (37/mm), from the base to the apex. The distribution, sizes and structure of various surface cells were also described. Except for the respiratory lamellae, the surface of whole gill arch is covered by a mosaic of pavement cells, which measure about 6,94 X 4,61µm and exhibit concentrically arranged surface ridges. The anterior pharyngeal surfaces of the raker of the first arch and the ventral part of the second, smooth secondary projections are present which are replaced by spiny secondary projections on the dorsal part of the second arch, and entire third and fourth arches. Taste buds are especially prominent between smooth projections. Apical cripts of chloride cells occur mostly at the aferent surface of the gill filament.

In juveniles adapted to seawater (34‰), chloride cells crypts are narrow and deep between the borders of adjacent pavement cells with Ø = 0,5-1µm. Changes in ultrastructure were observed within 15 min after transfer to freshwater (0‰). At first the surface of apical cript become larger, usually with bigger openings (Ø = 5µm) and exhibited internal cellular projections. The response of apical cripts from the chloride cells in *M. Platanus* adapted to freshwater, is not an all-or-none phenomenon, since pores with diferential sizes are present after 6 hrs in freshwater.

INTRODUÇÃO

Os peixes apresentam como uma das suas principais características a capacidade de manter a concentração osmótica do seu fluido corporal relativamente constante, sendo na maioria dos casos, exceção aos peixes bruxas¹, diferente da concentração do meio externo. A concentração osmótica ideal para cada espécie é atingida mediante movimentos de água e íons, através de membranas epiteliais presentes nos rins, intestino e brânquias, estando o processo de difusão diretamente relacionado à concentração osmótica do meio externo (Parry, 1965; Maetz, 1971; Evans, 1980; Karnaky, 1986; Fosket *et al.*, 1983; Schmidt-Nielsen, 1990; Evans, 1993).

O movimento da água através dos epitélios corporais pode ser controlado por alteração na permeabilidade das membranas (Fosket *et al.*, 1983). Entretanto, o seu fluxo é consequência direta da diferença da concentração iônica entre os meios (Smith, 1930; Parry, 1965; Maetz, 1971; Lagler *et al.*, 1977; Karnaky, 1986; Schmidt-Nielsen, 1990).

O fluido sanguíneo dos peixes teleósteos é constituído principalmente pelos íons Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^- , SO_4^- , CO_3^- , cujas concentrações variam de espécie para espécie (Evans, 1993). No entanto, as alterações na concentração osmótica observadas no sangue, tanto em peixes adaptados a água salgada como nos adaptados a água doce, são resultantes quase que exclusivamente de mudanças nas concentrações dos íons Na^+ e Cl^- . Na maioria das espécies estes íons juntos, constituem cerca de 90% da composição iônica do fluido corporal (Parry, 1965; Fosket *et al.*, 1983).

Assim sendo, a maioria dos peixes necessita de um mecanismo eficiente para manter a concentração hidromineral do seu fluido sanguíneo constante, capaz de regular não só a passagem de água pelos epitélios, mas principalmente o fluxo iônico através deles (Fosket *et al.*, 1983; Karnaky, 1986; Schmidt-Nielsen, 1990; Evans, 1993).

¹ Os peixes bruxas mantêm a concentração osmótica do seu fluido corporal praticamente idêntica a da água do mar (Parry, 1965; Maets, 1971; Evans 1993).

)

Na água doce o fluido corporal de peixes teleósteos é hiperosmótico em relação ao meio, o que ocasiona a entrada de água no corpo através dos epitélios. Para balancear o excesso de água no corpo, o peixe reduz a ingestão de água, ao mesmo tempo aumentando a taxa de filtração glomerular, produzindo uma urina abundante e diluída. Por outro lado, a concentração iônica no fluido sanguíneo é alterada pelo efluxo de íons, pela redução da absorção de íons no intestino quando ocorre a diminuição da ingestão de água, e pela perda através da urina. O peixe então compensa a deficiência iônica, parcialmente através da alimentação mas principalmente, pela absorção ativa de íons através do epitélio branquial (Parry, 1965; Maetz, 1971; Ensor & Boll, 1972; Pic *et al.*, 1974; Lagler *et al.*, 1977; Fosket *et al.*, 1983; Prunett *et al.*, 1985; Evans, 1984, 1993).

Em peixes teleósteos no ambiente salino, as concentrações de Na⁺ e Cl⁻ do seu fluido corporal são menores que a do meio, fazendo com que haja através dos seus epitélios corporais, uma perda substancial de água do seu corpo e influxo de íons. Para compensar a desidratação, o peixe ingere grandes quantidades de água para ser absorvida no intestino e reduz o volume de urina através da diminuição da filtração glomerular (Evans, 1980; Kirschner, 1980; Fosket *et al.*, 1983; Evans, 1993). Por outro lado, a manutenção da concentração iônica corporal, alterada pela absorção de íons pelo intestino quando da ingestão de água, na superfície do corpo e pelas brânquias, é obtida pela produção de uma urina isosmótica e pela excreção ativa de íons principalmente no epitélio branquial (Parry, 1965; Lagler *et al.*, 1977; Maetz, 1971; Fosket *et al.*, 1983; Evans, 1993).

Os teleósteos estenohalinos não conseguem tolerar grandes variações da concentração salina do meio. Quando transferidos do ambiente marinho para água doce morrem por desmineralização. Se ocorrer o inverso e forem transferidos da água doce para a água salgada, morrerão por desidratação. Estes fenômenos são devido a incapacidade do epitélio branquial destes peixes reverter o fluxo iônico (Maetz, 1971). Por outro lado, teleósteos eurihalinos são capazes de tolerar grandes variações de salinidade permitindo a muitas espécies a realizarem migrações entre o ambiente marinho e o de água doce e vice-versa, até diversas vezes por dia. Tal característica exige dos órgãos responsáveis pelo equilíbrio hidromineral a capacidade de responder rapidamente às alterações na

concentração salina do meio, revertendo a direção da rede de transporte de água e íons (Lasserre & Gallis, 1975; Karnaky, 1980, 1986; Fosket *et al.*, 1983; Hwang, 1988; Evans 1993).

Desta maneira, peixes anádromos e catádromos devem ser versáteis no ajuste osmótico quando ocorre a mudança de salinidade no ambiente, possuindo rins que se ajustem às diferenças no volume de urina, um intestino capaz de alterar a permeabilidade epitelial e, principalmente, possuir brânquias capazes de efetuar a transferência de íons contra um gradiente de difusão osmótica (Parry, 1965; Maetz, 1971; Pisam *et al.*, 1980; Hossler, 1980; Fosket *et al.*, 1983; Lagler *et al.*, 1977; Karnaky, 1986; Ojha *et al.*, 1987).

Pode-se observar então que, com relação aos órgãos que participam na osmorregulação dos teleósteos eurihalinos, intestino e rins atuam principalmente no mecanismo de regulação da água (o intestino na água do mar absorvendo água e o rim na água doce produzindo uma urina abundante e diluída). As brânquias, além de participarem na percepção química e seleção de alimentos (Eiras-Stofello, 1994), desempenham o principal papel na regulação dos íons Na^+ e Cl^- em ambos os ambientes, extraindo íons na água salgada e absorvendo-os na água doce (Evans, 1993).

As primeiras evidências da participação das brânquias no processo de osmorregulação em peixes teleósteos foram fornecidas por Smith (1930) que analisando a composição da urina e dos fluídos gastrointestinais de vários teleósteos, verificou que a maior parte da água, e dos íons Na^+ e Cl^- que são absorvidos no intestino, não são liberados pela urina, sendo esta basicamente composta por Ca^{++} , Mg^{++} e SO_4^{++} . Em razão destes resultados, propôs uma via extrarenal para a excreção de compostos nitrogenados, de água e de íons monovalentes (Na^+ , K^+ e Cl^-) indicando as brânquias como sendo as prováveis responsáveis pelo trabalho osmorregulador. Mais tarde, Keys (1931a,b) e Bateman & Keys (1931) corroboraram essa afirmação, registrando a eliminação ativa de Cl^- pelo epitélio branquial de enguias. Por outro lado, Krog (1939) foi o primeiro a sugerir a influxo independente de Na^+ e Cl^- no epitélio branquial em teleósteos adaptados a água doce.

Keys & Wilmer (1932) analisando brânquias de enguias adaptadas a água salgada, identificaram uma grande célula de formato colunar, ovóide e eosinófila com características

semelhantes a células secretoras de cloro no epitélio intestinal de anfíbios. Em função desta similaridade histológica, sugeriram essa célula como a provável responsável pela secreção de cloro no epitélio branquial, denominando-a então de “células secretoras de cloro”. Estes autores constataram a presença destas células em várias outras espécies de peixes marinhos e em menor número em peixes de água doce. Este trabalho foi corroborado por Liu (1942) que observou células semelhantes em brânquias de *Macropodus opercularis*. Embora as suposições de Keys & Wilmer (1932) e Liu (1942) tenham sido muito contestadas (Benvelander, 1935; Parry *et al.*, 1959; Doyle & Goreki, 1961; Parry & Holliday, 1960; Straus & Doyle, 1961; Holliday & Parry, 1962; Straus, 1963; Flaming & Kamemoto, 1963), inúmeros trabalhos foram realizados para esclarecer o papel das brânquias no mecanismo de osmorregulação dos peixes (Maetz, 1971, 1974; Motais & Garcia Romeu, 1972; Evans, 1975; Karnaky, 1980, 1986; Girard & Payan, 1980; Evans *et al.*, 1982; Fosket *et al.*, 1983; Laurent & Perry, 1990).

De maneira geral, as brânquias dos teleósteos são morfologicamente muito semelhantes, com algumas variações em função do modo de vida, hábito alimentar e habitat do peixe (Gray, 1954; Huges, 1966; Rajbanshi, 1977; Eiras-Stofello, 1994), bem como por fatores filogenéticos (Schmidt-Nielsen, 1990). Na região faringeal estendem-se de cada lado, quatro pares de arcos branquiais. De cada arco, projetam-se anteriormente duas fileiras de rastelos, e posteriormente duas fileiras de filamentos branquiais ou lamelas primárias. Inseridas ao longo de cada filamento branquial, estão as lamelas respiratórias ou lamelas secundárias, dispostas alternadamente nos lados dorsal e ventral do filamento (Keys & Wilmer, 1932; Grey, 1954; Newstead, 1967; Lagler *et al.*, 1977; Hughes & Wright, 1970; Hossler *et al.*, 1979a, 1985, 1986; Hossler & Marchant, 1983; Karlsson, 1983; Barleta & Corrêa, 1992; Eiras-Stofello, 1994).

Com relação a ultraestrutura do epitélio branquial, observa-se basicamente dois tipos de epitélio, que se distinguem na anatomia, desenvolvimento embrionário, vascularização e ultraestrutura dos componentes celulares. Cobrindo praticamente todo o arco branquial, inclusive os rastelos, filamentos e região interlamelares, encontra-se o epitélio primário. Ele é pluriestratificado, composto por diferentes tipos celulares, incluindo as células pavimentosas,

células secretoras de muco, botões gustativos, células de cloro e células de suporte (Philpott & Copeland, 1963; Sardett, 1977; Dunel-Erb & Laurent, 1980; Laurent, 1984; Hossler, 1986; Maina, 1990). As lamelas respiratórias são cobertas pelo epitélio secundário ou respiratório, sendo biestratificado. Na camada externa estão células pavimentosas e na camada interna as células indiferenciadas (Newsted, 1967; Hughes & Wright, 1970; Morgam & Tovel, 1973; Karnaky, 1980, 1986; Laurent & Dunel, 1980).

As células pavimentosas recobrem o epitélio externamente, são poligonais e dispõem-se em mosaico. Sua membrana parietal apresenta-se com dobras arrançadas concentricamente, denominadas de micropregas. As micropregas predominam por todo o arco branquial, inclusive rastelos, filamentos e na região interlamelar (Philpott & Copeland, 1963; Straus, 1963; Karnaky & Kinter, 1977; Sardet *et al.*, 1977; Evan, 1980; Hossler *et al.*, 1979a,b, 1985, 1986; Hossler, 1980; Hossler & Marchant, 1983; King & Hossler, 1988; Eiras-Stofello 1994) e nas lamelas respiratórias (Olson & Fromm, 1973; Lewis & Potter, 1976; Rajbanshi, 1977; Hughes & Munshi, 1978; Hughes, 1979; Kendal & Dale, 1979; Dunel-Erb & Laurent, 1980; Franklin, 1990). Em algumas espécies, entretanto, observa-se a ausência das micropregas nas células pavimentosas das lamelas respiratórias (Hossler *et al.*, 1979a, 1986). O epitélio primário é interrompido ocasionalmente pela porção apical das células secretoras de muco, botões gustativos, espinhos e células de cloro. As células secretoras de muco distribuem-se por todo epitélio do rastelo e no filamento tem sua área de concentração associada à região da artéria branquial eferente (Hossler & Marchant, 1983; Hossler *et al.*, 1985; Franklin, 1990; Eiras-Stofello, 1994). Os botões gustativos localizam-se principalmente nos rastelos branquiais (Hossler & Marchant, 1983).

As células de cloro distinguem-se das demais por apresentarem um formato colunar, possuírem o núcleo situado na base da célula e uma grande quantidade de mitocôndrias associadas a um sistema tubular bem desenvolvido (Doyle, 1962; Doyle & Gorek, 1961; Straus & Doyle, 1961; Philpott, 1965; Philpott & Copeland, 1963), contínuo à membrana basolateral (Kessel & Beams, 1960, 1962; Doyle & Goreki, 1961; Vickers, 1961; Straus, 1963; Philpott & Copeland, 1963; Tradgold & Honst, 1964; Philpott, 1965; Oberg, 1967; Karnaky *et al.*, 1976a; Sardet *et al.*, 1979; Hootman & Philpott, 1978, 1979; Pisam, 1981).

A região adjacente à membrana apical é caracterizada pela ausência de mitocôndrias e elementos tubulares (Shirai & Utida, 1970; Karnaky, 1986) entretanto está preenchida por vesículas e microfilamentos (Sardet *et al.*, 1979; Pisam, 1981; Laurent, 1984).

A presença das células de cloro não é restrita ao epitélio branquial, podendo ser encontradas na epitélio opercular (Burns & Copeland, 1950; Karnaky, 1972; Marshal, 1977; Karnaky & Kinter, 1977; Marshal & Bern, 1980; Fosket *et al.*, 1981; Denegan & Zadunaisky, 1982; Fosket & Machen, 1985; King *et al.*, 1989) epitélio bucal (Vickers, 1977; Thredgold & Lasker, 1967; Leonard & Sumers, 1976; Marshal, 1977), epitélio corporal (Denegan *et al.*, 1977; Marshal, 1977; Nonnotte *et al.*, 1979; Witthear, 1971; Roberts *et al.*, 1973; Leonard & Sumers, 1975; Nonnotte *et al.*, 1979; Marshal & Nishioka, 1980; Hwang & Hirano, 1985; Pfeiler & Lindley, 1989), epitélio de pseudobrânquias (Parry *et al.*, 1959; Laurent & Dunel, 1980; Matthey *et al.*, 1980).

Nas brânquias as células de cloro são encontradas principalmente, na região do filamento branquial que está associada à artéria branquial aferente, nas bases das lamelas respiratórias e na região interlamelar (Keys & Wilmer, 1932; Copeland, 1948, 1950; Vickers, 1961; Doyle & Goreki, 1961; Philpott & Copeland, 1963; Shirai & Utida, 1970; Sardet, 1977; Hottman & Philpott, 1987; Hossler *et al.*, 1979a,b, 1985; Hossler, 1980; Laurent & Dunel, 1980; Dunel-Erb & Laurent, 1980; Hossler & Marchant, 1983; Franklin, 1990). As células de cloro estão no epitélio primário com sua membrana basal em contato com a artéria aferente, e a sua membrana apical expondo-se ao meio externo por entre as bordas das células pavimentosas (Keys & Wilmer, 1932; Liu, 1942; Copeland, 1948, 1950; Doyle & Goreki, 1961; Vickers, 1961; Shirai & Utida, 1970; Dunel-Erb & Laurent, 1980; Sardet *et al.*, 1977; Hootman & Philpott, 1978, 1979; King *et al.*, 1989; Maina, 1990; Fanta *et al.*, 1995) sendo raramente encontradas na região associada a artéria branquial eferente (King *et al.*, 1989, Brown, 1992). Em casos de estresse ambiental podem ser encontradas também no epitélio secundário (Laurent & Perry, 1990).

As células de cloro têm sido indicadas como responsáveis pela regulação osmótica em peixes adaptados a água do mar devido a sua posição colunar no epitélio, ao elevado número de mitocôndrias no seu citoplasma, ao aumento das suas membranas basolaterais e

íntima associação com as mitocôndrias e pela presença de Na-K-ATPase em íntima associação com a membrana do sistema tubular (Vickers, 1961; Olson & Fromm, 1973; Hootman & Philpott, 1979; Marshal & Nishioka, 1980; Epstein *et al.*, 1980; Philpott, 1980; Pisan, 1981; Karnaky *et al.*, 1984). Embora aceite-se que as células de cloro sejam o ponto de absorção iônica em teleósteos de água doce (Laurent & Perry, 1991; Goss *et al.*, 1992; Perry *et al.*, 1992), até o momento não se tem evidências conclusivas do papel das células de cloro nestes processos (Karnaky, 1986; Evans, 1993).

Outra forte evidência da participação das células de cloro nos processos de osmorregulação são as modificações ultraestruturais associadas a atividade da enzima Na-K-ATPase, quando ocorre a adaptação do peixe as mudanças ambientais. Durante a adaptação de um peixe eurihalino a água do mar, observa-se concomitantemente ao aumento da atividade enzimática (Epstein *et al.*, 1967, 1971, 1980; Kamyia & Utida, 1968; Zaugg & McLain, 1970; Milne *et al.*, 1971; Utida *et al.*, 1971; Motaïs & Garcia Romeu, 1972; Bornancin & de Renziz, 1972; Butler & Carmichel, 1972; Kamyia, 1972; Forresst *et al.*, 1973; Evans & Malley, 1975; Karnaky *et al.*, 1976a,b; Scheer & Langford, 1976; Thomson & Sargent, 1977; Hootman & Philpott, 1979; Hossler *et al.*, 1979 b; Hossler, 1980) o aumento no tamanho e no número das células de cloro (Liu, 1942; Getman, 1950; Vickers, 1961; Virabhadachari, 1961; Jozuka, 1966; Ahuja, 1970; Olivereau, 1970; Shiria & Utida, 1970; Utida *et al.*, 1971; Doyle & Epstein, 1972; Karnaky *et al.*, 1976 a,b; Thomson & Sargent, 1977; Hootman & Philpott, 1978; Tay & Garside, 1978, 1979; Pisam, 1981; Luvisotto, 1994; Fanta *et al.*, 1995), o aumento no número e tamanho das mitocôndrias (Shirai & Utida, 1970; Sargent *et al.*, 1975), um maior desenvolvimento do sistema tubular (Shirai & Utida, 1970; Doyle & Epstein, 1972; Karnaky *et al.*, 1976 a) e o surgimento das células de cloro acessórias formando as "leaky junction" (Sardet *et al.*, 1980; Karnaky, 1980; Ernest *et al.*, 1980; Hwang *et al.*, 1985; Hwang, 1988; Pisam *et al.*, 1990). Na adaptação à água doce, o processo se inverte e ocorre a diminuição da atividade da enzima, do número e tamanho das células de cloro e das mitocôndrias, do sistema tubular (Shirai & Utida, 1970; Fosket *et al.*, 1983; Evans, 1993) e na maioria dos casos os complexos intercelulares entre as células de cloro e células de cloro acessórias desaparecem, sendo esta última alteração contestada por Hwang (1988).

A maioria das adaptações descritas para as células de cloro durante a adaptação a um novo ambiente, é principalmente observada com a utilização de métodos histocitoquímicos, autoradiográficos e eletrogênicos, requerendo técnicas sofisticadas de manipulação de tecidos e aparelhos de medição de alta precisão. Por outro lado, uma evidência fácil de ser observada é a modificação da morfologia da membrana apical das células de cloro em resposta às alterações da salinidade. Em peixes adaptados à água doce, ela está localizada no epitélio primário em contato direto como meio externo, ocupando uma área superficial com aproximadamente 3-6µm, tendo a superfície externa ao nível das células pavimentosas geralmente apresentando projeções celulares (Hossler *et al.*, 1979 b; Hossler, 1980). Na passagem para a água salgada, esta membrana sofre uma invaginação, dando origem a uma cavidade, denominada de cripta apical. Desta maneira, a área de contato com as células pavimentosas se reduz dando originando um poro de cerca de 1-3µm de diâmetro e as projeções celulares não são mais evidentes (Hossler, 1980). Esta cripta é geralmente compartilhada por mais de duas células de cloro unidas através das "tight junction" ao nível das interdigitações das bordas apicais da membrana. Estas ligações são uni ou bi- lamelares (bi-stranded), diferem das ligações multilamelares (pluri-stranded) entre as células de cloro e as células pavimentosas, e entre as células pavimentosas entre si (Laurent & Dunel, 1980; Maina, 1990). A formação destes complexos intercelulares das células de cloro com as células de cloro acessórias é apontado pelos modelos atuais de osmorregulação de teleósteos como sendo o caminho paracelular de excreção de Na⁺ (Hwang, 1988; Laurent & Perry, 1990).

As variações morfológicas tridimensionais do poro das células de cloro podem ser facilmente observadas com técnicas relativamente simples de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A MEV permite observações qualitativas e quantitativas dos efeitos de variações de parâmetros ambientais e/ou orgânicos sobre a ultraestrutura superficial das brânquias de teleósteos, variações estas que refletem o estado fisiológico do peixe (Olson & Fromm, 1980; Hossler, 1980; Kawall, 1993; Machado, 1995).

Diversos estudos tem sido conduzidos para avaliar o efeito da transição de peixes eurihalinos entre ambientes distintos. Entretanto a maioria consistiu em adaptar peixes

dulcículas à água do mar (Threadgold & Houston, 1964; Josuka, 1966; Kamy & Utida, 1968; Doyle & Epstein, 1972; Nordlie & Leffer, 1975; Karnaky *et al.*, 1976 a; Tompson & Sargent, 1977; Hootman & Philpott, 1978; Pisam, 1981) e poucos tem atentado para o inverso (Copeland, 1950; Getman, 1950; Kessel & Beams, 1962; Shirai & Utida, 1970; Newstead, 1971; Doyle & Epstein, 1972; Avella *et al.*, 1987; Lucu *et al.*, 1989; Maina, 1990; Yoshikawa *et al.*, 1993; Fanta *et al.*, 1995).

A família Mugilidae, que incluem os peixes conhecidos como tainhas, paratis e curimãs, tem uma ampla distribuição geográfica, representada por espécies eurihalinas e euri térmicas. São encontradas em regiões costeiras e estuarinas (Lassere & Gallis, 1975; Menezes, 1983; Godinho *et al.*, 1984; Corrêa, 1987; Marterer, 1990). São diádromas, podendo se locomover de um ambiente marinho para o de água doce ou vice-versa, mas são preferencialmente catádromas, no que diz respeito a migração para reprodução (Benetti & Fagundes Netto, 1983). Seu período de reprodução varia segundo a latitude em função da temperatura e do fotoperíodo (Morales, 1983). Os jovens de tainha, após obterem a capacidade de nadar ativamente, deslocam-se para as regiões costeiras, penetrando nas águas rasas estuarinas e lagunares, ricas em alimento, onde passam parte do seu ciclo de vida (Lasserre & Gallis, 1975; Chervinski, 1978; Benetti & Fagundes Netto, 1983; Menezes, 1983; Morales, 1983; Menezes & Figueiredo, 1985; Fanta *et al.*, 1986). Frequentemente são encontradas em águas de pouca profundidade em praias arenosas, em piscinas formadas pelo fluxo e refluxo da maré, e perto de desembocadura de rios (Menezes & Figueiredo, 1985).

Além da sua importância na pesca e no cultivo, a família Mugilidae vem despertando o interesse de pesquisadores de diversas áreas, pois algumas das espécies desta família são facilmente obtidas, suportam bem as condições de confinamento, aceitam com facilidade a alimentação artificial e tem boa resistência à experimentos com variações de salinidade e temperatura (Mendez, 1983; Hossler & Marchant, 1983) características que possibilita o seu uso em estudos de osmorregulação (Nordlie & Leffer, 1975; Silvester *et al.*, 1975; Pic *et al.*, 1975; Maetz & Pic, 1975; de Silva & pereira, 1976; Gallis & Bourdichon, 1976; Chervinsky, 1978; Hossler *et al.*, 1979 b; Gallis *et al.*, 1987; Hossler, 1980; Hu & Liao, 1981; Lee &

Menum 1981; Tremel & Souza, 1981; Chellapa et al., 1981; Mendez, 1983; Fanta-Feofiloff, 1986; Walsh et al., 1989).

Este trabalho, utilizando-se de MEV tem por objetivos

- 1) caracterizar a ultraestrutura superficial do arco branquial;
- 2) evidenciar alterações do poro das células de cloro do epitélio branquial de mugilídeos jovens, submetidos a um gradiente decrescente de salindade;
- 3) determinar os padrões preferenciais da espécie para posterior cultivo em água doce.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de coleta

A praia de Pontal do Sul está localizada na margem sul da barra de acesso ao Complexo Estuarino Baía de Paranaguá - PR (Fig. 1). Devido a sua localização, possui dois tipos de praias, uma voltada para o canal da Galheta, sofrendo a ação constante de ondas de reflexão de baixa energia e correntes de maré, e a outra voltada para o mar aberto, sofrendo a ação constante das ondas e corrente de deriva litorânea. Ambas as praias possuem areias finas e muito finas e suave inclinação (Borzzone *et al.*, 1995). No médio litoral destas praias, principalmente na praia voltada para o canal, é comum a formação de valos ou piscinas (*ridge and runnels*). Estes valos são orientados na direção das correntes de maré, e na baixa mar ficam expostos e retêm a água do mar.

O progressivo aumento da praia de Pontal do Sul registrado nos últimos anos (Soares *et al.*, 1994), tem propiciado a formação de uma planície de cordões litorâneos (Suguio & Tessler, 1984). Esta planície está compreendida entre a última duna com a face voltada para o mar até a região de ocupação urbana. O terreno possui uma topografia irregular e é caracterizado por uma cobertura de vegetação rasteira e arbustiva, com predomínio de gramíneas. Este ambiente possui regiões de afloramento do lençol freático, formando uma área alagadiça, com uma vegetação típica abundante (*Tiphea* sp.). Estes alagadiços possuem canais de drenagem em meandros, que na época de chuvas estendem-se até o mar. Em período de maré de sizígia, ocorre a penetração da água do mar nestas áreas alagadas (Carmo & Lacerda, 1984; Angulo, 1992).

Os Juvenis de mugilideos são freqüentemente encontrados em grandes cardumes aprisionados nos valos na praia durante a baixa mar, bem como nos canais de drenagem da planície de cordões litorâneos (Fanta-Feofiloff *et al.*, 1986). Os juvenis penetram nos valos durante a preamar ficando retidos no período de baixa-mar. O contato da água do mar com os canais de drenagem da planície de cordões litorâneos durante as marés de sizígia, permite a penetração dos juvenis de mugilideos neste ambiente, os quais podem permanecer aí até a próxima maré de sizígia.

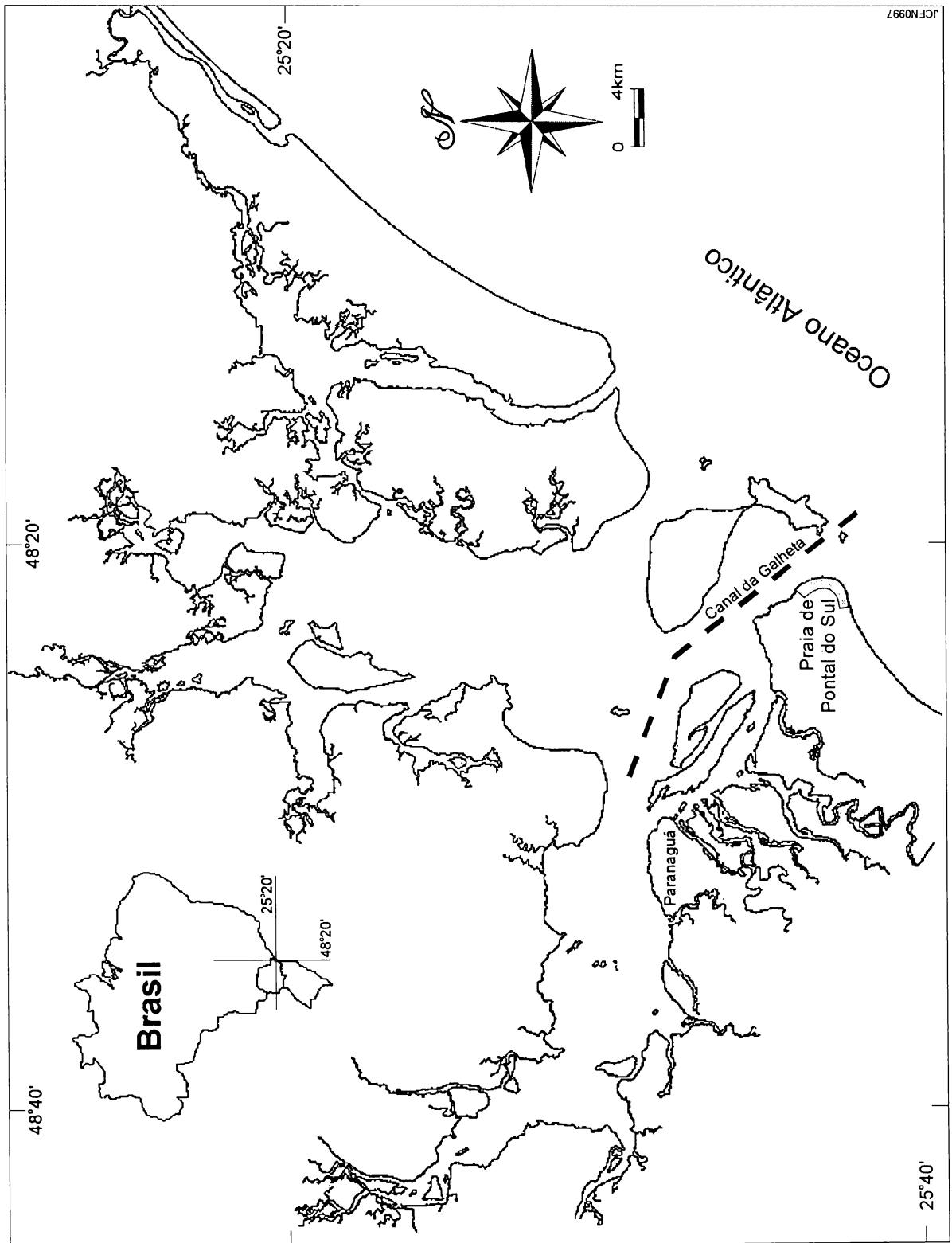


Figura 1. Mapa do Complexo Estuarino Baía de Paranaguá com a localização da praia de Pontal do Sul.

Coleta

Todos os exemplares utilizados nos experimentos foram capturados nos valos das praias, em função da sua abundância, da facilidade de coleta e da proximidade do local onde seria realizado o experimento. Na captura utilizou-se uma rede do tipo picaré com 7,0 X 2,0m e malha de filó de 1 a 2mm, primeiramente arrastada perpendicular ao valo e retirada no sentido da margem, processo este que ocasionou uma alta taxa de mortalidade nas etapas subsequentes (transporte e aclimação), fato que parece estar relacionado com o estresse provocado pelo efeito mecânico do arrasto (descamação) e o tempo de permanência fora da água. Com a intenção de minimizar tais efeitos, estendeu-se a rede sobre o fundo do valo e conduziu-se o cardume sobre a mesma. Em seguida as bordas da rede foram erguidas de modo a reter o cardume dentro da água sobre a rede, minimizando deste modo o contato dos peixes com a rede de captura. Para a transferência dos peixes para o balde plástico, o mesmo foi colocado deitado em uma das extremidades e os peixes foram conduzidos para o seu interior, juntamente com a massa de água, reduzindo-se a permanência dos peixes fora da água. Em seguida o balde foi tampado e rapidamente conduzido a uma câmara de temperatura controlada a 25 °C, nas dependências do Centro de Estudos do Mar (CEM-UFPR). Dentro da câmara, os baldes foram destampados e ficaram parcialmente imersos em tanques circulares de fibra de 500 L com aproximadamente 300L de água, até que ocorresse o equilíbrio térmico entre a água do balde com a do tanque. Os peixes foram então lentamente soltos nos tanques, dando-se início ao período de aclimação.

Aclimação

Durante a aclimação, que durou sete dias, os peixes foram alimentados com ração peletizada D'AGUABI do tipo PIRÁ TROPICAL CRESCIMENTO em uma proporção equivalente a aproximadamente 20% da biomassa total do tanque, administrada uma vez ao dia, logo após a troca de água. Na ausência de um sistema de filtração, optou-se pela troca diária de 100% da água do tanque, através de sifonagem de fundo, a qual possibilitou também a retirada de detritos e do excesso de alimento.

Observações preliminares

Antes do início da fase experimental, uma sub-amostra de 30 exemplares foi obtida dos tanques de aclimação. Os peixes foram fixados em formol 4% e preservados em álcool 70%. Cada exemplar foi identificado e medido (comprimento total em mm). Sob microscópio estereoscópio Wild, os arcos branquiais foram retirados e separados para a realização da descrição morfológica. Contagens do número de rastelos e filamentos foram realizadas somente no segundo arco branquial esquerdo e direito e o número de lamelas por milímetro, foram contadas nos filamentos da região mediana do segundo arco branquial esquerdo. Com o objetivo de testar a hipótese de que o número de rastelos e filamentos são iguais nos segundos arcos branquiais esquerdo e direito e em suas regiões medial e lateral, foram utilizadas as análises de variância uni e bi-fatorial (ANOVA). Na análise de variância bi-fatorial foram considerados fatores fixos o posicionamento do arco (arco direito e arco esquerdo) e a região num mesmo arco (medial e lateral). Na análise de variância uni-fatorial o fator fixo utilizado foi o posicionamento junto com a região (arco direito medial e lateral, arco esquerdo medial e lateral). Uma vez observadas diferenças significativas ($P < 0.05$) utilizou-se o teste de comparação múltipla de Scheffe (Hair *et al.*, 1979; Snedecor & Cochran, 1982).

Experimentos

O trabalho experimental foi desenvolvido em duas fases. Em ambas, vinte peixes foram transferidos diretamente do tanque para baldes plásticos contendo 16L de água nas salinidades selecionadas, com uma réplica para cada salinidade. Durante todo o tempo dos experimentos a água dos baldes foi aerada e os peixes não foram alimentados (Perry *et al.*, 1992). Ao final de cada amostragem, os peixes mortos foram retirados, os detritos foram sifonados e o nível de água completado. Exemplares que apresentavam sinais de estresse tais como: dorso escurecido, natação irregular, permaneciam parados no fundo só se movimentando através de estímulo mecânico, não foram utilizados para a análise da célula de cloro.

Na primeira fase realizou-se observações de mortalidade numa série temporal de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 48 e 96h em três experimentos, o primeiro com as salinidades 30‰ (salinidade da aclimação que serviu como controle), 15‰ e 0‰, o segundo com as salinidades 30‰, 15‰, 10‰, 5‰ e

0‰ e o terceiro com as salinidades 30‰, 5‰, 4‰, 3‰, 2‰, 1‰ e 0‰. Com base nos resultados de mortalidade, elaborou-se os procedimentos do experimento da segunda fase, no qual observou-se a variação morfológica da cripta apical das células de cloro.

Para a segunda fase, uma nova coleta foi realizada nos valos e os juvenis de mugilídeos foram capturados, transportados e aclimatados da mesma maneira anteriormente descrita, porém, a salinidade de aclimação foi de 34‰; esta também foi a salinidade controle para o experimento. Após o período de aclimação, 20 exemplares foram transferidos diretamente do tanque de aclimação para os baldes com as salinidades de 34‰, 15‰, 5‰, 3‰, 1‰ e 0‰, com uma réplica para cada salinidade. De cada balde foram coletados dois exemplares em uma série temporal de 1, 3, 6, 12, 24, 48, e 96h após o início do experimento. Na salinidade 0‰ as observações foram feitas a 15, 30 e 45 minutos e em 1, 3 e 6 horas. Os peixes foram mortos por decapitação e os arcos branquiais foram retirados da cavidade opercular. Nas salinidades 34‰ e 15‰ procedeu-se a lavagem do arco com solução de Curtland (anexo I). Nas demais salinidades, a lavagem dos arcos foi feita com solução salina NaCl 0.9% (anexo I). Em seguida, o segundo arco branquial esquerdo foi cuidadosamente destacado e fixado por 24h a uma temperatura de 4 a 5 °C em uma solução preparada a fresco de glutaraldeído 3% tamponado em solução de cacodilato de sódio 0.2M (pH 7.2). Após o período de fixação, o arco branquial foi submetido a três lavagens de um minuto cada com água destilada. Em seguida, foi transferida para o álcool 50% onde foi deixado durante 15 minutos sendo posteriormente conservado em álcool 70% a uma temperatura de 4 a 5°C. No momento da preparação para o MEV, o arco foi sucessivamente transferido para o álcool 90% e duas seções de álcool 100%, sendo mantido por 15 minutos em cada uma destas concentrações, desidratado com CO₂ em um aparelho de ponto crítico modelo Balzers CPD-010, montado em um suporte de alumínio e metalizado em um aparelho Balzers modelo SCD-030. Para cada salinidade e horário de observação, foram montados dois arcos oriundos de um peixe do tratamento e um da réplica. As observações e eletronicografias foram feitas em um Microscópio Eletrônico de Varredura Phillips modelo SEM 505 (UFPR) e JEOL JSM 840 A (USP).

Após a obtenção das eletronicografias, estas foram separadas por salinidade e tempo, procedendo-se em seguida a medição do maior e menor

eixo dos poros das células de cloro encontrados na eletronicmicrografia. Com o objetivo de se testar a hipótese de que os poros não variam ao longo do tempo e da salinidade, foi utilizada análise de variância bi-fatorial (ANOVA). Uma vez observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) as mesmas foram avaliadas através do teste de comparação múltipla da menor diferença significativa (Hair *et al.*, 1979; Snedecor & Cochran, 1982) .

RESULTADOS

Identificação

Os peixes utilizados nos experimentos apresentaram comprimentos totais entre 28 a 36 mm com média de 32.9 ± 0.22 mm (Fig. 2 - anexo II).

Descrição geral do arco branquial

A morfologia dos arcos branquiais de *M. platanus* é similar à observada em outros teleósteos (Gray, 1954; Hossler *et al.*, 1979a, 1986; Matthey *et al.*, 1980; Hossler & Marchant, 1983; Ojha *et al.*, 1987; Eiras-Stofella, 1994). Quatro pares de arcos branquiais (ABI a ABIV) estão inseridos no sentido antero-posterior em cada lado da cavidade faringeal. Cada arco branquial suporta duas fileiras de rastelos e duas fileiras de filamentos (hemibrânquias), situadas respectivamente, ao longo das regiões anterior e posterior do arco. Vistos lateralmente, os arcos tem a forma de "C", com a região medial ligeiramente côncava e a região lateral ligeiramente convexa. Na região dorsal observa-se a presença de uma curvatura que diminui gradativamente do ABI para o ABIV. Os três primeiros arcos são similares em tamanho, sendo o ABII ligeiramente maior e o ABIV é o menor de todos (Figs. 3 e 4).

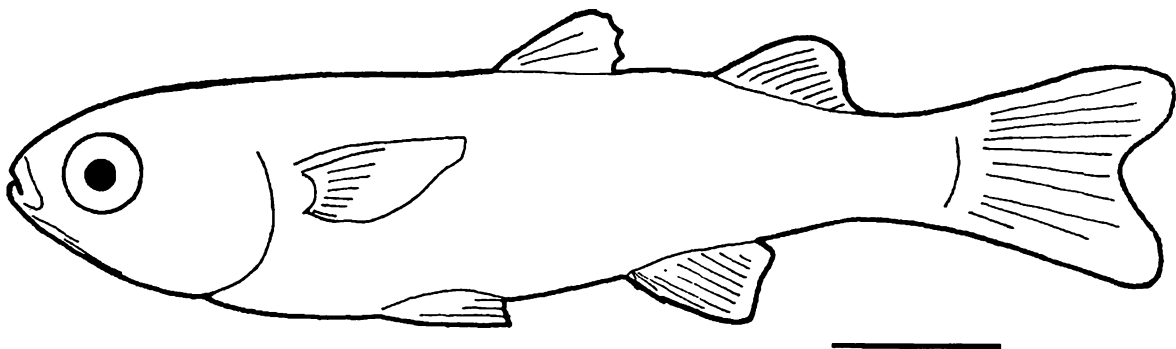


Figura 2. Vista lateral de um exemplar de *Mugil platanus*. Barra = 5mm.

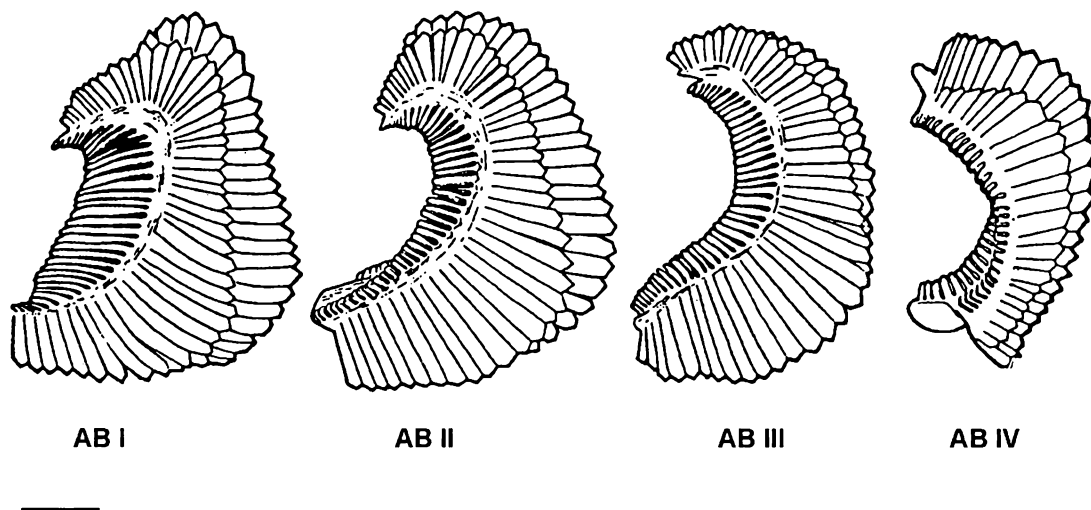


Figura 3. Arcos branquiais esquerdos de um juvenil de *Mugil Platanus* de 34mm. Barra = 1mm

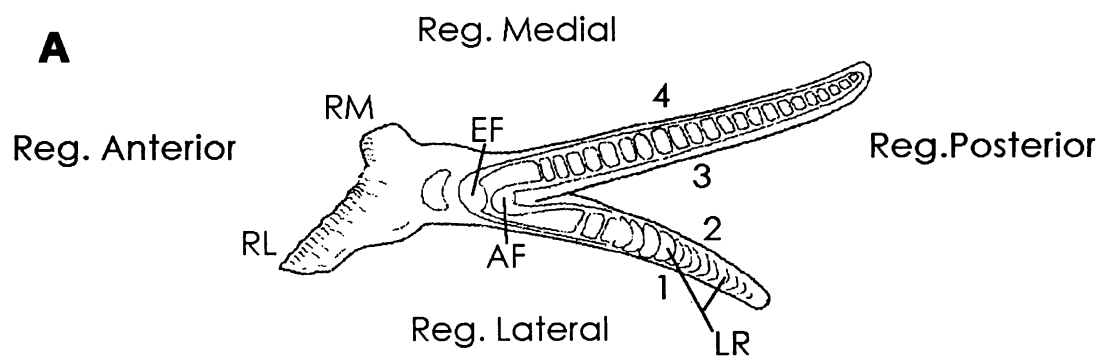
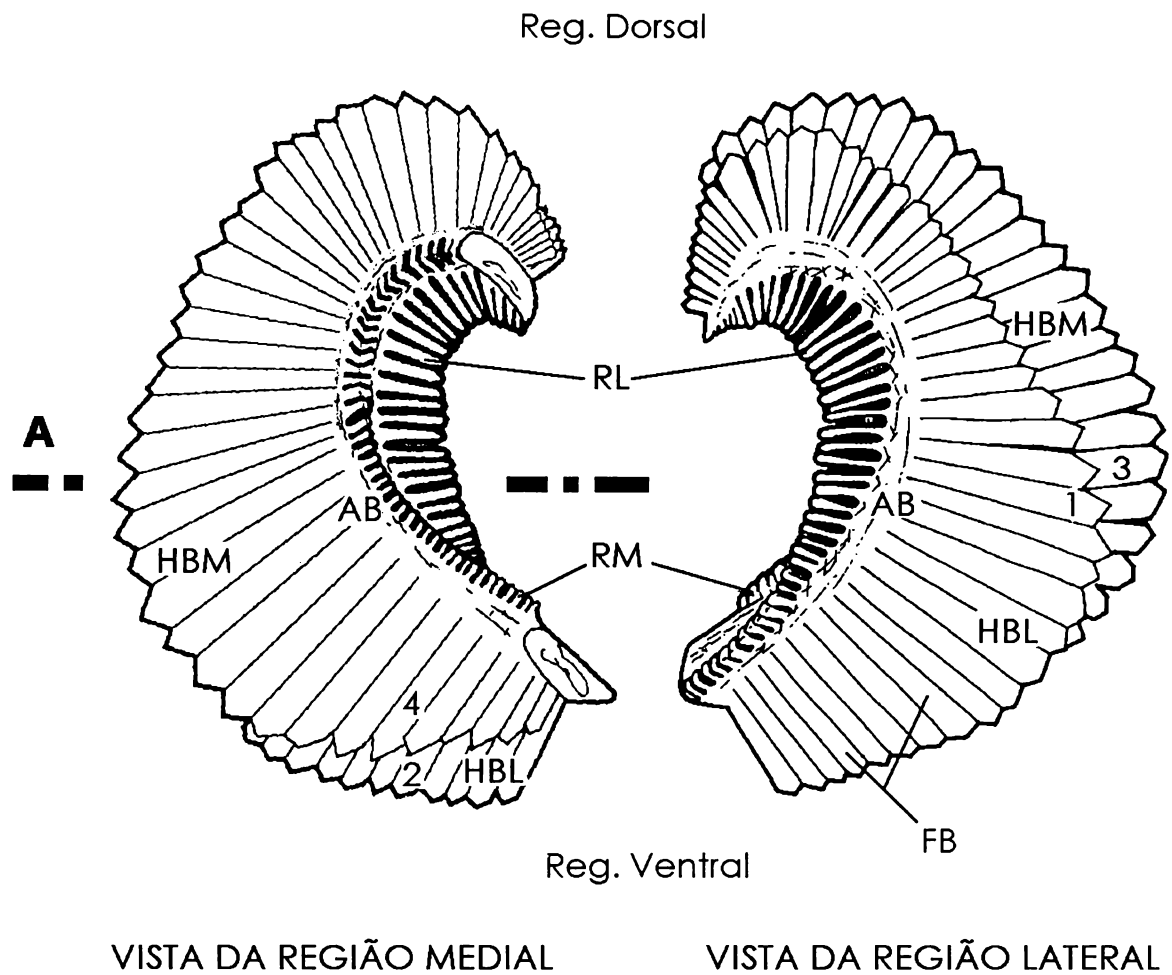


Figura 4. Desenho esquemático do ABII esquerdo e de um corte transversal (A). AB = arco branquial; FB = filamento branquial; RL = rastelos laterais; RM = rastelos mediais; HBL = hemibrânquia lateral; HBM = hemibrânquia medial; AF = artéria branquial aferente; EF = artéria branquial eferente. Os lados dos filamentos foram arbitrariamente designados de 1 a 4 no sentido lateral para medial.

Descrição geral dos rastelos branquiais

Os rastelos branquiais diferem no comprimento e na morfologia de um arco branquial para outro e entre a região dorsal e a ventral de um mesmo arco. Na porção mediana dos ABI, II e III os rastelos da fileira associada a região lateral do arco são maiores que os rastelos da fileira associada a região medial. Nas extremidades e na região medial do ABI, II e III, e em ambas as fileiras do ABIV, estão presentes rastelos de tamanho reduzido. De maneira geral os rastelos apresentam-se achatados com contorno triangular a trapezoide. Na borda da região anterior dos rastelos, estão presentes duas séries de projeções secundárias, com a forma variando entre os rastelos, sendo que no ABI e na região ventral do ABII, apresentam-se como projeções lobulares simples e na região mediana dorsal do ABII e em todo o ABIII e IV, modificam-se para formas mais complexas, apresentando extremidades ramificadas de onde partem pequenas estruturas com formato de ponta (Fig. 5). As duas fileiras de rastelos juntamente com o corpo do arco, formam parte da parede da cavidade faringeal e a disposição dos quatro arcos nesta cavidade, permite a sobreposição dos rastelos formando uma rede entre as cavidades faringeal e opercular.

O número de rastelos da região medial é significativamente maior que o da região lateral, porém entre o ABII esquerdo e direito, não foi constatada diferença significativa no número de rastelos quando comparadas as mesmas regiões (Tabs. 1 e 2 - anexo I).

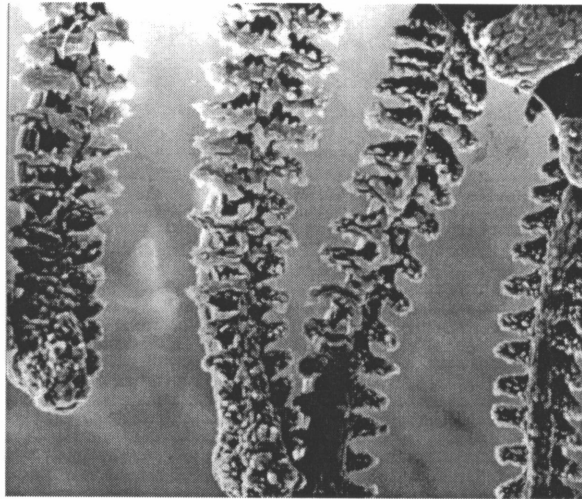
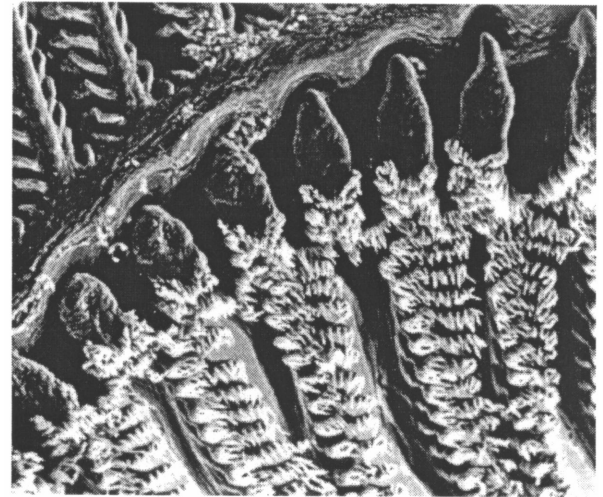
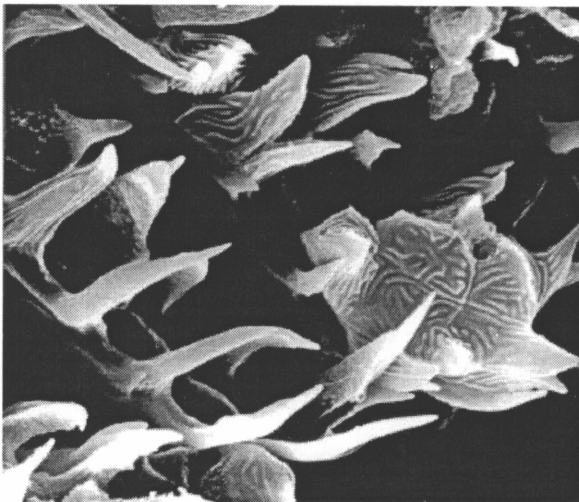
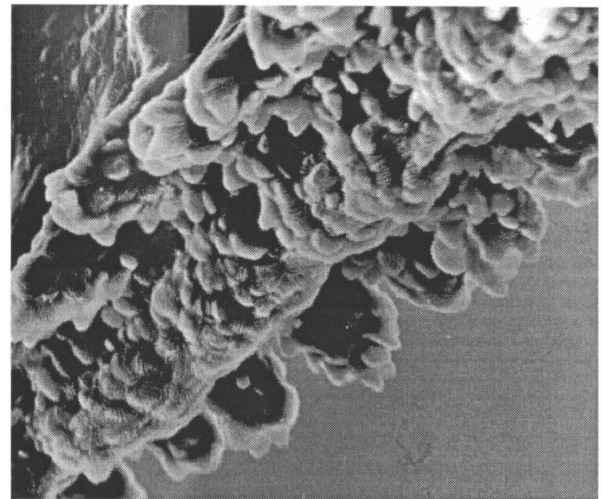
**A****B****C****D**

Figura 5. Fotomicrografia de rastelos branquiais do ABII. **A)** região ventral apresentando projeções secundárias simples. Notar a região de transição de simples para complexa (375 X); **B)** detalhe das projeções simples (2,900 X); **C)** região dorsal apresentando projeções secundárias complexas (265 X); **D)** detalhe das projeções secundárias complexas cobertas por células pavimentosas com micropregas (1,280 X).

Descrição geral dos filamentos

O tamanho de cada filamento branquial varia ao longo dos arcos e hemibrânquias. Nos ABI, II e III, a hemibrânquia medial é maior que a hemibrânquia lateral nas extremidades e em parte da região ventral, ocorrendo o oposto na região dorsal e em parte da região mediana dos arcos (Fig. 6). Com relação ao tamanho dos filamentos, estes apresentam-se menores nas extremidades, aumentando progressivamente de tamanho em direção a porção mediana do arco. O ABIV apresenta a hemibrânquia lateral menor que a hemibrânquia medial em toda a sua extensão (Fig. 6). Observa-se a intersecção dos pontos de inserção dos filamentos das hemibrânquias lateral e medial.

O número de filamentos entre os ABII esquerdo e direito não diferem significativamente nas mesmas regiões. Entretanto, o número de filamentos da hemibrânquia lateral foi significativamente maior do que o número de filamentos da hemibrânquia medial em um mesmo arco (Tabs.1 e 2 - anexo I).

Tabela. 1 Resultados da análise de varância bi-fatorial (ANOVA), avaliando a influência do posicionamento dos ABII (direito e esquerdo) e das diferentes regiões (medial e lateral) sobre número de filamentos e rastelos do ABII de juvenis de *Mugil platanus*.

	A	R	AxR
Filamentos	NS	M<L*	NS
Rastelos	NS	M>L*	NS

A = Variações entre os arcos; R= variações entre regiões. NS=diferença não significativa; *p<0.01

Descrição das lamelas respiratórias

As lamelas respiratórias apresentam-se como estruturas achatadas, inseridas regularmente na posição transversal, de forma alternada e deslocadas mais para a região eferente nas regiões dorsal e ventral de cada filamento branquial. Na maior parte do filamento apresentam forma trapezoidal, passando para triangular na direção da região distal (Fig. 6). Em cada lado do filamento estão presentes em média 37 lamelas respiratórias por milímetro (Tab. 3).

Tabela 2. Média e desvio padrão do número de filamentos e rastelos branquiais de juvenis de *Mugil platanus*. (n=30). Resultados da análise de variância uni-fatorial (ANOVA) e teste de comparação múltipla de Scheffe.

	Arco esquerdo		Arco direito		F	Grupos
	Reg. medial	Reg. lateral	Reg. medial	Reg. lateral		
Filamento	41.67(2.89)	49.63(3.27)	40.93(2.57)	49.37(4.31)	60.99*	(EM,DM) (EL,DL)
Rastelo	45.87(3.51)	41.97(3.7)	45.53(2.67)	42.23(2.99)	12.40*	(EM, DM) (EL, EL)

*p<0.01. Grupos sem diferenças significativas encontram-se no mesmo parênteses. E = Arco esquerdo; D = Arco direito; M = Região medial; L = Região lateral.

Tabela 3. Média, desvio padrão, valor mínimo e máximo do número de lamelas por milímetro em filamentos da região mediana do ABII esquerdo de juvenis de *Mugil platanus*.

Lado do Filamento	$\bar{X}$	S	Min	Max
Dorsal	37,43	1,13	35	40
Ventral	37,28	1,03	35	40

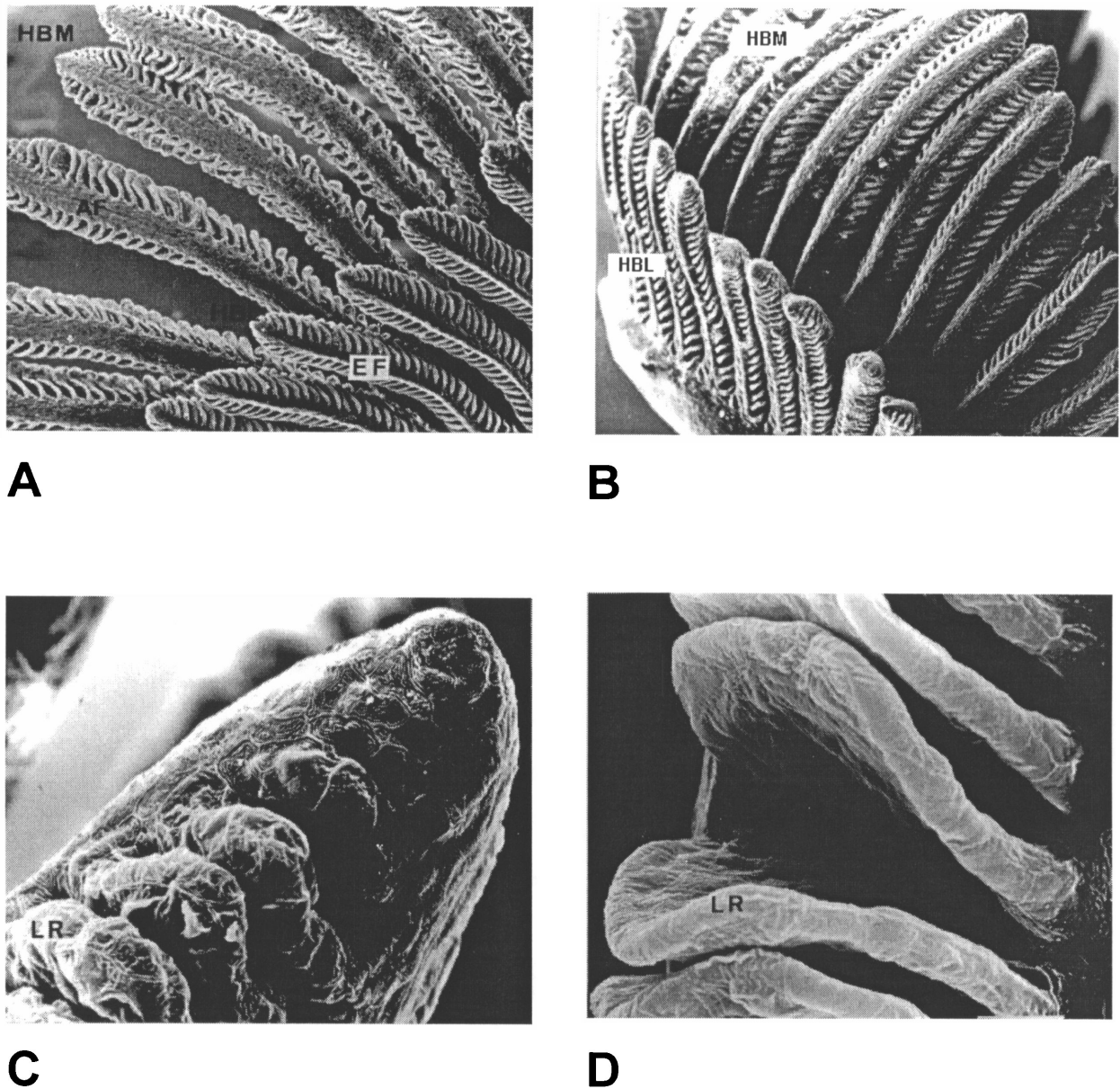


Figura 6. Fotomicrografias dos filamentos do ABII esquerdo: **A)** vista geral das hemibrânquias lateral (HBL) e medial HBM), mostrando o lado 1 (região eferente - EF) e lado 3 (região aferente - AF) (150 X); **B)** vista geral do arco mostrando as hemibrânquias lateral e medial. Notar a curvatura côncavo-convexa do arco (150 X); **C)** detalhe das lamelas respiratórias (LR) da região distal do filamento. Notar a forma triangular da lamela (160 X); **D)** detalhe das lamelas respiratórias da região central do filamento. Notar a forma trapezoidal e a ausência de micropregas sobre a células pavimentosas (830 X).

Descrição da ultraestrutura superficial do epitélio de revestimento do ABII

O epitélio de revestimento de todo o ABII constitui-se de uma camada de células pavimentosas poligonais dispostas em mosaico. As células pavimentosas apresentam o maior eixo em média com $6,71\mu\text{m}$ e o menor com $4,9\mu\text{m}$ (Tab. 4).

Tabela 4. Média, desvio padrão, valor mínimo e máximo dos eixos maior e menor de células pavimentosas do epitélio branquial do ABII de juvenis de *Mugil platanus*

	$\bar{X}$	S	Min	Max
Eixo maior	6.94	2.54	2	15
Eixo menor	4.61	1.59	1.5	10

Por toda a superfície destas células existem micropregas lineares com uma espessura variando de $0,1-0,2\mu\text{m}$, algumas vezes ramificadas, arranjadas concentricamente. Percorrendo todo o contorno externo da célula pavimentosa há uma microprega em contato com micropregas da mesma região de células pavimentosas adjacentes, formando um nítido contorno para estas células (Fig. 7A). Na região basal das lamelas e na região interlamelar, as micropregas apresentam vários comprimentos, aparecendo em algumas partes como pontos. Chegam a desaparecer por completo nas células pavimentosas que cobrem as lamelas, dando um aspecto liso a membrana (Fig. 7B).

Entre as bordas das células pavimentosas adjacentes foram observados poros com formatos irregulares. Os poros são evidenciados apenas na região aferente do filamento, nas bases das lamelas e na região interlamelar não tendo sido observados na região eferente, nem sobre as lamelas respiratórias (Fig. 7C e D).

Toda a superfície do rastelo é coberta por células pavimentosas com micropregas, bem como as projeções secundária simples e complexas (Fig. 8A). Entre as projeções secundárias simples, é evidenciado uma saliência contendo botões gustativos com tufo de projeções microvilosas, regularmente espaçados entre as células pavimentosas (Figs. 8B e C).

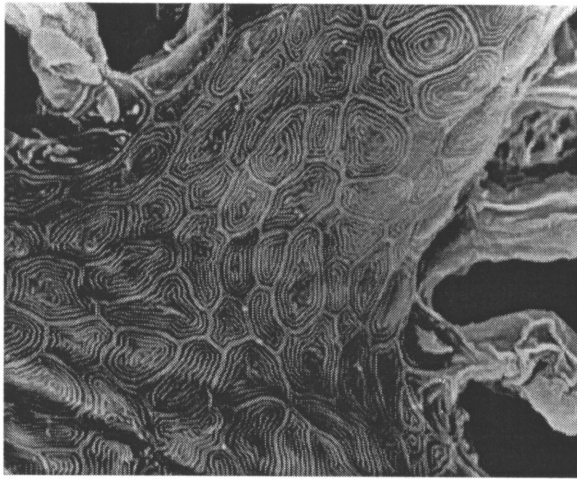
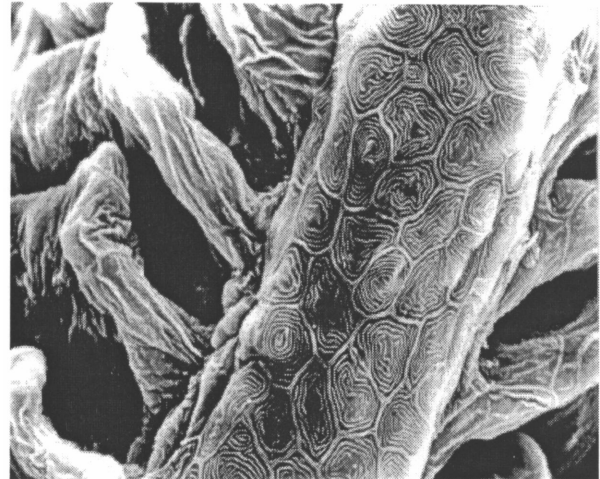
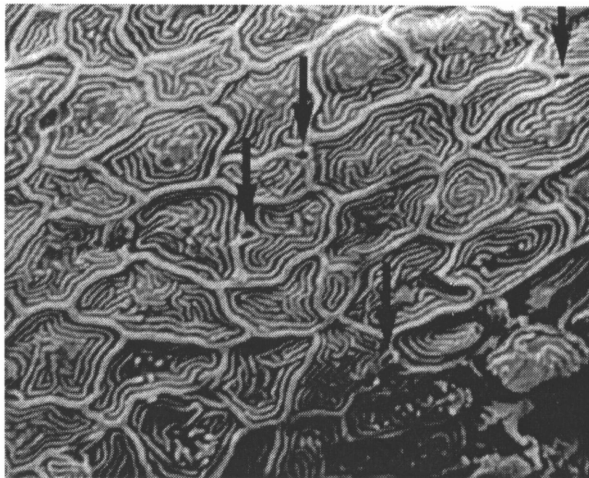
**A****B****C****D**

Figura 7. Eletronmicrografias das células pavimentosas: **A)** vista da região lateral do ABII ao nível da inserção de um filamento. Notar o nítido contorno das células pavimentosas e a transição das micropregas em direção às lamelas respiratórias (200 X); **B)** região eferente do filamento demonstrando a ausência de poros (180 X); **C)** região aferente do filamento mostrando a presença de poros das células de cloro (250 X); **D)** detalhe do poro da célula de cloro (12,200 X).

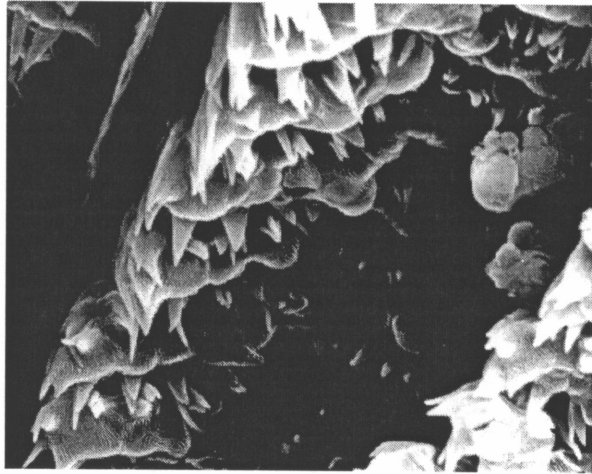
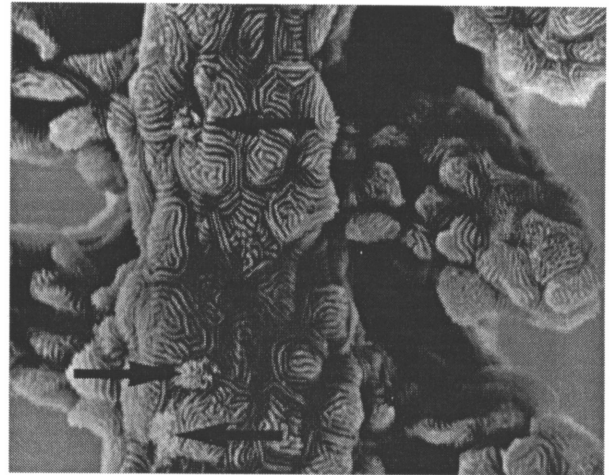
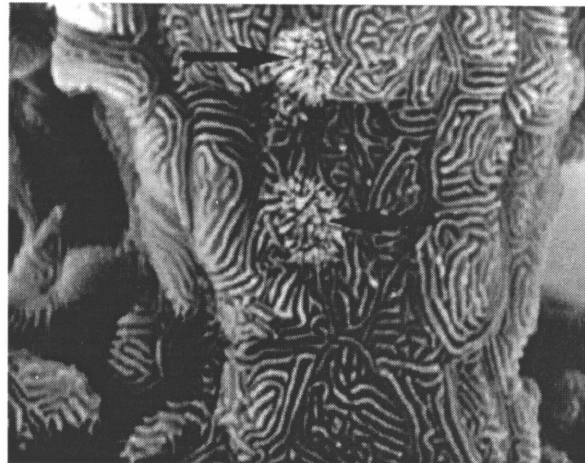
**A****B****C**

Figura 8. Eletronmicrografias dos rastelos do ABII com projeções secundárias cobertas com células pavimentosas com micropregas: **A)** projeções secundárias complexas; **B)** projeções secundárias simples (300 X); **C)** botões gustativos apresentando projeções microvilosas(BG), na borda anterior do rastelo, entre as projeções secundárias simples (550 X).

Experimento para a determinação do percentual de sobrevivência

Os resultados dos testes de sobrevivência estão sumarizados na tabela 5.

EXPERIMENTO 1

SALINIDADES 30‰ (CONTROLE), 15‰ E 0‰

Nenhum peixe morreu nas salinidades 30‰ e 15‰ durante as 96 horas do experimento. Na água doce nas primeiras 6 horas, observou-se uma queda acentuada na sobrevivência sendo que no final das 96 horas o percentual de sobrevivência médio foi de apenas 5% (Fig. 9).

Tabela 5. Resultados dos testes de sobrevivência com juvenis de *Mugil platanus*.

SAL (‰)	EXP 1	EXP 2	EXP 3
30	100%	100%	100%
15	100%	100%	-----
10	-----	100%	-----
5	-----	100%	97,5%
4	-----	-----	85%
3	-----	-----	62%
2	-----	-----	27,5%
1	-----	-----	17,5%
0	5%	5%	0%

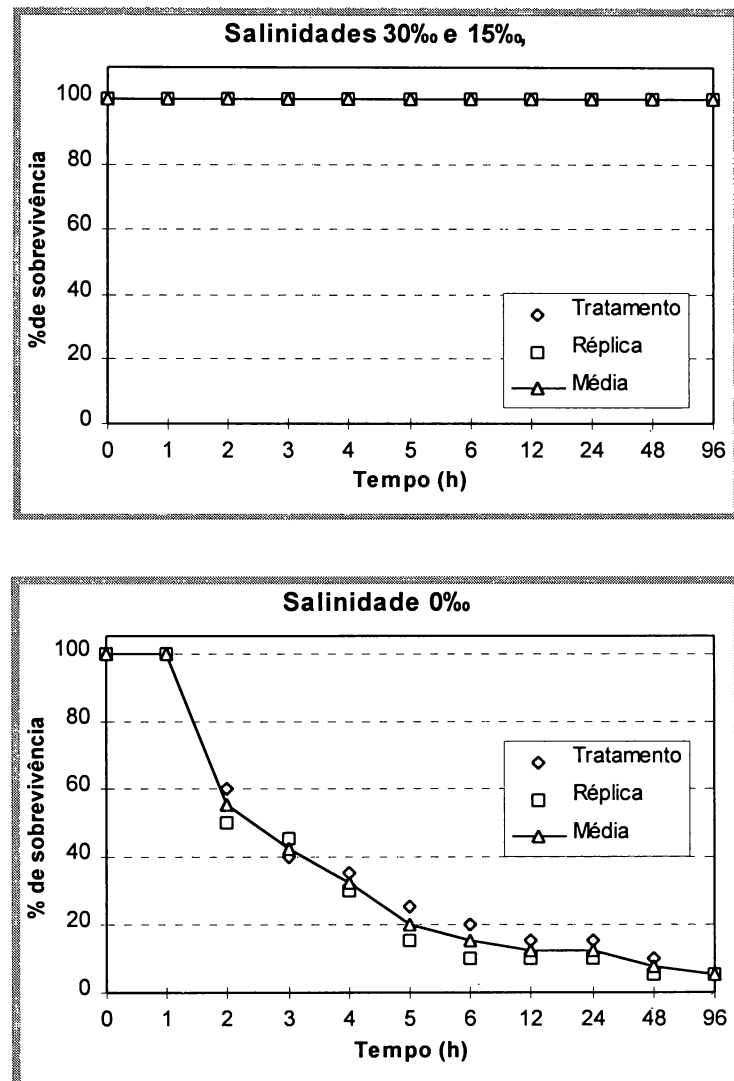


Figura 9. Gráficos das taxas de sobrevivência nas salinidades 30‰, 15‰ e 0‰ durante o experimento 1.

Experimento 2

Salinidades 30‰ (controle), 15‰, 10‰, 5‰ e 0‰

Após 96 horas de experimento, o percentual de sobrevivência nas salinidades 30‰, 15‰, 10‰ e 5‰ foi de 100%, enquanto que na água doce observou-se mortalidade acentuada já a partir de 1 h de experimento, com um período de maior sobrevivência entre 4 e 12 h, atingindo no final um percentual de sobrevivência médio de 5% (Fig. 10).

Experimento 3

30‰ (controle), 5‰, 4‰, 3‰, 2‰, 1‰ e 0‰

No controle o percentual de sobrevivência foi de 100%. Na salinidade 5‰ foi registrado a morte de apenas um exemplar, resultando numa sobrevivência média de 97,5% (Fig. 12). Na salinidade 4‰, ao final do experimento, registrou-se um percentual de sobrevivência médio de 85%, sendo que os peixes começaram a morrer a partir das 24 horas (Fig. 11). Na salinidade 3‰, ao final das 96 horas, a sobrevivência média foi de 62%, tendo as mortes iniciado a partir das 4 horas e mais acentuadamente após as 48 horas (Fig. 11). Na água com a salinidade 2‰, as mortes aconteceram a partir de 6 horas de experimento, atingindo no final das 96 horas uma sobrevivência média de 27,5%. Nos baldes com água com salinidade 1‰, observou-se uma queda gradual da sobrevivência entre 2 e 24 horas de experimento, ocorrendo mortalidade acentuada a partir deste momento, culminando com um percentual de sobrevivência médio de 17,5% (Fig. 12). No experimento em água doce, a mortalidade se manifestou na primeira hora, observando-se a partir daí um declínio acentuado no percentual de sobrevivência médio até 12 horas, ocorrendo a morte de todos os exemplares ao final das 96 horas (Fig.12).

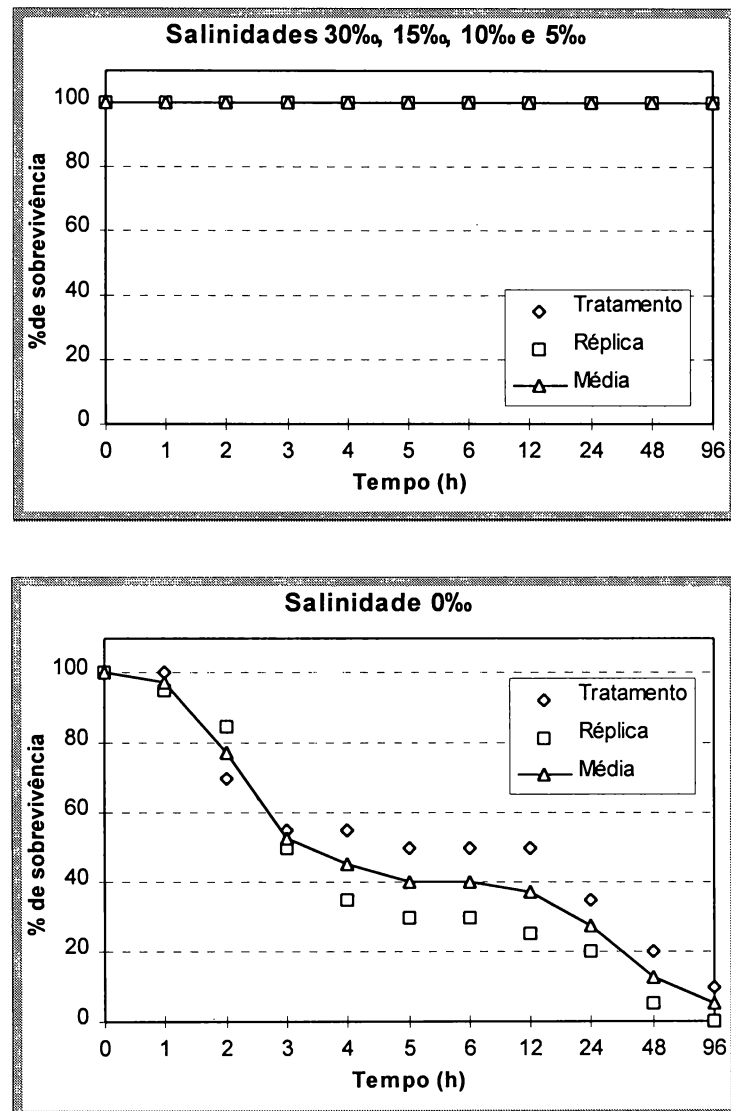


Figura 10. Gráficos das taxas de sobrevivência nas salinidades 30‰, 15‰, 10‰, 5‰ e 0‰ durante o experimento 2.

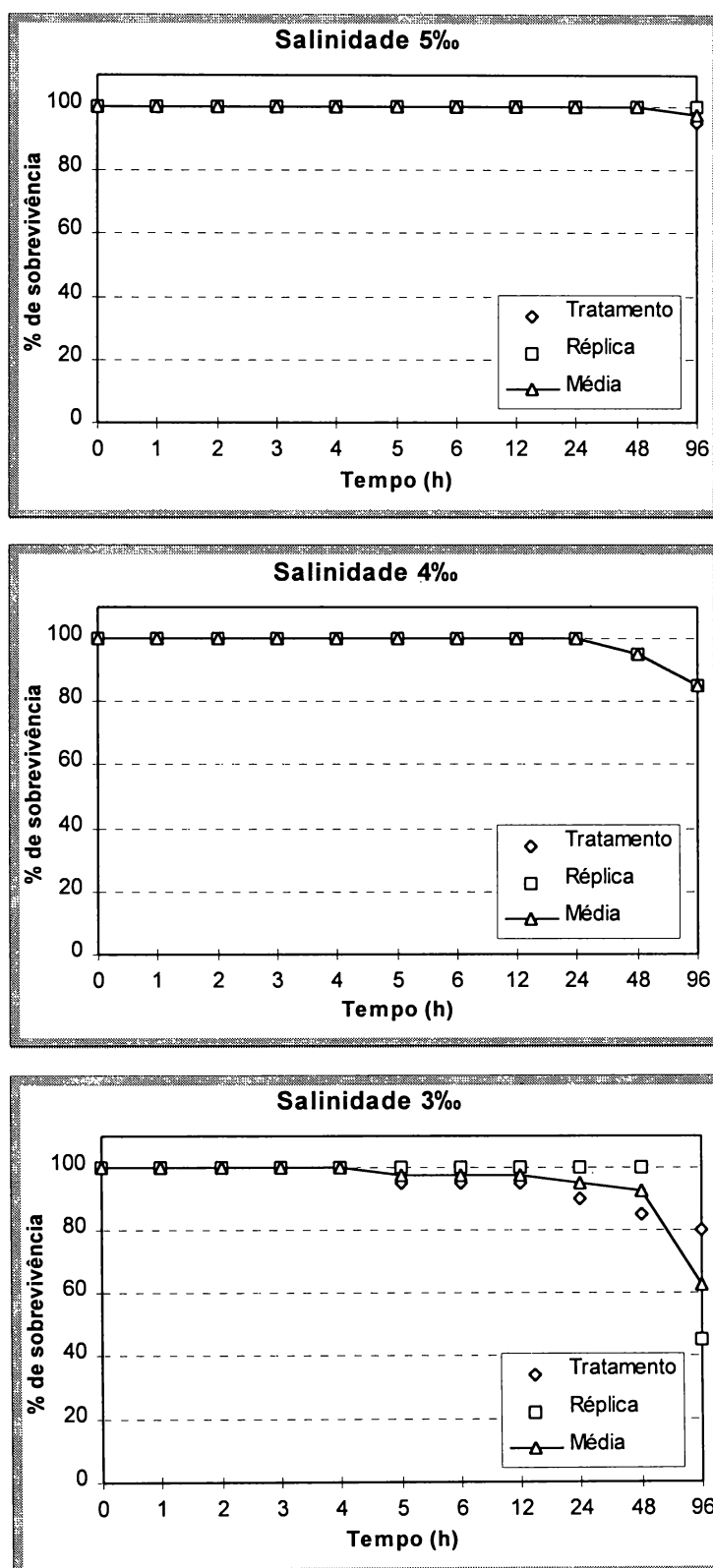


Figura 11. Gráficos das taxas de sobrevivência nas salinidade 5‰, 4‰ e 3‰ durante o experimento 3.

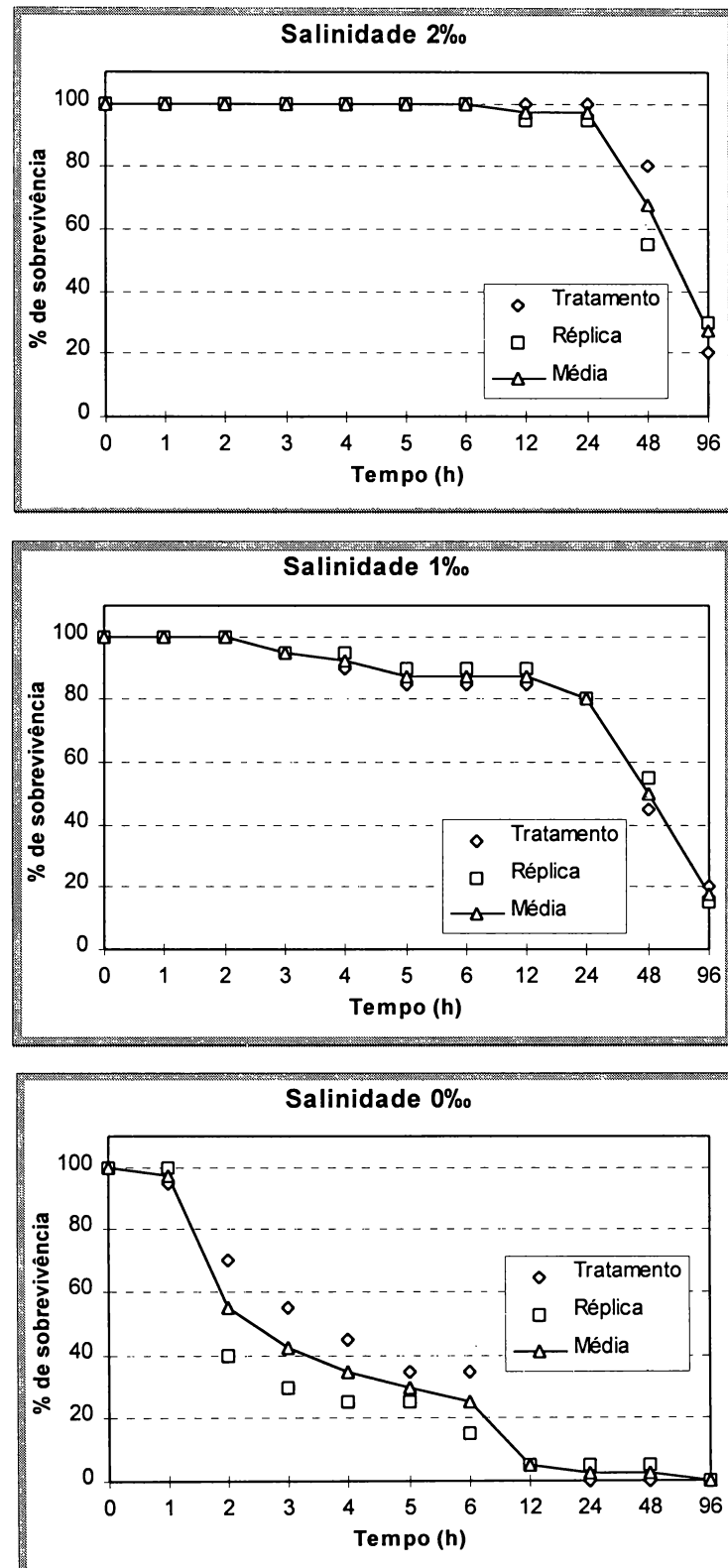


Figura 12. Gráficos das taxas de sobrevivência nas salinidades 2‰, 1‰ e 0‰ durante o experimento 3.

Descrição da variação do diâmetro do poro e da ultraestrutura superficial da cripta apical da célula de cloro.

Em todas as salinidades utilizadas, foram encontrados muitos poros distribuídos randomicamente entre as células pavimentosas, aparecendo na região aferente, nas bases das lamelas e na região interlamelar das brânquias.

Os dados gerais de medições dos eixos dos poros da cripta apical das células de cloro estão sumarizados no anexo II.

Na salinidade 34‰ (controle), ao longo das 96 horas de experimento, os poros apresentaram o eixo maior variando de 0,50 a 1,50 μm , com uma média de $0,82 \pm 0,240 \mu\text{m}$, já o eixo menor variou de 0,50 a 1,00 μm , e apresentou um tamanho médio de $0,70 \pm 0,238 \mu\text{m}$ (Fig. 13).

Nas brânquias de peixes mantidos na salinidade 15‰, os poros apresentaram o eixo maior com valores entre 0,50 e 1,50 μm , sendo o valor médio $0,95 \pm 0,274 \mu\text{m}$. O eixo menor apresentou igual amplitude de variação, porem a sua média foi de $0,79 \pm 0,261 \mu\text{m}$ (Fig. 13).

Na água com salinidade 5‰, os poros apresentaram o eixo maior com medidas entre 0,50 e 2,00 μm , e um comprimento médio de $0,95 \pm 0,276 \mu\text{m}$. Com relação ao eixo menor os valores estiveram entre 0,50 e 1,00 μm , sendo de $0,77 \pm 0,240$ a média desta dimensão (Fig. 13).

Os peixes na salinidade 3‰ apresentaram poros com projeções citoplasmáticas, sendo que o eixo maior variou de 0,30 a 3,00 μm e sua média foi de $1,02 \pm 0,407 \mu\text{m}$. O eixo menor apresentou valores entre 0,30 e 1,50 μm e uma média de $0,73 \pm 0,259 \mu\text{m}$ (Fig. 14).

Na salinidade 1‰, tornaram-se mais frequentes os poros com projeções citoplasmáticas. No que refere as dimensões consideradas, o eixo maior variou de 0,50 a 3,50 μm , com uma média de $1,15 \pm 0,517 \mu\text{m}$, sendo de 0,30 a 2,50 μm a amplitude de variação do eixo menor, que apresentou um tamanho médio de $0,87 \pm 0,374 \mu\text{m}$ (Fig. 15).

Na água doce, a partir de 15 minutos de experimento já se observa poros com as dimensões aumentadas e projeções citoplasmáticas bem

evidentes no seu interior. Ao longo do experimento, o eixo maior apresentou comprimentos entre 0,50 e 5,00 μm , e um tamanho médio de $1,96 \pm 0,889 \mu\text{m}$, já o eixo menor variou de 0,50 a 4,00 μm e o seu comprimento médio foi de $1,35 \pm 0,646 \mu\text{m}$ (Fig. 16).

Para o eixo maior a análise de variância bi-fatorial, demonstrou a presença de diferenças significativas entre as salinidades, ao longo do tempo e na interação entre os dois fatores. A aplicação do teste de comparação múltipla da menor diferença significativa (MDS), mostra este eixo com comprimentos médios maiores na salinidade 0‰, seguida da 1‰, sendo em ambas as salinidades maior do que nas demais. Diferenças não significativas aparecem entre os valores médios das salinidades 3‰, 5‰ e 15‰, com os valores médios destas duas últimas não diferenciando significativamente da salinidade 34‰. No que se refere ao comprimento médio do eixo maior ao longo do tempo, o MDS mostrou um valor médio significativamente maior em 6 horas de experimento, não ocorrendo entre os valores das demais horas diferenças significativas (Tab. 6).

Com relação ao eixo menor, a análise de variância bi-fatorial, apontou diferenças significativas entre as médias ao longo do tempo e na interação entre os efeitos de salinidade e tempo, não aparecendo diferenças significativas entre as salinidades. A aplicação do teste de comparação múltipla da menor diferença significativa, apontou um comprimento médio maior a 6 horas de experimento, sendo as médias a 1, 3 e 48 horas semelhantes a média de 96 horas, a qual é significativamente maior que as médias a 12 e 24 horas de experimento (Tab. 6).

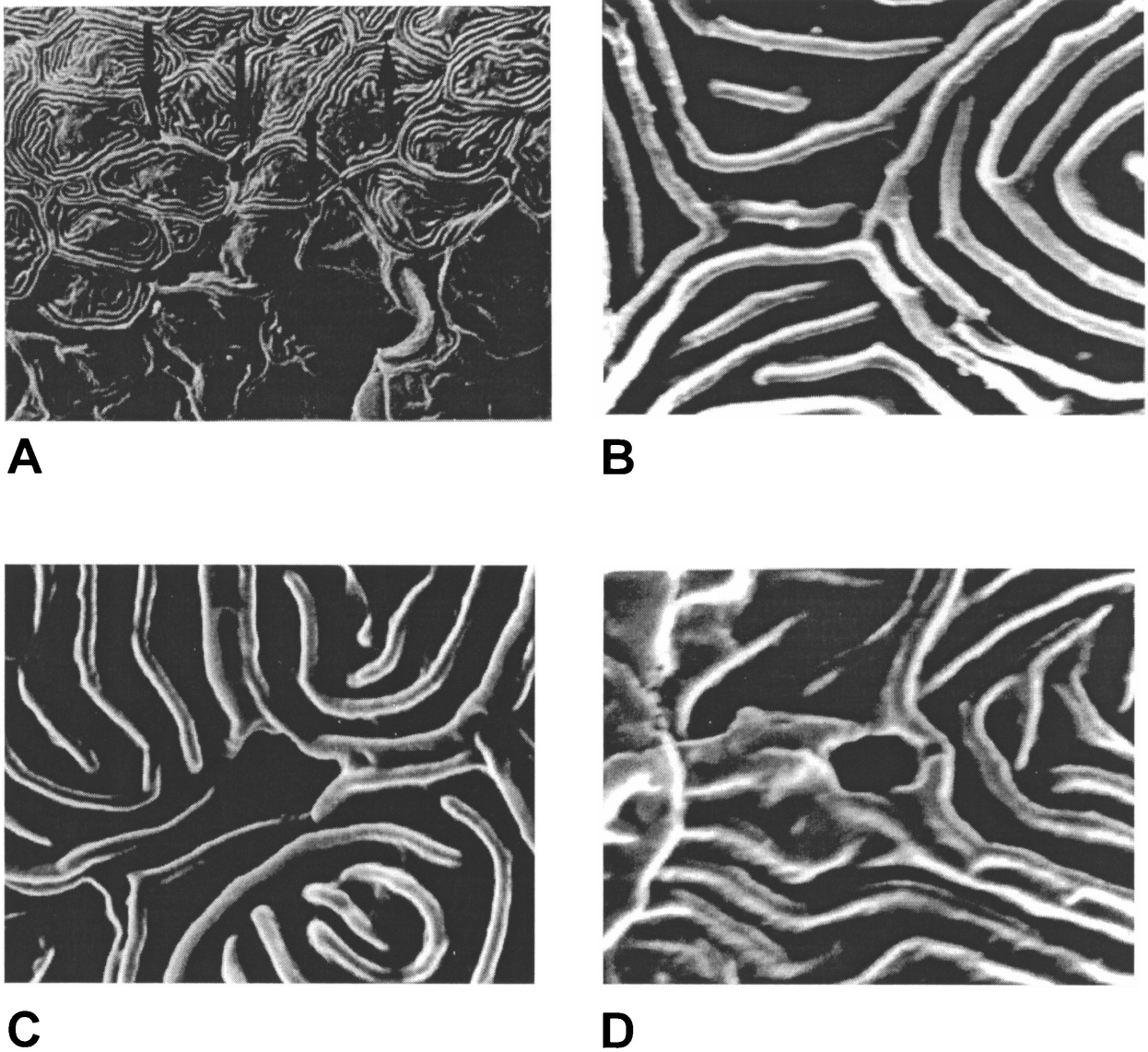


Figura 13. Eletronmicrografias de filamentos branquiais nas salinidades 34‰, 15‰ e 5‰. Poros de tamanhos reduzidos, não diferenciando significativamente entre as salinidades. **A)** região aferente do filamento apresentando poros das células de cloro na salinidade 34‰ após 96h (280X); **B)** detalhe do poro na salinidade 34‰ após 96h (12,000X); **C)** detalhe do poro na salinidade 15‰ após 96h (12,200X); **D)** detalhe do poro na salinidade 5‰ após 96h (12,000X).

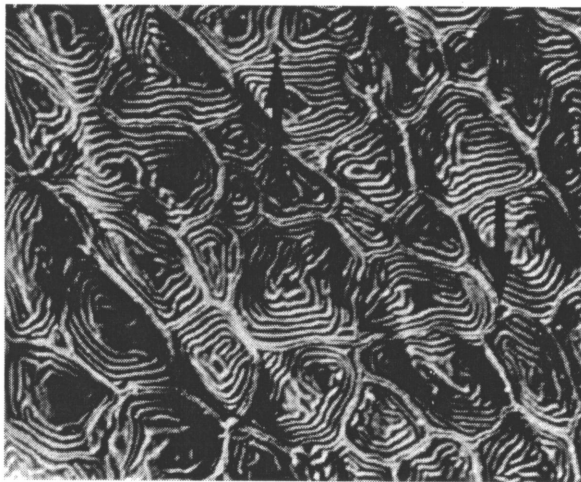
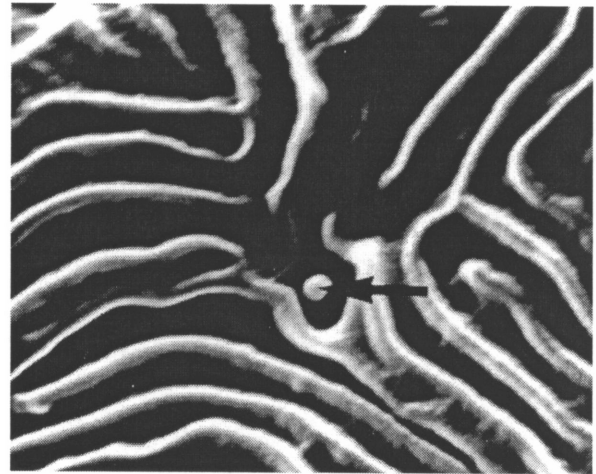
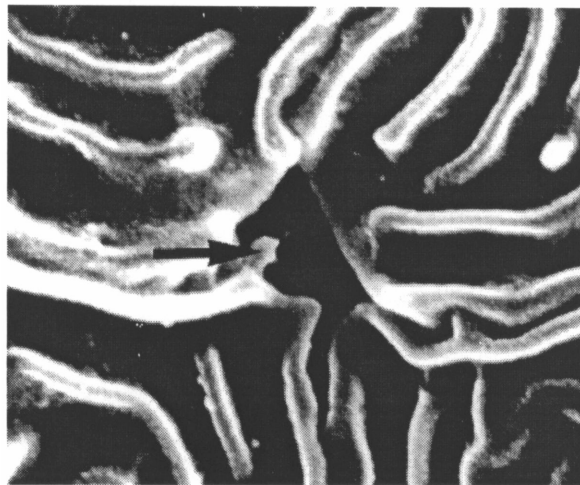
**A****B****C**

Figura 14. Eletronmicrografias de filamentos branquiais nas salinidades 3‰. **A)** região aferente do filamento apresentando poros das células de cloro após 12h (330X); **B)** detalhe do poro após 1 h. Notar a presença de projeções celulares (setas - 12,000X); **C)** detalhe do poro após 48h com projeções celulares (setas - 12,000X).

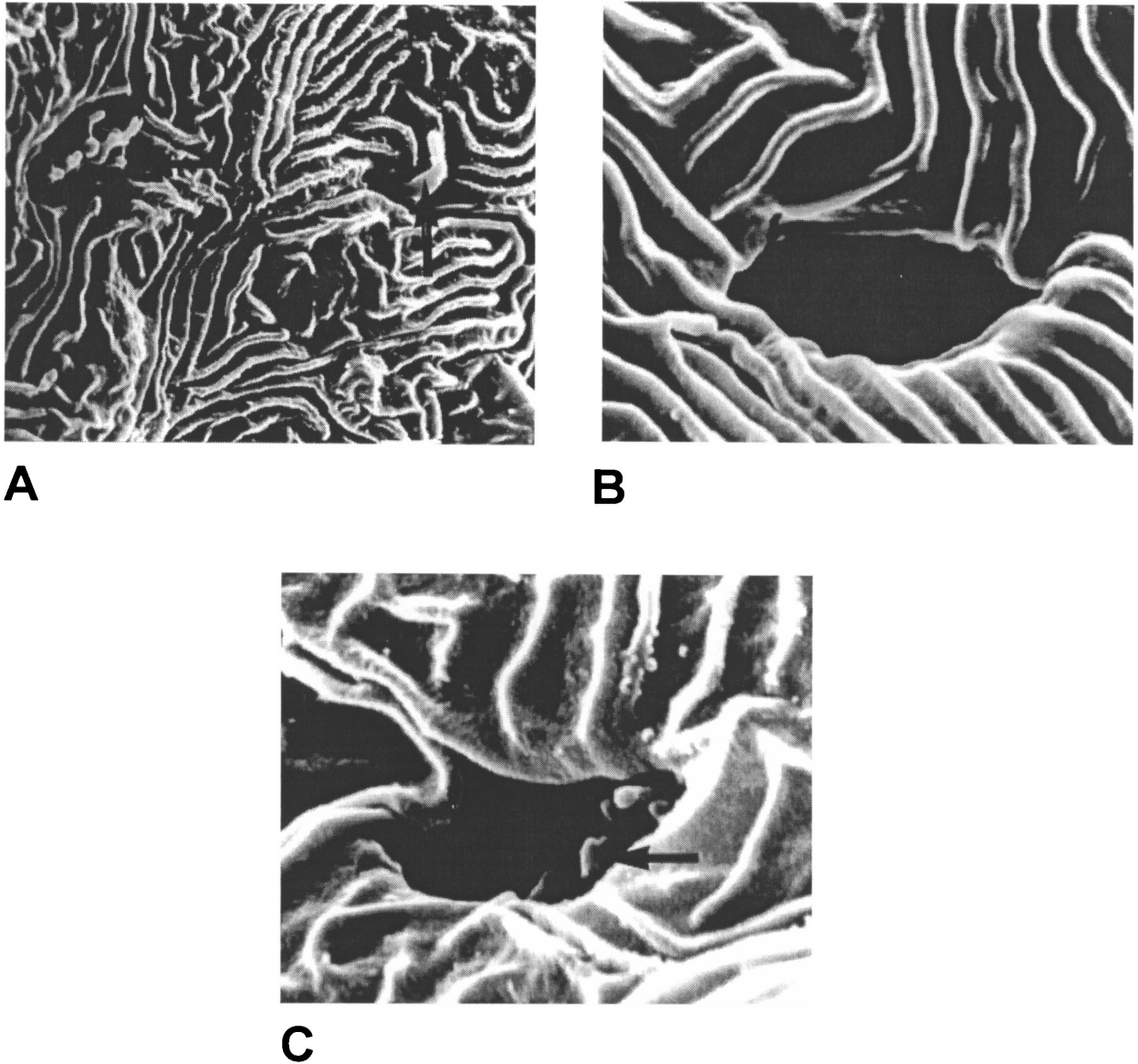


Figura 15. Eletronmicrografias de filamentos branquiais nas salinidade 1‰. **A)** região aferente do filamento apresentando poros das criptas apicais das células de cloro após 1h (550 X); **B)** detalhe do poro após 6h (12,200 X); **C)** detalhe do poro após 12h. Notar a presença de projeções citoplasmáticas (12,200 X).

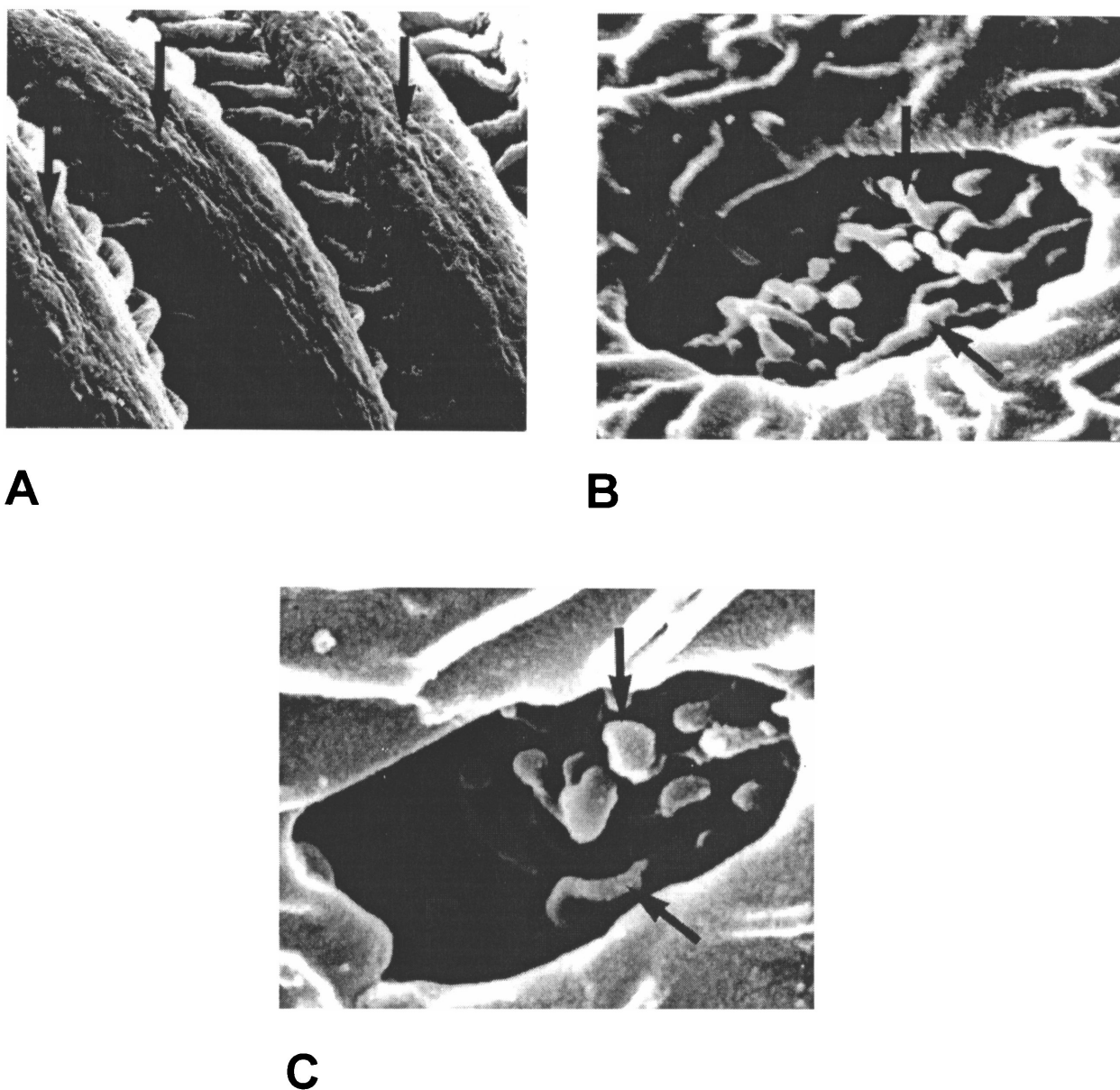


Figura 16. Eletronmicrografias de filamentos branquiais nas salinidades 0%. **A)** região aferente do filamento apresentando poros das células de cloro após 30 min (setas - 240X); **B)** detalhe do poro com inúmeras projeções celulares (setas) após 1 h (12,200X); **C)** detalhe do poro com projeções celulares após 6h (12,000X).

Tabela 6. Resultado da análise de variância bi-fatorial aplicada aos eixos maior e menor do poro da célula de cloro de *M. platanus*, comparando-se salinidades e tempos. Resultado da avaliação das diferenças significativas pelo teste de comparação múltipla da menor diferença significativa (MDS). NS- diferença não significativa *P< 0,05.

	EIXO MAIOR F	EIXO MENOR F
SALINIDADE (SAL)	3,65*	1,95 NS
TEMPO (T)	3,28*	4,28*
INTERAÇÃO	3,00*	2,45*

MDS	EIXO MAIOR	<u>SAL0</u>	<u>SAL1</u>	<u>SAL3</u>	<u>SAL5</u>	<u>SAL15</u>	<u>SAL34</u>	
		<u>T6</u>	<u>T1</u>	<u>T3</u>	<u>T12</u>	<u>T24</u>	<u>T48</u>	<u>T96</u>

DISCUSSÃO

Segundo Menezes (1983) e Menezes & Figueredo (1985) *Mugil platanus* é muito semelhante a *Mugil liza*, diferenciando-se desta principalmente por apresentar um maior número de escamas em série lateral. Para estes autores *M. liza* ocorre das Bermudas ao Rio de Janeiro e esporadicamente mais ao sul, já *M. platanus* aparece desde o Rio de Janeiro até Argentina. Braga (1978), afirma que *M. platanus* não ocorre na costa brasileira, existindo duas populações de *M. liza*, uma na região N-NE e outra na região S-SE, que se diferenciam através de algumas proporções corporais e no número de escamas em série lateral. Evidências de ocorrência conjunta foram constatadas na Baía de Sepetiba, RJ (Pitombo & Araújo, 1986), Cananéia, SP (Paiva *et al.*, 1987; Godinho *et al.*, 1988;) e na Baía de Paranaguá, PR (Corrêa, 1987).

Com a intenção de facilitar a separação das espécies *M. liza* de *M. platanus*, diversos autores vem direcionando esforços para identificar outros caracteres sistemáticos. Ao nível enzimático, Fenerich & Verani (1989), realizaram eletroforese do sistema isosímico da malatodesidrogenase, lactato desidrogenase e fosfoglicomerase. Com relação ao sangue, as hemácias foram analisadas por Ranzani-Paiva (1989) e Wilhelm (1989) estudou a heterogeneidade eletroforética das hemoglobinas. Já o padrão eletroforético de proteínas gerais do cristalino foram estudadas por Vazoller *et al.* (1989). Apesar de Hochberg *et al.*, (1987) afirmarem que existem diferenças marcantes entre as espécies de mugilídeos ao nível dos cromossomos, nenhum dos métodos bioquímicos testados conseguiu apresentar resultados satisfatórios para a distinção entre *M. liza* e *M. platanus*.

Apesar das inúmeras controvérsias citadas e do tamanho reduzido dos exemplares, neste trabalho não tivemos problemas para identificar os exemplares através das chaves para as espécies do gênero *Mugil* (Menezes, 1983; Menezes & Figueiredo, 1985). Os exemplares apresentaram em média mais de 37 escamas em série lateral, uma característica que achamos ser confiável, embora Paiva *et al.* (1987) e

Scorvo-Filho *et al.* (1988) tenham desaconselhado o uso isolado desta contagem para a separação das espécies *M. liza* e *M. platanus*.

Segundo Laurent (1984), as características estruturais e organizacionais dos arcos branquiais de peixes parecem estar relacionadas com a posição taxonômica dos mesmos. O padrão de organização dos arcos branquiais dos juvenis de *M. platanus*, no que se refere ao número e posição dos arcos na cavidade opercular, e a posição dos filamentos e rastelos sobre os arcos, é o mesmo observado nos arcos branquiais dos demais teleósteos (Gray, 1954; Lagler *et al.*, 1977; Hughes, 1984; Laurent, 1984).

Os arcos branquiais são formados pôr vários ossos, cuja função principal é dar suporte aos filamentos. São constituídos na região dorsal pelo osso epibranquial e na região ventral pelos ossos ceratobranquial e hipobranquial (Barletta & Corrêa, 1992). Os arcos branquiais dos teleósteos também se caracterizam por apresentarem uma forma côncavo-convexa no sentido medial para lateral, ditada provavelmente, pela curvatura da cavidade onde estão inseridos (Hughes, 1984), e uma curvatura voltada para a região posterior do peixe, evidenciada nas primeiras fases de desenvolvimento da brânquia, mesmo antes do aparecimento de filamentos e rastelos (Hughes, 1984). Tal curvatura pode variar ao longo dos quatro arcos, sendo o ângulo da mesma determinado pela posição relativa dos ossos de sustentação e pelo posicionamento dos arcos dentro da cavidade opercular.

O segundo arco branquial (ABII), é considerado pelos pesquisadores como possuidor de características representativas dos demais arcos, e tem sido utilizado para estudos descritivos (Hossler *et al.*, 1979a,b; Hossler, 1980; Hossler & Marchant, 1983) e comparativos (Eiras-Stofella, 1994). Eiras-Stofella (1994) comparando o ABII de diversas espécies marinhas e de água doce, encontrou uma variação a nível de ordem, na posição do ângulo formado entre os ossos epibranquial e ceratobranquial, e a nível de espécie, na abertura deste. Em mugilídeos, Eiras-Stofella (1994) descreve o ABII como tendo um contorno nitidamente arredondado sem formar ângulo acentuado na

região dorsal, fato que também pode ser observado nos ABII dos juvenis de *M. platanus*.

O número de rastelos encontrados em juvenis de *M. platanus* de 2,6 a 3,6 cm de comprimento, é menor do que o número de rastelos em *Mugil curema* de 26,5 a 32 cm, em *Mugil liza* de 49,3 a 58,7 cm e em *M. platanus* de 47 a 52.8 cm (Eiras Stofella, 1994). De maneira geral, observa-se um aumento do número de rastelos ao longo do desenvolvimento dos peixes, ocorrendo a fixação deste carácter quando da primeira maturação sexual, fato que explicaria o maior número nos mugilideos estudados por Eiras Stofella (1994). Em *M. curema* e *M. liza*, Braga (1982) constatou a fixação do número de rastelos quando estas espécies atingem comprimentos de 30 cm e 40 cm, respectivamente.

Diferenças no número de rastelos entre regiões de um mesmo arco podem estar correlacionadas com o hábito alimentar da espécie ou até mesmo com o gênero (Ojha *et al.*, 1987). Neste trabalho constatou-se em *M. platanus*, a presença de um maior número de rastelos na fileira medial em comparação com a fileira lateral, o que concorda com as observações anteriormente feitas nesta espécie e em *M. liza* e *M. curema* (Eiras Stofella, 1994). A grande quantidade de rastelos alongados, próximos entre si e posicionados em direção à cavidade faríngea observados em *M. platanus*, são indicações de que a espécie é filtradora, e que obtém o alimento através de uma seleção passiva retendo partículas pelos próprios rastelos ou por muco (Ojha *et al.*, 1987; Eiras Stofella, 1994). Nas primeiras fases de desenvolvimento presentes no mar aberto, as espécies de mugilideos apresentam o hábito alimentar planctônico (Benetti & Fagundes Netto, 1983; Ojha *et al.*, 1987). Após obterem a capacidade de nadar ativamente, aproximam-se da costa, penetrando nos estuários para se desenvolver. Neste ambiente encontram um novo tipo de alimento, o que ocasiona mudanças na sua estratégia alimentar, tornando-se detritívoros. Consomem grande variedade de alimentos presentes no substrato das porções rasas dos estuários (Braga, 1982) alimento que consiste basicamente de, diatomáceas, cianofícias do

perifiton e zooplâncton (Godinho *et al.*, 1988) juntamente com matéria orgânica em decomposição, finamente particulada (Braga, 1982).

Os alimentos ingeridos pelos peixes devem ser reconhecidos antes da ingestão, por estruturas adequadamente localizadas, especializadas na quimiorrecepção (Schmidt-Nielsen, 1990). Os tufo microvilosos observados na borda anterior dos rastelos do ABII de juvenis de *M. platanus*, são semelhantes aos tufo microvilosos de botões gustativos observados na mesma região em rastelos de *Mugil cephalus* (Hossler & Marchant, 1983), em *Rhinomugil corsula* e *Sincamugil cascasia* (Ojha *et al.*, 1987), e em *M. platanus*, *M. liza* e *M. curema* (Eiras Stofella, 1994). Ao comparar botões gustativos de *M. cephalus* com *Fundulus heteroclitus*, Hossler & Marchant (1983) não encontraram diferenças na ultraestrutura de ambas as espécies, afirmando que são praticamente indistinguíveis. Portanto pode-se concluir que, devido a localização e a similaridade ultraestrutural entre os botões gustativos, os tufo microvilosos encontrados nos rastelos de juvenis *M. platanus*, são estruturas pertencentes a botões gustativos.

A presença de muco aumenta a eficiência dos rastelos, facilitando a limpeza da superfície e a exposição dos quimiorreceptores no processo de seleção e detenção do alimento e percepção de características químicas do ambiente. Durante as observações, não foram evidenciados poros de células secretoras de muco nos rastelos dos juvenis de *M. platanus*, embora seja bem documentada a presença desta estrutura ao longo dos rastelos de mugilideos, podendo o número de poros estar correlacionado com a estratégia alimentar da espécie (Hossler *et al.*, 1979a,b; Hossler, 1980, Hossler & Marchant, 1983; Ojha *et al.*, 1987; Eiras Stofella, 1994). Porém a presença de micropregas nas células pavimentosas de *M. platanus* é um forte indicativo da existência de células secretoras de muco nos rastelos destes juvenis. Eiras Stofella (1994) observou uma escassez de botões gustativos e uma abundância de células secretoras de muco nos rastelos de adultos de *M. platanus*, *M. curema* e *M. liza*.

As projeções secundárias, presentes nos rastelos, foram observadas em diversas espécies de peixes. A função das projeções secundárias nos rastelos de mugilideos não está completamente compreendida, porém as formas observadas parecem ser exclusivas de espécies da família (Hossler et al., 1979a; Hossler & Merchant, 1983; Ojha et al., 1987; Eiras Stofella, 1994). Projeções secundárias simples foram evidenciadas em todo o ABI e na região ventral do ABII dos juvenis de *M. platanus*. Tal como em *M. cephalus* (Hossler & Marchant, 1983), *M. platanus*, *M. lisa* e *M. curema* (Eiras Stofella, 1994), os botões gustativos estão presentes no ABII exclusivamente na região entre as projeções secundárias simples. Embora não se tenha examinado a ultraestrutura do ABI de juvenis de *M. platanus*, a existência neste arco de projeções secundárias simples, parece indicar a presença de botões gustativos também neste arco, o que parece ser bastante adequado ao processo de seleção de alimentos. Na espécie estudada, a presença de projeções secundárias simples em todo o ABI e na região ventral do ABII, estaria relacionada com um processo seletivo menos eficiente de partículas pequenas, que constituem a maior parte da alimentação de peixes desta família (Braga, 1982), e que de certa forma não oferecem perigo às lamelas respiratórias. Por outro lado, a presença de projeções secundárias complexas na região dorsal do ABII e em todo o ABIII e ABIV, estaria relacionada com a necessidade de um mecanismo de filtração mais eficiente, capaz de evitar que porções do material aglutinado atinjam e danifiquem as lamelas respiratórias.

O filamento é considerado uma unidade branquial pois, além do seu importante papel na sustentação das lamelas respiratórias, contém estruturas de significado funcional, que incluem o ponto de controle vascular do sistema branquial, um sistema motor próprio e a presença de diferentes tipos de epitélios (Laurent & Dunel, 1980; Laurent, 1984).

O comprimento do filamento acompanha o crescimento do peixe e variações no comprimento deste podem ser observadas ao longo de uma hemibrânquia e entre hemibrânquias de um mesmo arco (Hughes, 1984). De maneira geral, encontram-se filamentos de tamanhos reduzidos nas

extremidades do arco, que aumentam progressivamente de tamanho em direção à região mediana do arco. Em algumas espécies é observado um pico no comprimento dos filamentos próximo ao terço superior do arco (Hughes, 1984). Porém, Eiras-Stofella (1994) recomenda a não generalização deste padrão pois, entre as doze espécies por ela estudada, isto foi observado apenas em *Eugerres brasiliensis*, *Oligoplitis palometa* e *Prochilodus scrofa*. Uma variação mais comum observada em arcos de diversas espécies, é a presença de dois picos no comprimento do filamento, um geralmente situado na porção dorsal do arco e um segundo, maior, situado na porção ventral (Hughes, 1984). Este padrão pode ser observado somente no ABI dos juvenis de mugilídeos analisados. Nos demais arcos, o pico no comprimento foi evidenciado apenas na região ventral.

A variação no comprimento dos filamentos em uma mesma hemibrânquia e entre hemibrânquias do ABII encontrada nos juvenis de *M. platanus* analisados, foi a mesma encontrada nos ABII das espécies de mugilídeos estudados por Hossler *et al.* (1985), Ojha *et al.* (1987) e Eiras-Stofella (1994), podendo esta característica, ser específica para a família. Segundo Hughes (1984), existe uma diferença no comprimento do filamento entre as hemibrânquias de um mesmo arco. Este autor observou que nos ABI e ABII de algumas espécies, os filamentos da hemibrânquia medial são usualmente maiores que os da hemibrânquia lateral. Nos juvenis de *M. platanus*, esta configuração foi apresentada apenas pelo ABIV. Nos demais arcos, a hemibrânquia medial foi maior que a lateral, somente na região mediano-dorsal, sendo que nas outras áreas, os filamentos da hemibrânquia lateral passam a ser maiores. Hughes *et al.* (1984), estudando *Scyliorhynchus stellaris*, constatou que as diferenças no comprimento do filamento estão correlacionadas com a orientação do sistema do arco branquial e serve para assegurar a justaposição correta das extremidades dos filamentos das duas hemibrânquias em um dado arco, fato que também pode explicar a variação no tamanho dos filamentos entre os arcos de juvenis de *M. platanus*.

O número de filamentos assim como de lamelas respiratórias podem estar relacionados tanto com a posição sistemática do peixe como com o seu modo de vida (Hughes, 1984). Durante as primeira fases de desenvolvimento ocorre um aumento marcante no número de filamentos em um arco, tendendo-se a estabilizar-se após atingir a fase adulta (Hughes, 1984; Laurent, 1984). O número médio de filamento nas hemibrânquias dos juvenis de *M. platanus* encontrado neste trabalho, foi maior que o número médio de filamentos nas hemibrânquias de *Brachydanio rerio* encontrados por Karlsson (1983) e semelhante ao número médio de filamentos nas hemibrânquias de *F. heteroclitus* encontrados por Hossler *et al.* (1985).

A alternância encontrada entre as bases de inserção dos filamentos das hemibrânquias lateral e medial nos arcos branquiais de peixes, faz com que o número de filamentos em uma dada hemibrânquia seja sempre diferente da outra (Hughes, 1984), fato que explicaria a diferença encontrada entre as hemibrânquias do ABII de juvenis de *M. platanus* examinados neste trabalho. O número significativamente maior de filamentos na hemibrânquia lateral pode estar correlacionada à curvatura côncavo-convexa apresentada pelos arcos, onde a maior área proporcionada pela convexidade da região lateral permite a inserção de um maior número de filamentos, quando comparada a área proporcionada pela concavidade da região medial.

Essencialmente as lamelas são constituídas por dois epitélios separados por uma série de células pilares entre as quais o sangue pode fluir, promovendo as trocas gasosas entre a água e o sangue (Hughes, 1984). Dentro do processo de respiração, as lamelas são as unidades mais importantes no sistema branquial (Hughes, 1966).

Entre as espécies de peixes são óbvias as diferenças com relação ao tamanho e o número destas lamelas (Hughes, 1984). A dimensão e forma das lamelas varia com a posição ao longo de cada filamento, e está associada, provavelmente, ao melhor aproveitamento da água de ventilação (Hughes, 1984).

A frequência e o tamanho das lamelas determina a área respiratória branquial, que varia consideravelmente com a atividade do peixe (Gray, 1954; Rajbanshi, 1977). O número médio de lamelas por milímetro de filamento branquial observado no presente trabalho em juvenis de *M. platanus*, é típico dos peixes de atividade intermediária (Gray, 1954; Hughes, 1984). Nestes juvenis de *M. platanus* as lamelas são numerosas e de tamanho médio quando comparadas com outros teleósteos de atividade intermediária, como *Mugil cephalus* (Gray, 1954; Hossler *et al.*, 1985), *Fundulus heteroclitus* (Hossler *et al.*, 1979a) e *Geophagus brasiliensis* (Mimura & Fernandes, 1979). Por outro lado, a maior frequência de lamelas por milímetro observada neste trabalho nos juvenis de *M. platanus* (37) em comparação com os valores médios (18-25) registrados por Hughes (1984) para peixes de atividade intermediária, pode ser uma indicação de que a espécie estudada esteja mais próxima do grupo de peixes mais ativos, ou que simplesmente esta maior frequência tenha relação com o estágio de desenvolvimento do peixe (Hossler *et al.*, 1986), ou com a espécie. Hughes *et al.* (1984) observaram em *Scyliorhinus stellaris*, uma diminuição das frequências de lamelas respiratórias com o crescimento do peixe, ocorrendo no final do crescimento apenas um pequeno aumento no número desta estrutura. O grande número de lamelas por milímetro observado nos jovens de *M. platanus* em comparação a mugilídeos adultos (Gray, 1954), estaria refletindo um maior consumo de oxigênio nas fases iniciais do ciclo de vida destes peixes, resultado de intensa atividade metabólica associada a certos padrões comportamentais específicos destes estágios.

Neste trabalho, o segundo arco branquial (ABII) de jovens de *M. platanus*, apresentou células pavimentosas com micropregas cobrindo arcos, rastelos e suas projeções secundárias e filamentos, não aparecendo sobre as lamelas respiratórias.

As micropregas são dobras rígidas da membrana aparentemente mantidas por uma rede filamentosa no citoplasma (Sperry & Wassersug, 1976). São encontradas em vários vertebrados, sendo que em peixes ocorrem nos epitélios opercular (Karnaky & Kinter, 1977), corporal

(Hossler *et al.*, 1979a), do interior do esôfago (Sperry & Wassersug, 1976), entre outros. Sob o microscópio eletrônico de varredura, as micropregas apresentam-se concentricamente arranjadas em forma de espiras, podendo apresentar entre si, pequenas diferenças na forma e tamanho (Eiras-Stofella, 1994).

Várias são as funções atribuídas às micropregas. Olson & Fromm (1973), Hughes (1979) e Ojha *et al.* (1987), sugerem que as micropregas geram microturbulências na água, aumentando o tempo de contato da água com o epitélio, permitindo uma maior difusão de oxigênio para o tecido. No entanto, é mais aceita a idéia de que esta estrutura estaria atuando em conjunto com os epitélios secretores, facilitando a fixação e difusão do muco sobre as células pavimentosas (Sperry & Wassersug, 1976; Hughes & Munshi, 1978; Hughes, 1979; Hughes & Mondofino, 1983; Hossler *et al.*, 1985; Eiras-Stofella, 1994). Embora não se tenha observado poros de células secretoras de muco nos ABII de *M. platanus*, estruturas celulares muito bem documentadas em mugilídeos (Hossler *et al.*, 1979a; Hossler & Marchant, 1983; Ojha *et al.*, 1987; Eiras-Stofella, 1994), provavelmente também nesta espécie as micropregas estariam funcionalmente associadas a secreção de muco.

Foram observadas micropregas com diferentes comprimentos nas células pavimentosas do epitélio branquial primário de *M. platanus*. Margeando as células, estão presentes micropregas longas e contínuas formando um nítido contorno, micropregas curtas ou sob a forma de traço predominam sobre a membrana, sendo em forma de traço e de ponto nas proximidades e entre as lamelas. Além da possibilidade de tais padrões de variação no tamanho das micropregas serem característicos de espécie (Laurent, 1984; Ojha *et al.*, 1987), a presença de micropregas pequenas e pontuadas ao redor das lamelas de *M. platanus*, concorda com a afirmação feita por Hughes (1979) de que estas estruturas parecem estar sempre associadas a regiões onde o fluxo de água é mais rápido.

A camada de muco frequentemente associada às micropregas das células pavimentosas, atua como lubrificante facilitando o movimento de

partículas alimentares e principalmente protege as superfícies celulares da abrasão superficial pela água, função esta atribuída a algumas moléculas de cadeias longas, provavelmente hidrófobas (Hughes, 1979). O muco também possui propriedades difusionais que atuam no fluxo de água e íons entre o epitélio e o meio (Hughes & Munshi, 1978; Laurent, 1984; Franklin, 1990).

As micropregas não foram observadas nas lamelas respiratórias dos juvenis de *M. platanus*, assim como em exemplares maiores de *M. platanus*, *M. liza* e *M. curema* (Eiras-Stofella, 1994) e *M. cephalus* (Hossler *et al.*, 1979a). A presença de micropregas nas lamelas, provavelmente aumentaria a distância entre o sangue e a água pela presença da camada de muco (Ojha *et al.*, 1987), ou permitiria que partículas ficassem aderidas, dificultando as trocas gasosas (Eiras-Stofella, 1994). No entanto, micropregas foram observadas nas lamelas de *Salmo gairdneri* (Hughes, 1979), *F. heteroclitus* (Hossler *et al.*, 1985), *Saccobranchus fossilis* (Hughes & Munshi, 1978), *Seriola quinqueradiata* (Hughes & Mondofino, 1983) e *Oncorhynchus nerka* (Franklin, 1990).

A presença em juvenis de *M. platanus* de micropregas nas projeções secundárias dos rastelos e na área entre estas projeções, está de acordo com as observações feitas por Eiras-Stofella (1994) em *M. platanus*, *M. liza* e *M. curema* e difere do observado em *M. cephalus* (Hossler *et al.*, 1979a). É provável que esta presença conjuntamente com o muco, represente um aumento na eficiência de captação de alimentos, proteção da estrutura celular e no processo de difusão de água e íons através do epitélio branquial.

Foi observado no ambiente que os juvenis de *M. Platanus* são frequentemente vistos em regiões rasas da costa, principalmente próximos a zona de praia. Em períodos de preamar de sizígia ocorre o contato da água salgada com a água doce dos canais de drenagem da restinga (Angulo, 1992) o que permite a penetração dos juvenis nestes canais, onde ficam aprisionados até que se restabeleça a ligação entre o mar e a restinga. Neste novo ambiente ficam expostos agora, a um meio

onde a salinidade frequentemente chega a zero, dependendo do aporte de água doce.

Lasserre & Galis (1975) registram que *Liza ramada* pode permanecer cerca de seis meses em tanques com água doce. Chervinsky (1978) coloca que *Mugil cephalus* e *Liza ramada* podem ser cultivadas em tanques com água doce e também ser introduzidas em lagos. A capacidade de permanecer por longos períodos em ambientes dulcícolas, indicam que as espécies da família Mugilidae são fortes candidatas para o cultivo isolado ou consorciado com outros peixes na água doce (Pruginin *et al.*, 1975; Pillai *et al.*, 1985).

Neste estudo foi demonstrado que os juvenis de *M. platanus*, sob condições controladas de laboratório, não foram capazes de tolerar a transferência direta da água salgada para a água doce. Resultados semelhantes foram encontrados em juvenis de *Mugil curema* (Mendez, 1983; Fanta-Feofiloff *et al.*, 1986) e em juvenis de *Chelon labrosus* (Lasserre & Galis, 1975). Entretanto, sabe-se que mediante um período de pré-adaptação em salinidades baixas, seguida de diluições gradativas até a água doce, diversas espécies de mugilídeos puderam sobreviver e crescer na água doce (Chervinsky, 1978; Galis *et al.*, 1979; Mendez, 1983). Segundo Mendez (1983), a salinidade mínima em que se deve iniciar a aclimação a água doce para juvenis de *M. curema* é 3‰, a menor salinidade que apresentou 100 % de sobrevivência, uma taxa bem superior a 62% observada para *M. platanus* nesta salinidade. Baseando-se neste resultado, pode-se supor então que para os juvenis de *M. platanus*, a salinidade mínima para o início da aclimação para um eventual cultivo em água doce seja 5‰, a menor salinidade onde se observou quase 100% de sobrevivência.

Fanta-Feofiloff *et al.* (1986) constataram que na salinidade 1,7‰ os juvenis *M. curema* apresentaram vários sinais de estresse, como a alteração na coloração, um padrão irregular de natação e um maior tempo de repouso. Este padrão foi apresentado pelos juvenis de *M. platanus* durante os experimentos de sobrevivência, e foram sempre indicativos da morte do exemplar nas próximas horas. Em relação a

coloração, tanto em *Mugil curema* (Fanta-feofillof *et al.*, 1986) como nos juvenis de *M. platanus*, animais estressados apresentaram o dorso escurecido, o que difere das observações feitas por Méndez (1983) em juvenis de *M. curema*, onde relata que os animais estressados apresentaram dorso claro.

Fanta-Feofillof *et al.* (1986) mencionaram que a salinidade 34‰, foi estressante para os juvenis de *M. curema*. No que se refere aos juvenis de *M. platanus* aqui estudados, a salinidade 34‰ usada para a aclimação no experimento da célula de cloro, não provocou qualquer alteração de comportamento que indicasse estresse. O mesmo aconteceu nos experimentos de sobrevivência de juvenis de *M. platanus*, quando utilizou-se para o período de aclimação uma água com salinidade 30‰. Méndez (1983), também utilizou a salinidade 30‰ para a aclimação de juvenis de *M. curema*, não registrando qualquer alteração no comportamento.

Um teleósteo eurihalino quando se encontra em um ambiente de água salgada, hiperosmótico em relação ao seu fluído corporal, sofre um influxo passivo de íons do meio através de suas membranas corporais. Para balancear o excesso iônico, as brânquias passam a secretar Na^+ e Cl^- através das células de cloro (CCs). O processo de transporte destes íons está extensivamente discutido e os modelos atuais demonstram que o Cl^- é excretado ativamente através da membrana apical da CC. O desenvolvimento das "Leaky junction" e interdigitações nas células de cloro parecem estar correlacionadas com a adaptação a água salgada, estando associada com o aumento da permeabilidade das brânquias (Sardet *et al.*, 1979; Laurent & Dunel, 1980; Hwang & Hirano, 1985; Hwang *et al.*, 1989) e suporta o modelo da permuta paracelular do íon Na^+ através das "leaky junction" (Ernest *et al.*, 1980; Karnaky, 1980; Hwang *et al.*, 1989). As alterações morfológicas das CCs são talvez as mais bem documentadas respostas de um peixe eurihalino na transferência da água doce para salgada e vice-versa. Durante uma exposição a altas salinidades, as CCs apresentam respostas diferentes dependendo da espécie. Enquanto Copeland (1948), Kessel & Beams

(1962) e Philpott & Copeland (1963) não observaram mudanças evidentes nas CCs quando expostas a água salgada, outros autores constataram um aumento no número e a aquisição da cripta apical (Virabhdchari, 1961; Shirai & Utida, 1970; Newstead, 1971; Pisam, 1981; Avella *et al.*, 1987) e um aumento de tamanho (Shirai & Utida, 1970, Pisam, 1981; Pisam *et al.*, 1987, 1988).

Na passagem para a água doce, o peixe eurihalino torna-se hiperosmótico em relação ao meio, passando a sofrer uma perda considerável de íons através do epitélio corporal e via urinária. Para compensar a deficiência, o peixe passa a absorver ativamente Na^+ e Cl^- do meio, através das brânquias (Krog, 1939; Maetz, 1971; Fosket *et al.*, 1983; Karnaky, 1986; Maina, 1990). O local preciso para a absorção iônica neste epitélio ainda não está completamente definido (Karnaky, 1986; Evans, 1993) porém, evidências recentes apontam conclusivamente a participação das células de cloro no processo de absorção de Na^+ e Cl^- no epitélio branquial (Perry & Laurent, 1989; Goss & Perry, 1994). A absorção destes íons está associada a um mecanismo de troca de Na^+/H^+ ou $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ e $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^{--}$, o qual também participa da excreção dos produtos nitrogenados e do balanço ácido-base (Laurent & Perry, 1990; Perry *et al.*, 1992; Evans, 1993; Goss & Perry, 1994).

As células de cloro foram abundantes sobre o lado associado à superfície aferente das brânquias de juvenis de *M. platanus*, como em outros teleósteos (Keys & Wilmer, 1932; Copeland, 1948, 1950; Vickers, 1961; Doyle & Goreky, 1961; Philpott & Copeland, 1963; Shirai & Utida, 1970; Sardet *et al.*, 1979; Hottman & Philpott, 1978, 1979; Hossler *et al.*, 1979a,b, 1985; Hossler, 1980; Laurent & Dunel, 1980; Dunel-Erb & Laurent, 1980; Hossler & Marchant, 1983; Franklin, 1990; King & Hossler, 1991).

Segundo Maina (1990) a adaptação de um peixe a um novo ambiente ocorre em um curto período de tempo, sendo mais rápida na água doce no que na salgada (Copeland, 1950). Em juvenis de *M. platanus* uma rápida resposta à diminuição na concentração salina, foi evidente na salinidades abaixo de cinco, principalmente na água doce,

onde se observou um acentuado aumento dos poros das CCs em apenas quinze minutos de experimento. Alterações rápidas também foram constatadas em *M. cephalus* (Hossler, 1980) e *Kareurius bicoloratus* (Hwang & Hirano, 1985), nas quais as mudanças no poro ocorreram em três horas após a passagem para a água doce. Respostas mais lentas na transferência para a água doce foram observadas em *Lebistes reticulatus* (Straus, 1963) e *Anguilla japonica* (Shirai & Utida, 1970). Tais diferenças poderiam estar correlacionadas com a capacidade de eurihalinidade dos peixes (Hwang & Hirano, 1985; Hwang, 1987, 1988; Hwang *et al.*, 1989).

Em teleósteos adaptados à água doce, as CCs apresentam o poro com maior diâmetro contendo muitas vezes projeções celulares (Hossler *et al.*, 1979a, 1985; Hossler, 1980). Essas alterações na estrutura e no diâmetro do poro de CCs, foram observadas no juvenis de *M. platanus* e são similares a mudanças constatadas anteriormente em *Fundulus heteroclitus* (Copeland, 1948; Doyle & Goreky, 1961; Kessel & Beams, 1962; Philpott & Copeland, 1963; Hossler *et al.* 1985), *Gasterosteus aculeatus* (Bierther, 1970), *Anguilla* sp. (Doyle & Epstein, 1972), *Anguilla japonica* (Shirai & Utida, 1970), *Mugi cephalus* (Hossler *et al.*, 1979b; Hossler, 1980) *Kareurius bicoloratus* (Hwang & Hirano, 1985) e *Salmo trutta* (Brown, 1992).

Hossler (1980) observou que em *M. cephalus*, mantido na salinidade 10‰, os poros da CCs apresentaram de 1 a 5 μm e numerosas projeções celulares na sua superfície. Após 24h os poros na água doce tinham um diâmetro médio de 3-6 μm . Em *Fundulus heteroclitus* (Hossler *et al.* 1985), os poros na água salgada mediram 1x2 μm e 2x5 μm na água doce. O valor médio no diâmetro dos poros das CCs de salmão variou de $9,2 \pm 1,8 \mu\text{m}$ na água salgada a $10,7 \pm 5 \mu\text{m}$ na água doce (Franklin, 1990). Considerando-se a existência de possíveis diferenças entre as espécies e peixes de diferentes tamanhos, as alterações observadas neste trabalho estão mais próximas das constatadas por Hossler *et al.* (1985) em *Fundulus heteroclitus*. Em *M. platanus* os poros mediram 0,50 μm x 1,50 μm na água salgada e 0,50 x 5 μm na água doce.

Maina (1990) observou em *Oreochromis alcalicus grahami* que as modificações morfológicas das CCs não são um fenômeno de tudo ou nada, e que o grau de resposta é dependente do gradiente de salinidade do ambiente, da espécie e do estágio de desenvolvimento. A resposta diferenciada dos poros das CCs de brânquias de *M. platamus* submetidas ao mesmo tratamento, com somente parte dos poros alterando suas dimensões, parece concordar com a afirmação de que a resposta das CCs não é uniforme. Tal fato em conjunto com a dificuldade de se estabelecer um campo amostral representativo do fenômeno, poderia explicar a ausência de uma tendência esperada nos valores médios dos eixos dos poros ao longo do tempo (Tab. 7).

Tabela 7. Valores médios dos eixos maior e menor dos poros das células de cloro de juvenis de *Mugi platamus* ao longo do tempo.

TEMPO	34‰	15‰	5‰	3‰	1‰	0‰
15'	_____	_____	_____	_____	_____	2,32 X 1,43
30'	_____	_____	_____	_____	_____	2,31 X 1,56
45'	_____	_____	_____	_____	_____	1,23 X 0,86
1 h	0,78 X 0,70	0,67 x 0,6 0	0,80 X 0,70	0,96 X 0,70	1,41 X 1,13	1,62 X 1,106
3 h	1,12 X 0,75	0,84 X 0,76	0,85 X 0,83	0,92 X 0,68	1,59 X 1,15	2,38 X 1,53
6 h	0,86 X 0,81	0,84 X 0,76	1,14 X 0,92	1,50 X 1,01	1,77 X 1,18	2,42 X 1,92
12 h	0,79 X 0,72	1,01 X 0,93	0,95 X 0,67	0,95 X 0,68	0,72 X 0,54	+
24 h	0,77 X 0,59	1,20 X 0,60	0,91 X 0,71	0,97 X 0,68	0,87 X 0,65	+
48 h	0,80 x 0,64	0,9 x 0,77	0,95 x 0,83	0,91 x 0,65	1,06 x 0,82	+
96 h	0,84 x 0,70	1,00 x 1,00	1,10 x 0,83	1,12 x 0,83	1,11 x 0,88	+

+ = 0% de sobrevivência.

Quando os peixes são transferidos para a água doce, as respostas morfológicas e bioquímicas podem acontecer após uma resposta fisiológica. Epstein *et al.*, (1980) transferiu *Anguilla* sp. adaptada à água salgada para a água doce por apenas duas horas, e observou uma queda

brusca na taxa de efluxo de Na^+ e Cl^- , sem a concomitante alteração da Na-K-ATPase, sugerindo então que este ponto de mudança no efluxo pode ser o resultado do efeito de hormônios (prolactina) sobre as “leaky junctions” das CCs-CCs ou na permeabilidade da membrana apical das mesmas, fornecendo uma proteção imediata contra a desmineralização. Esta proteção imediata para o peixe abruptamente transferido para diferentes salinidades, provavelmente propiciada por uma alteração instantânea da permeabilidade da membrana, através de um mecanismo hormonal, poderia explicar a ausência de mortes entre os juvenis de *M. platanus* transferidos para as salinidade 15‰ e 5‰, nas quais as variações morfológicas embora presentes, não diferenciaram significativamente do controle. Segundo Hwang & Hirano (1985) as salinidade intermediárias provocam apenas uma parte da resposta da resposta das CCs. Tal processo hormonal assim como as amplas e rápidas alterações no poro das CCs, parecem não ter sido suficientes para garantir a sobrevivência dos exemplares dos juvenis de *M. platanus* transferidos diretamente para salinidade 3‰, 1‰ e 0‰ (Tab. 8).

Hossler (1980) estudado *M. cephalus* concluiu que estas dramáticas alterações na morfologia do poro, parecem representar uma resposta adaptativa normal de tainhas eurihalinas a mudanças de salinidade, porque as mudanças foram completamente reversíveis e não foi observada nenhuma alteração no comportamento do peixe que indicasse estresse. Com base nos resultados do experimento com juvenis de *M. platanus*, podemos supor que a espécie possui uma capacidade de osmorregulação suficiente para sobreviver dentro das restingas e demais áreas, onde a alteração da salinidade se manifesta de maneira gradativa, e que os gradientes de salinidade geralmente presentes nestas áreas podem permitir adaptação gradativa da espécie à água doce.

Tabela 8. Resultados da análise de variância uni-fatorial aplicada aos eixos maior e menor dos poros das células de cloro de *M. platanus*, considerando-se como fator fixo a salinidade comparando-se os tempos. NS-diferença não significativa. * $p < 0,05$

Salinidade	EIXO MAIOR F	EIXO MENOR F
34	1,67 NS	0,97 NS
15	2,83 *	2,49 *
5	2,56 *	1,52 NS
3	3,64 *	3,49 *
1	7,98 *	7,42 *
0	7,03 *	7,98 *

CONCLUSÕES

- Os juvenis de *M. Platanus* são teleósteo eurihalinos, filtradores e nadadores ativos.
- Os arcos branquiais de *Mugil platanus* não diferem de exemplares adultos da mesma espécie, e as diferenças observadas no número das estruturas branquiais, está correlacionada ao estágio de desenvolvimento do peixe.
- Os juvenis podem ser adaptados a água doce mediante um período de pré-adaptação na salinidade 5‰, seguido de diluições decrescentes até a salinidade 0‰.
- As células de cloro dos juvenis de *M. platanus*, podem ser aindicadas como participantes nos processos de absorção iônica durante a adaptação à água doce, por apresentarem alterações frente às variações de salinidade.
- As alterações observadas nos primeiros 15 min de adaptação a água doce, demonstram claramente que as modificações morfológicas são rápidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahuja, S.K. 1970. Chloride cell and mucus cell response to chloride-and-sulphate-enriched media in the gills of *Gambusia affinis affinis* (Baird & Girard) and *Catla catla* (Hamilton). *J.Exp.Zool.*, 173:231-250.
- Angulo, R.J. 1992. Geologia da planície costeira do estado do Paraná. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo. São Paulo, 334p.
- Avella, M.A.; Mansoni, M.B. & Mayer-costan, N. 1987. Gill morphology and sodium influx in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) acclimated to artificial fresh water environments. *J.Exp.Zool.*, 241:159-169.
- Barletta, M. & Corrêa, M.F.M. 1992. *Guia para a identificação de peixes da costa do Brasil*. Ed. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 131p.
- Bateman, J.B. & Keys, A. 1931 Chloride and vapour-pressure relations in the secretory activity of the gills of the eel. *J.Physiol.*, 75:226-240.
- Benetti, D.D. & Fagundes Neto, E.B. 1983. Desova, larvicultura e criação de tainhas. In:Manual de Maricultura. Ministério da Marinha. Instituto de Pesquisas da Marinha. Cap.VII. 57p.
- Benvelander, G. 1935. A comparative study of the branchial epithelium in fishes with special reference to extrarenal excretion. *J.Morphol.* 57:335-352.
- Bierther, M. 1970. The chloride cells of the stickleback. *Z.Zellforsch.Mikrosk.Anat.*, 107:421-440.
- Bornancin, M. & de Renziz, G. 1972. Evolution of the branchial sodium outflux and its components, especially the Na/K exchange and the Na-K-dependent ATPase activity during adaptation to sea water in *Anguilla anguilla*. *Comp.Biochem. Physiol.*, 43A:577-591.
- Borzone, C.A.; Botelho de Souza, J.R. & Soares, A.G. (prelo). Morphodynamic influence on the structure of inter and subtidal macrofaunal communities of subtropical sandy beaches. *Rev.Chil.Hist.Nat.*
- Braga, F.M. de S. 1978. *Estudo morfológico das espécies do gênero Mugil Linnaeus, 1758, da costa brasileira (30-33'S)*. Tese (Mestrado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. São Paulo, 110p.
- Braga, F.M. de S. 1982. Variação no número de rastros branquiais entre espécies de *Mugil* Linnaeus (Mugilidae, Teleostei) do litoral brasileiro. *Dusenía*, 13(2):81-91.

- Brown, P. 1992. Gill chloride cell surface-area is greater in freshwater-adapted adult sea trout (*Salmo trutta*, L.) than those adapted to seawater. *J.Fish Biol.*, 40:481-484.
- Burns, J. & Copeland, D.E. 1950. Chloride excretion in the head region of *Fundulus heteroclitus*. *Biol.Bull.Lab.Woods Hole*, 99:381-385.
- Butler, D.G. & Carmichel, F.J. 1972. (Na⁺-K⁺)-ATPase activity in eel (*Anguilla rostrata*) gills in relation to change in environmental salinity: role of adrenocortical steroids. *Gen.Comp.Endocr.*, 19:421-427.
- Carmo, M.A.M. & Lacerda, L.D. 1984. Limnologia de um brejo de duna em Maricá - RJ. In: *Restingas: origem, estrutura e processos*. Anais... Niterói-RJ. 15-25p.
- Chervinski, J. 1978. The use of coarse table salt in acclimatization of *Liza aurata* (Risso) and *Chelon labosus* (Risso)(=*Mugil chelo*) to fresh water. *Bamidgeh*, 2:23-25.
- Copeland, D.E. 1948. The cytological basis of chloride transfer in the gills of *Fundulus heteroclitus*. *J.Morph.*, 82:201-227.
- Copeland, D.E. 1950. Adaptive behavior of the chloride cell in the gil of *Fundulus heteroclitus*. *J.Morph.*, 87:369-379.
- Corrêa, M.F.M. 1987. *Ictiofauna da baía de Paranaguá e adjacências (litoral do Estado do Paraná-Brasil). Levantamento e produtividade*. (Mestrado). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 393.
- De Silva, S.S. & Pereira, P.A.B. 1976. Studies on the young grey mullet *Mugil cephalus*. L. I. Effects of salinity on food intake, growth and food conversion. *Aquaculture*, 7:327-338.
- Degnan, K.J. & Zadunaisky, A. 1982. The opecular epithelium: An experimental model for teleost gill osmorregulation and chloride secretion. In: J.A.Zadunaisky (ed), *Chloride transport in biological membranes*, pp. 295-318. Academic Press.
- Degnan, K.J.; KarnakyK.J.; Zadunaisky, J.A. 1977. Active chloride transport in the vitro opercular skin of a teleost (*Fundulus heteroclitus*), a gill-like epithelium rich in chloride cells. *J.Physiol.*, 271:155-191.
- Doyle, W.L. & Gorecki, D. 1961. The so-called chloride cell of fish gill. *Physiol.Zool.*, 34:81-85.

- Doyle W.L. & Epstein, F.H. 1972. Effects of cortisol treatment and osmotic adaptation on the chloride cells in the eel, *Anguilla rostrata*. *Cytobiologie*, 6:58-73.
- Dunel-Erb, S. & Laurent, P. 1980. Ultrastructure of marine teleost gill epithelia: SEM and TEM study of the chloride cell apical membrane. *J.Morphol.*, 165:175-186.
- Eiras-Stofella, D.R. 1994. *Variabilidade morfológica da região faríngea dos arcos branquiais de algumas espécies de peixes (teleostei), estudada através da microscopia eletrônica de varredura*. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 125p.
- Ensor, D.M. e Ball, J.N. 1972. Prolactin and osmoregulation in fishes. *Fed.Proc.*, 31(6):1615-1623.
- Epstein, F.H.;Katz, A.I. & Pickford, G.E. 1967. Sodium- and potassium-activated adenosine triphosphatase of gills: role in adaptation of teleost to salt water. *Science* 156: 1245-1247
- Epstein, F.H.; Cynamon, M. & McKay, W. 1971. Endocrine control of Na-K-ATPase and seawater adaptation in *Anguilla rostrata*. *Gen.Comp.Endocrin.*, 16:323-328.
- Epstein, F.H.; Silva, P. & Kormanik, G. 1980. Role of Na-K-ATPase in chloride cell function. *Am.J.Physiol.*, 238:R246-250.
- Ernest, S.A.; Dodson, W.C. & Karnaky, K.J.Jr. 1980. Structural diversity of occluding junctions in the low-resistance chloride-secreting opercular epithelium of seawater-adapted killifish (*Fundulus heteroclitus*). *J. Cell biol.*, 87: 488-497.
- Evans, D.H. 1975. Ionic exchange mechanisms in fish gills. *Comp.Biochem.Physiol.*, 51A:491-495.
- Evans, D.H. 1980. Kinetic studies of ion transport by fish gill epithelium. *Am.J.Physiol.* 238:R224-230.
- Evans, D.H. 1984. Gill Na⁺/H⁺ and Cl⁻/HCO₃⁻ exchange system evolved before the vertebrates entered fresh water. *J. Exp. Biol.*, 113:465-469
- Evans, D.H. 1993. Osmotic and ionic regulation. In: Evans, D.H. ed. *The physiology of fishes*. CRC Press, Florida. p.315-342

- Evans, D.H. & Mallery, C.H. 1975. Time course accumulation by the euryhaline teleost, *Dormitator maculatus*: correlation between potassium stimulation of sodium efflux and Na/K activated ATPase activity. *J.Comp.Physiol.* 96:117-122.
- Evans, D.H., Clairbone, J.B., Famer, L., Mallery, C & Kransy, E.J.Jr. 1982. Fish gill ionc transport: Methods and models. *Biol.bull.*, 163:108-130.
- Fanta, E., Luvisotto, M.F. & Mayer, A.A. 1995. Gill structure of the Antarctic fishes *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* and *Trematomus newnesi*, Nototheniidae stressed by salinity and some behavioral consequences
- Fanta-Feofiloff, E., Eiras, D.R.B., Boscardinm, A.T. & Lacerda-Krambeck,M. 1986. Effect of saliniy on behavior and oxigen consupction of *Mugil curema* (PISCES-MUGILIDAE). *Fish Behav.*36:1029-1034.
- Fenerich-Verani, N., Schwantes, M.L.B. & Schwantes, A.R. 1989. Padrões eletroforéticos dos sistemas isozímicos da malato desidrogenase, lactato desidrogenase e fosfoglico isomerase em *Mugil* sp. da região estuarino-lagunar de Cananéia. *In: Seminário sobre mugilídeos da costa brasileira.* Instituto de Pesca. Secretaria da agricultura e abastecimento, SP. p.21.
- Fleming, W.R. & Karemoto, F.I. 1963. The site of sodium outflux from the gill of *Fundulus kansae*. *Comp.Biochem.Physiol.*, 8:263-???
- Forrest, J.N.Jr.; Cohen, A.D.; Schon, S.A. & Epstein, F.H. 1973. Na transport and Na-K-ATPase in gill during adaptation to seawater: effects of cortisol. *Am.J.Physiol.*, 224:709-713.
- Foskett, J.K.; Logsdon, T.; Turner,t.; Machen, T.E. & Bern, H.A. 1981. A differentiation of the chloride extrusion mechanism during seawater adaptation of teleost fish, the cichlid *Sarotherodon mossambicus*. *J.Exp.Biol.*, 93:209-224.
- Fosket, K.; Bern, H.A.; Machen, T.E.; Conner, M. 1983. Chloride cells and the homonal control of the teleost fish osmorregulation. *J.Exp.Biol.* 106:255-281.
- Foskett, J.K. & Machen, T.E. 1985. Vibrating probe analysis of teleost opercular epithelium: correlation between active transport and leak pathways of individual chloride cells. *J.Membr.Biol.*, 85(3): 25-35
- Franklin, C.E. 1990. Surface ultrastructural changes in the gills of sockeye salmon (Teleostei: *Oncorhynchus nerka*) during seawater ransfer. Comparation of sucessful and unsuccessful seawater adaptation. *J.Morphol.*, 206:13-23.

- Gallis, J.-L. & Bourdichon, M., 1976. Changes of (Na⁺-K⁺) dependent ATPase activity in gills and kidneys of two mullets *Chelon labrosus* (Risso and *Liza ramada* (Risso) during fresh water adaptation. *Biochimie*, 58:625-627.
- Gallis, J.L.; Lasserre, P. & Belloc, F. 1979. Freshwater adaptation in the euryhaline teleost, *Chelon labrosus*. Effects of adaptation, prolactin, cortisol and actinomycin D on plasma osmotic balance and (Na⁺,K⁺)ATPase in gill and kidney. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 38:1-10.
- Getman, H. 1950. adaptative changes in the chloride cell of *Anguilla rostrata*. *Biol.Bull.Mar.Biol.Lab., Woods Hole*, 99: 439-445.
- Girard, J.P. & Payan, P. 1980. Ion exchange through respiratory and chloride cells in freshwater and seawater adapted teleosts. *Am.J.Physiol.*, 238:R260-268.
- Godinho, H.M., Dias, E.R.A., Jacobsen, O. & Yamanaka, N. 1984. Revisão e discussão de trabalhos sobre as espécies do gênero *Mugil* (Teleostei, Perciforme, Mugilidae) da costa brasileira (lat. 3°S-33°S). *B.Inst.Pesca*, 15(1):67-80.
- Goss, G.G. & Perry, S.F. 1994. Different mechanisms of acid-base regulation in American eel (*Anguilla rostrata*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during NaHCO₃ infusion. *Physiol.Zool.*, 67:381-406.
- Goss, G.G.; Perry, S.F. & Laurent, P. 1992. Relationships between ion and acid-base regulation in freshwater fish. *J.Exp.Zool.*, 263:143-159.
- Gray, I.E. 1954. Comparative study of the gill area of marine fishes. *Biol. Bull.*, 107:219-255.
- Hair, J.F.Jr.; Anderson, R.R.; Tatham, R.L.; Grablovsky, B.J. 1979. Multivariate data analysis. Petroleum Publishing Company, Oklahoma, 360 pp.
- Hochberg, V.B.M.; Calcagnotto, D. & Erdtmann, B. 1987. Estudo criomossômico comparativo em mugilídeos (Pisces, Mugilidae) do Atlântico Sul. In: *Reunião anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*, 39. Resumos... Brasília. 782p.
- Holliday, F.G.T. & Parry, G. 1962. Electron microscopic studies of acidophil cells in the gills and pseudo branches of fish. *Nature*, 163:192.
- Hootman, S.R. & Philpott, C.W. 1978. Rapid isolation of chloride cells from pinfish gill. *Anat.Rec.*, 190:687-702.
- Hootman, S.R. & Philpott, C.W. 1979. Ultracitochemical localization of Na⁺,K⁺-activated ATPase in chloride cells from the gills of a euryhaline teleost. *Anat.Rec.*, 190:687-702.

- Hossler, F.E., 1980. Gill arch of the mullet, *Mugil cephalus*. III. rate response to salinity change. *Am.J.Physiol.*, 238:160-164.
- Hossler, F.E. & Merchant, L.H. 1983. Morphology of taste buds on the gill arches of the mullet *Mugil cephalus*, and the *Fundulus heteroclitus*. *Am.J.Anat.*, 166:299-312.
- Hossler, F.E.; Ruby, J.R. & McWiwain, T.D., 1979a. The gill arch of the mullet, *Mugil cephalus*. I. surface ultrastructure. *J.Exp.Zool.*, 208:379-398.
- Hossler, F.E.; Ruby, J.R. & McWiwain, T.D. 1979b. The gill arch of the mullet, *Mugil cephalus*. II. Modification in surface ultrastructure and Na-K-ATPase content during adaptation to various salinities. *J.Exp.Zool.*, 208:399-406.
- Hossler, F.E.; Musil, G.; Karnaky, K.J., Jr. & Epstein, F.H. 1985. Surface ultrastructure of the gill arch of the killifish, *Fundulus heteroclitus*, from seawater and freshwater, with special reference to the morphology of apical cripts of chloride cells. *J.Morph.*, 185:377-386.
- Hossler, F.E.; Harpole, J.H. & King, J.A. 1986. The gill arch of the striped bass, *Morone saxatilis*. I. Surface ultrastructure. *J.Submicrosc.Cytol.*, 18(3):519-528.
- Hu, F. & Liao, I-C. 1981. The effect of salinity on eggs and larvae of grey mullet, *Mugil cephalus*. *Rapp.P.-V.Reun. Con. Int. Explor. Mer*, 178:177-195.
- Hughes, G.M. 1966. The dimension of the fish gills in relation to their function. *J.Exp.Biol.*, 45:177-195.
- Hughes, G.M. 1979. Scanning electron microscopy of the respiratory surfaces of trout gills. *J.Zool.*, 188:443-453.
- Hughes, G.M. 1984. General anatomy of the gills. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (eds.). *Fish Physiology*. Academic Press. 1-72.
- Hughes, G.M. & Wright, D.E. 1970. A comparative study of the ultrastructure of the water pathway in the secondary lamellae of teleost and elasmobranch fishes-bentic forms. *Z.Zellforsch Mikrosk.Anat.*, 104:478-493.
- Hughes, G.M. & Munshi, J.S.D. 1978. Scanning electron microscopy of the respiratory surfaces of *Saccobranhus (=Heteropneustes) fossilis* (Bloc). *Cel. Tissue Res.*, 195:99-109.
- Hughes, G.M. & Mondolino, R.M. 1983. Scanning electron microscopy of the gills of *trachurus mediterraneus*. *Experimentia*, 39:518-519.
- Hughes, G.M.; Perry, S.F. & Piiper, 1984. Quantitative anatomy of the gills of the larger spotted dog fish (*Scyliorhinus stellaris*). *J.Exp.Biol.*, 98: 277-288.

- Hwang, P.P. 1987. Tolerance and ultrastructural responses of branquial chloride cell to salinity changes in the euryhaline teleost *Oreochromis mossambicus*. *Mar.Biol.*, 94:643-649.
- Hwang, P.P. 1988. Multicelular complex of chloride cells in the gills of freshwater teleosts. *J.Morphol.*, 196:15-22.
- Hwang, P.P. & Hirano, R. 1985. Effects of environmental salinity on intercellular organization and junctional structures of chloride cells in early stages of teleost development. *J.Exp.Zool.*, 236:115-126
- Hwang, P.P.; Sun, C.M. & Wu, S.M. 1989. Changes of plasma osmolality, chloride concentration and gill Na-K-ATPase activity in tilapia *Oreochromis mossambicus* during seawater acclimation. *Mar.Biol.*, 100:295-299.
- Jozuka, K. 1966. Chloride-excreting and mucous-secreting cells in the gills of the japanese common eel, *Anguilla japonica*. *Annotnes Zool.Jap.*, 39:202-210.
- Kamyia, M. 1972. Hormonal effect on Na-K-ATPase activity in gill of japanese eel, *Anguilla japonica*. *Endocr.Jap.*, 19:489-493.
- Kamiya, M. & Utida, S. 1968. Changes in activity of sodium-potassium-activated adenosinetriphosphatase in gills during adaptation of the japanese eel to seawater. *Comp. Biochem. Physiol.*, 26:675-685.
- Karlsson L. 1983. Gill morphology in the zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan). *J. Fish Biol.* 23:511-524.
- Karnaky, J.K. 1972. A system to study the teleost chloride cell with the ussing chamber. *Bull.Mt.Desert Isl.Biol.Lab.*, 12:60-61
- Karnaky, K.J. Jr, 1980. Ion-secreting epithelia: chloride cells in the haed region of *Fundulus heteroclitus*. *Am.J.Physiol.* 238:R185-R198.
- Karnaky, K.J.Jr. 1986. Structure and function of the chloride cell of *Fundulus heteroclitus* and others teleosts. *Am.Zoll.*, 199:355-364.
- Karnaky, K.J., Jr. & Kinter, W.B. 1977. Killifish opercular skin: a flat epithelium with a high density of chloride cells. *J.Exp.Zool.*, 199:355-364
- Karnaky, K.J.; Ernest, S.A. & Philpott, C.W. 1976a. Teleost chloride cell. I. Response of pupfish *Cyprinodon variegatus* gill Na,K-ATPase and chloride cell fine structure to various salinity environments. *J. Cell Biol.*, 70:144-156.
- Karnaky, K.J.; Kinter, L.B.; Kinter, W.B. & Stirling, C.E. 1976b. Teleost chloride cell. II. Autoradiographic localization of gill Na-K-ATPase in killifish *Fundulus heteroclitus* adapted to low and high salinity environments. *J. Cell Biol.*, 70:157-177.

- Karnaky, K.J. Jr.; Degnan, K.J.; Garretson, L. & Zadunaisky, J.A. 1984. Identification and quantification of mitochondria-rich cells in transporting epithelia. *Am.J.Physiol.*, 246:R770-775.
- Kendall, H.G. & Dale, J.E. 1979. Scanning and transmission electron microscopic observations of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) gill. *J.Fish.Res.Board.Can.*, 36:1071-1079.
- Kessel, R.G. & Beams, H.W. 1960. An electron microscopy studies on the mitochondria-rich "chloride cells" from the gill filaments of freshwater and seawater-adapted *Fundulus heteroclitus*. *Biol.Bull.*, 119: 322.
- Kessel, R.G. & Beams, H.W. 1962. Electron microscope studies on the gill filaments of *Fundulos heteroclitus* from sea water and fresh water with special reference to the ultrastructural organization of the "chloride cell". *J.Ultrastruct.Res.*, 6:77-87.
- Keys, A.B. 1931a. The heart-gill preparation of the eel and its perfusion for the study of a natural membrane *in situ*. *Z.Verg.Physiol.* 15:364-389.
- Keys, A.B. 1931b. Chloride and water secretion and absorption by the gills of the eel. *J.Physiol.*, 76:368-377.
- Keys, A. & Wilmer, E.N. 1932. "Chloride secreting cells" in the gills of fishes, with special reference to the common eel. *J.Physiol. (London)* 76:368-377.
- King, J.A.C. & Hossler, F.E. 1988. The gill arch of the striped bass, *Morone saxatilis*. III. Morphology of the basal lamina as revealed by various ultrasonic microdissection procedures. *J.Submicrosc.*, 20(2):371-377.
- King, J.A.C.; Abel, D.C. & DiBona, D.R. 1989. Effects of salinity on chloride cells in the euryhaline cyprinodontid fish *Rivulus marmoratus*. *Cell Tissue Res.*, 259:367-377.
- Kirschner, L.B. 1980. Comparison of vertebrate salt-excreting organs. *AmJ.PHysiol.*, 238:R219-223.
- Krog, A. 1939. *Osmotic regulation in aquatic animals*. Cambridge Univ.Press, Dover Publications reprint, 242pp.
- Lagler, K.A.; Bardach, J.E.; Miller, R.R. & Passino, D.R.M. 1977. *Ichthyology*.. Johnwiley & Sons (eds.), 20 ed. 506p.
- Lasserre, P. & Gallis, J-L. 1975. Osmoregulation and differential penetration of two grey mullets, *Chelon labrosus* (Risso) and *Liza ramada* (Risso) in estuarine fish ponds. *Aquaculture*, 5:323-344.
- Laurent, P. 1984. Gill internal morphology. In: W.S. Hoar & D.J. Randall, eds. *Fish Physiology*. Academic Press, New York, Vol. XA, pp.73-183.

- Laurent, P. & Dunel, S. 1980. Morphology of gill epithelia in fish. *Am.J.Physiol.*, 238:R174-159
- Laurent, P. & Perry, S.F. 1990. the effects of cortisol on gill chloride cell morphology and ionic uptake in the freshwater trout; *Salmo gaidneri*. *Cell.Tissue Res.*, 259:429-442.
- Laurent, P. & Perry, S.F. 1991. Environmental effects on fish gill morphology. *Physiol.Zool.*, 64:4-25.
- Lee, C.S. & Menu, B. 1981. Effects of salinity on egg development and hatching in grey mullet *Mugil cephalus* L. *J.Fish Physiol.*, 19:179-188.
- Leonard, J.B. & Summers, R.G. 1975. The ultrastructure of the integument of the american eel, *Anguilla rostrata*. *Cell Tissue Res.*, 171:1-30.
- Lewis, S.V. & Potter, I.C. 1976. Ascanning electron microscope study of the gills of the lamprey, *Lamprata fluviatilis* (L). *Micron* 7:205-211.
- Liu, C.K. 1942. Osmotic regulation and "chloride secreting cell" in the paradise fish, *Macropodus opercularis*. *Sinensia*, 13:15-20.
- Lucu, C., Skaramuca, B. & Sanko, J. 1989. Na, K ATPase activity and acclimation of the fish *Salema sarpa salpa* L. to diluted sea water. *Period.Biol.*, 91(2):231-234.
- Luvisotto, M.F. 1994. *Estudo do efeito de diferentes salinidades sobre as células de cloreto e as células caliciformes do epitélio branquial do peixe antártico Nothotheniops nudifons (Lönnberg, 1905)*. (Mestrado) Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 88p.
- Maetz, J. 1971. Fish gills: mechanisms of salt transfer in fresh water and sea water. *Phil.Trans.Roy.Soc.Lond.B.*, 262:209-249.
- Maetz, J. 1974. Aspects of adaptation to hypo-osmotic and hiper-osmotic environments. In: Malilins, D.C. and Sargent, J.R. eds. *Biophysical perspective in marine biology, vol.1*. Academic Press, London. p. 1-167.
- Maetz, J. & Pic, P. 1975. New evidence for a Na/K and Na/Na exchange carrier linked with the Cl⁻ pump in gill of *Mugil capito* in sea water. *J.Comp.Physiol.*, 102:85-100.
- Maina, J.N. 1990. A study of the morphology of the gills of an alkalinity and hyperosmotic adapted teleost *Oreochromis alcalicus grahami* (Boulenger) with particular emphass on ultrastructure of the chloride cells and their modifications with water diluition. A SEM and TEM study. *Anat.Embryol.*, 181:83-98.

- Marshall, W.S. 1977. Transepithelial potential and short-circuit current across the isolated skin of *Gillichthys mirabilis*, acclimated to 5% and 10% sea water. *J.Com.Physiol.*, 144:157-165.
- Marshall, W.S. & Bern, H.A. 1980. Ion transport across the isolated skin of a marine teleost is stimulated by urotensin I and inhibited by urotensin II. *Gen.Comp.Endocr.*, 43:484-491.
- Marshall, W.S. & Nishioka, R.S. 1980. Relation of mitochondria-rich chloride cells to active chloride transport in the skin of a marine teleost. *J.Exp.Zool.*, 214:147-156.
- Marterer, B-E. L. 1990. *Biologia reprodutiva da tainha Mugil platanus Guther, 1880, (Osteichthyes, Mugilidae) da Baía de Guaratuba, Pr (25º25'S-48º39'W).* (Mestrado), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 198p.
- Mattey, D.L.; Morgan, M. & Wright, D.E. 1980. A scanning electron microscope study of the pseudobranchs of two marine teleosts. *J.Fish Biol.*, 16:331-343.
- Mendez, G.N. 1983. Estudo sobre aclimação de alevinos de tainha (*Mugil curema* Valenciennes, 1836) à água doce. *Rev. Bras.Zool.*, 2(1):13-33.
- Menezes, N.A. 1983. Guia prático para o conhecimento e identificação de tainhas e paratis (Pisces-Mugilidae) do litoral brasileiro. *Rev.Bras.Zool.*, 2(1):1-12
- Menezes, N.A. & Figueiredo, J.L. 1985. *Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil.* São Paulo, Museu de Zoologia, Univ.São Paulo. V4, Teleostei. 105p.
- Milne, K.P.; Ball, J.N, & Chester Jones, I. 1971. Effects of salinity, hypophysectomy and corticotrophin on branchial Na- and K-activated ATPase in the eel, *Anguilla anguilla* L. *J.Endocr.*, 49: 177-178.
- Mimura, O.M. & Fernandes, M.N. 1979. Área branquial total de "acará diadema", *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824). Peixe teleosteo. *Bul.Fisiol.Animal*, 3:61-65.
- Morgan, M. & Tovel, P.W.A. 1973. The structure of the gill of the trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). *Z.Zellforsch.* 142:147-162.
- Motais, R.F. & Garcia Romeu, F. 1972. Transport mechanisms in the teleostean gill and amphibian skin. *Ann.Rev.Physiol.*, 34:141-175.
- Newstead, J.D. 1967. Fine structure of the respiratory lamellae of teleostean gills. *Z.Zellforsch.*, 79:396-428.

- Nonnotte, G.; Nonnotte, K. & Kirsch, R. 1979. Chloride cells and chloride exchange in the skin of a sea-water teleost, the shanny (*Blennius pholis* L.). *Cell Tissue Res.*, 199:387-396
- Nordlie, F.G. & Leffler, C.W. 1975. Ionic regulation and the energetics of osmoregulation in *Mugil cephalus* Lin. *Comp. Biochem. Physiol.* 51A:125-131.
- Oberg, K.E. 1967. The reversibility of the respiratory inhibition in gills and the ultrastructural changes in chloride cells from the rotenone-poisoned marine teleost, *Gadus callarias* L. *Exp. Cell Res.*, 45:590-602.
- Ojha, J.; Mishra, A.K. & Munshi, S.D. 1987. Interspecific variations in the surface ultrastructure of gills of freshwater mullets. *Japan. J. Ichthyol.*, 33(4):388-393.
- Olivereau, M. 1970. Réaction des cellules à chlorures de la branchie après passage en eau de mer chez l'Anguille européenne. *C.R. Séanc. Soc. biol.*, 164:1951-1955
- Olson, K.R. & Fromm, P.O. 1973. A scanning electron microscopy study of secondary lamellae and chloride cells of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Z. Zellforsch.*, 143:439-449.
- Paiva, P.; Godinho, H.M.; Serralheiro, P.C.S.; Scorvo Filho, J.D.; Almeida dias, E.R.; Ito, K. & Oliveira, I.R. 1987. Variação no número de série de escamas laterais em tainhas *Mugil* spp. na região lagunar de Cananéia, SP. In: Mini Simpósio de Biologia Marinha, 6.
- Parry, G. 1965. Osmotic adaptation in fishes. *Biol. Rev.*, 4(1):392-444.
- Parry, G., Hollyday, F.G.T. & Blaxter, J.H.S. 1959. "Chloride-secretory" cells in the gills of teleosts. *Nature*, 183:1248-1249.
- Parry, G. & Holliday, F.G.T. 1960. An experimental analysis of the function of the pseudobranch in teleosts. *J. Exp. Biol.*, 37:344-354.
- Perry & Laurent, 1989. Adaptation responses of rainbow trout to lowered external NaCl concentration: contribution of the branchial chloride cell. *J. Exp. Biol.*, 147:147-168.
- Perry, S.F.; Goss, G.G. & Laurent, P. 1992. The interrelationships between chloride cell morphology and ionic uptake in four freshwater teleosts. *Can. J. Zool.*, 70:1775-1786.
- Pfeiler, E. & Lindley, V. 1989. Chloride cells in the skin of the metamorphosing bonefish (*Albula* sp.) *leptocephalus*. *J. Exp. Zool.*, 250:11-16.

- Philpott, C.W. 1965. Halide localization in the teleost chloride cell and its identification by selected area electron diffraction. Direct evidence supporting an osmoregulatory function for the sea water adapted chloride cell of *Fundulus*. *Protoplasma*, 60:7-23.
- Philpott, C.W. 1980. Tubular system membranes of teleost chloride cells: osmotic response and transport sites. *Am.J.Physiol.*, 238:R171-184
- Philpott, C.W. & Copeland, D.E. 1963. Fine structure of the chloride cells from three species of *Fundulus*. *J.Cell Biol.*, 18:389-404.
- Pic, P.; Mayer-Gostan, N. & Maetz, J. 1974. Branquial effects of epinephrine in the sea-water-adapted mullet. I. Water permeability. *A.J.Physiol.*, 226 (3):698-702.
- Pic, P.; Mayer-Gostan, N.; Maetz, J. 1975. Branquial effects of epinephrine in the sea-water-adapted mullet. II. Na^+ and Cl^- extrusion. *A.J.Physiol.* 228(2):441-447.
- Pillai, S.M.; Ghosh, P.K. RajyLkahmi, T. & Roy, A.K. 1985. Observations on growth, survival and production of grey mullets *Mugil cephalus* (Lineus), *Liza parsia* (hamilton) and *Liza tade* (forsskal) in a coastal low saline polyculture pond. *Symp.Ser.Mar.Biol.Assoc.India.*, 6:776-781.
- Pisan, M. 1981. Membranous system in the chloride cells of teleostean fish gill: their modifications in response to the salinity of environment. *Ant.Rec.*, 200:401-414.
- Pisam, M.; Sardet, C. & Maetz, J. 1980. Polysaccharidic material in chloride cell of teleostean gill: modifications according to salinity. *Am.J.Physiol.*, 238:R213-218.
- Pisam, M.; Caroff, A. & Rambourg, A. 1987. Two types of chloride cells in the gill of freshwater-adapted euryhaline fish: *Lebistes reticulatus*: their modifications during adaptation to saltwater. *Am.J.Anatom.*, 179:40-50
- Pisam, M.; Prunet, G. & Rambourg, A. 1988. Ultrastructural features of chloride cells in gill epithelium of the atlantic salmon, *Salmo solar*, and their modifications during smoltification. *Am.J.Anat.*, 183:235-244.
- Pisam, M.; Bouef, G. Prunet, P. & Rambourg, A. 1990. Ultrastructural features of mitochondria-rich cell in stenohaline freshwater and seawater fishes. *Am.J.Anatom.*, 187:21-31.
- Pitombo, L.P. & Araújo, F.G. 1986. Distribuição e abundância de jovens de tainhas e paratis (Mugilidae) na Baía de Sepetiba, R.J. In: congresso Brasileiro de Zoologia, 13. Resumos...Cuiabá, MT. p.114.

- Pruginin, Y.; Shilo, S. & Mires, D. 1975. Grey Mullet: a component in polyculture in Israel. *Aquaculture*, 5:291-298.
- Prunet, P.; Bouef, G. & Houdebine, L.M. 1985. Plasma and pituitary prolactin levels in rainbow trout during adaptation to different salinities. *J.Exp.Zool.*, 235:187-196.
- Rajbanshi, V.K. 1977. The architecture of the gill surface of the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Block): SEM study. *J.Fish Biol.* 10:325-329.
- Rasani-Paiva, M.J.T.; Ishikawa, C.M.; Nogueira, J.C. & Mangiaterra, L.M. 1989. Estimativa dos parâmetros hematológicos de *Mugil* sp., da região Estuarino-lagunar de Cananéia. In: Seminário sobre mugilídeos da costa brasileira. Instituto de Pesca. Secretaria de Agricultura e abastecimento, S.P.p.23.
- Roberts, R.J.; Bell, M. & Young, H. 1973. Studies on the skin of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) II. The development of larval plaice skin. *J.Fish.Biol.*, 5:103-108.
- Sardet, C. 1977. Ordered arrays of intermembranae particles on surface of fish gills. *J.Cell Biol.Int.Rep.*, 1:409-418.
- Sardet, C., Pisam, M. & Maetz, J. 1979. The surface epithelium of teleostean fish gills. Cellular and junctional adaptation of the chloride cell in relation to salt adaptation. *J.Cell Biol.*, 80: 96-117.
- Scheer, B.T. & Langford, R.W. 1976. Endocrine effects on the cation-dependent ATPase of the gills of european eels (*Anguilla anguilla* L.) and efflux of Na. *Gen.Comp.Endocr.*, 30:313-326
- Schmidt-Nielsen, K. 1990. *Animal Physiology- adaptation and environment*. 4th ed. Cambridge Univ. Press . 602 p.
- Scorvo Filho, J.D. Serralheiro, P.C.S., Paiva, P. Godinho, H.M.; Dias, E.R.A.; Oliveira, I.R. & Ito, K. 1988. Variação do número de séries de escamas laterais em tainhas *Mugil* spp. da região lagunar de Cananéia. In: Congresso Brasileiro de Zoologia, 15. Resumos...Curitiba, Pr. p.404.
- Shirai, N. & Utida, S. 1970. Development and degeneration of the chloride cell during seawater and fresh-water adaptation of the japanese eel *Anguilla japonica*. *Z.Zellforsch.Microsk.Anat.*, 103: 247-264
- Silvester, J.R., Nash, C.E. & Emberson, C.R. 1975. Salinity and oxygen tolerance of eggs and larvae of hawaiian striped mullet, *Mugil cephalus* L. *J.Fish Biol.* 7:621-629.

- Smith, H.W. 1930. The absorption and excretion of water and salts by Marine Teleosts. *Am.J.Physiol.* 93:480-505.
- Snedecor, G.M. & Cochran, W.G. 1980. Statistical methods. 7a.ed. Iowa State Univ.Press, Iowa, USA. 507p
- Soares, C.R.; Paranhos Filho, A.C.; Souza, M.C.; Branco, J.C.; Fabianovicz, R.; Prazeres Filho, H.J. & Kogut, J.S. 1994. Variações da linha de costa no balneário Pontal do Sul (PR) no período de 1953-1993: Um balanço sedimentar. *Bol.Par.Geoc.*, 42:161-171.
- Sperry, D.G. & Wassersug, R.J. 1977. A proposed function for microridges on epithelial cells. *Anat.Rec.*, 185:253-258
- Straus, L.P. 1963. A study of the fine structure of the so-called chloride cell in the gill of the guppy *Lebistes reticulatus*. *Physiol.Zool.*, 36(3):183-198.
- Straus, L.P. & Doyle, W.L. 1961. Fine structure of the so-called chloride cells of the gill guppy, *Lebistes reticulatus*. *Physiol.Zool.*, 36:183-198
- Suguu, K. e Tessler, M.G. 1984. Planícies de cordões litorâneos quartenários do Brasil: Origem e nomenclatura. In: *Restingas -Origem, Estrutura e Processos*. Anais. Niterói-RJ. 15-25p.
- Tay, K.-L. & Garside, E.T. 1978. Compensatory embrionic responses in osmoregulative structure of mummichog *Fundulus heteroclitus* (L.), incubated at constant temperature and various constant levels of salinity. *Can.J.Zool.*, 56:613-623.
- Tay, K.-L. & Garside, E.T. 1979. Adaptative hyperplasia of epidermical chloride-secreting cells in fry of mummichog, *Fundulus heteroclitus* L., incubted and reared in supranormal salinity. *Can.J.Zool.*, 57:1803-1807.
- Thomson, A.J. & Sargent, J.R. 1977. Changes in the levels of chloride cells and (Na⁺+K⁺)-dependent ATPase in the gills of yellow and silver eels adapting to seawater. *J.Exp.Zool.*, 200:33-34
- Threadgold, L.T. & Houston, A.H. 1964. An electron microscope study of the chloride cell of *Salmo solar*. *Exp.Cell Res.*, 34:1-23.
- Threadgold, L.T. & Lasker, A.H. 1964. Mitochondriogenesis in intergumentary cells of the larval sardine *Sardinops caerulea*. *J.Ultrastruct.Res.*, 19:238-249.
- Utida, S.; Hatai, S.; Hirano, T. & Kamemoto, F.I. 1971. Effect of prolactin on suvival and plasma sodium levels in hypophysectomized medeka *Oryzias latipes*. *Gen. Comp. Endocr.*, 16:566-573.

- Vazoler, A.E.A.M.; Santoro, E.C. & Lizama, M.A. 1989. Padrões eletroforéticos de proteínas gerais do cristalino de *Mugil* sp. da região estuarino-lagunar de Cananéia, SP. In: Seminário sobre mugilídeos da costa brasileira. Instituto de Pesca. Secretaria de Agricultura e abastecimento, S.P.p.19.
- Vickers, T. 1961. A study of the so-called "chloride secretory" cells of the gill of the teleost. *Q.H.Microsc.Sci.*, 104:507-518.
- Virabhadachari, V. 1961. Structural changes in the gill, intestine and kidney of *Entroplus maculatus* (Teleostei) adapted to different salinities. *Q.J.Microsc.*, 102:361-369.
- Walsh, W.A., Swanson,C., Lee, C-S., Banno, J.E. & Eda,H. 1989. Oxygen consumption by eggs and larvae of stripet mullet, *Mugil cephalus*, in relation to development, salinity and temperature. *J.Fish.Biol.*,35:347-289.
- Wilhelm Filho, D. 1989. Heterogeneidade eletroforética das hemoglobinas de *Mugil curema* e *Mugil platanus*. In: Seminário sobre mugilídeos da costa brasileira. Instituto de Pesca. Secretaria de Agricultura e abastecimento, S.P.p.22.
- Withear, M. 1970. The skin surface of bony fishes. *J.Zool.*, 160:437-454.
- Yoshikawa, J.S.M., McCormick, S.D., Young, G. & Bern, H.A. 1993. Effects of salinity on chloride cell and Na-K-ATPase activity in teleost *Gillichthys mirabilis*. *Comp.Biochem.Physiol.*,105a (2): 311-317.
- Zaugg, W.S. & McLain, L.R. 1970. Adenosinetriphosphatase activity in gills of salmonids: seasonal variations and salt water influence in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comp. Biochem. Physio.*, 35:587-596.

ANEXOS

Anexo I: Preparo da solução salina para lavagem de curtland para organismos marinhos.

Quantidade 1000 ml

Dissolver os reagentes, um a um em água destilada na sequência abaixo, usando agitador magnético com aquecimento leve:

*NaCl.....	7.25g
*KCl.....	0.38g
*CaCl ₂ . 2H ₂ O.....	0.23g
*MgSO ₄ .7H ₂ O....	0.23g
*NaHCO ₃ .H ₂ O...	1.00g

Após a mistura completar o volume para 1000 ml com água destilada e separar em 2 x 500ml.

*Os 500 ml restantes devem ser mantidos na geladeira em frasco âmbar, envolto em papel alumínio.

Na hora da utilização:

Para prosseguir o preparo, juntar aos 500 ml a serem utilizados a glucose e o NaHCO₃.H₂O.

NaHCO ₃ .H ₂ O.....	0.205g
Glucose.....	0.50g

Ajustar o pH para 7.6, usando HCl 1N e/ou NaOH 0.1N

Prazo de validade: 1 mês (Sem a Glucose e o NaHCO₃.H₂O.)

Anexo II. Mensurações dos exemplares e contagens de rastelos e filamentos nas hemibrânquias dos AB II direito e esquerdo. (N=30).

Tamanho	ADHBL	ADRL	ADHBM	ADRM	AEHBL	AERL	AEHBM	AERM
3.5	51	47	47	48	44	35	44	38
3.6	56	51	45	45	58	47	50	47
3.3	49	43	41	44	46	39	38	46
3.6	41	44	39	45	44	44	37	48
3.1	41	44	39	45	44	44	37	48
3.2	43	40	41	42	45	44	44	52
3.4	54	37	35	48	46	43	40	51
3.4	50	43	42	47	50	46	43	48
3.4	43	37	37	50	48	46	43	49
2.8	49	38	43	42	51	37	40	46
3.5	45	39	38	48	51	39	44	46
3.6	51	41	41	49	52	35	42	51
3.2	52	41	42	46	51	41	48	48
2.9	47	42	37	41	50	43	40	46
3.5	55	45	43	49	55	38	47	47
2.9	50	44	38	44	52	42	42	47
3.5	54	45	44	44	52	42	42	41
3.2	49	42	42	48	52	39	43	48
3.3	53	46	42	50	54	45	46	46
3.4	51	49	43	47	53	48	40	45
3.1	50	40	44	47	52	45	40	42
3.5	54	44	42	46	52	43	44	48
3.5	41	39	38	40	45	41	40	39
3.3	55	43	43	46	52	36	43	44
3.3	55	45	40	45	51	46	41	46
3.2	49	40	40	46	49	40	40	42
2.9	46	42	40	44	46	41	39	44
3.3	53	41	41	42	51	39	40	48
3.3	48	39	40	42	48	44	38	39
3.2	52	41	42	46	54	49	46	48
3.29	49.56	42.4	40.96	45.53	49.93	42.03	42.03	45.93
0.22	4.47	3.33	2.62	2.67	3.61	3.77	3.22	3.51
2.8	41	37	35	40	44	35	37	38
3.6	56	51	47	50	58	49	50	52

x = média; S = desvio padrão; Min = valor mínimo; Max = valor máximo. AD = arco direito; AE = arco esquerdo; HB = hemibrânquia; R = rastelos; L = lateral; M = medial.