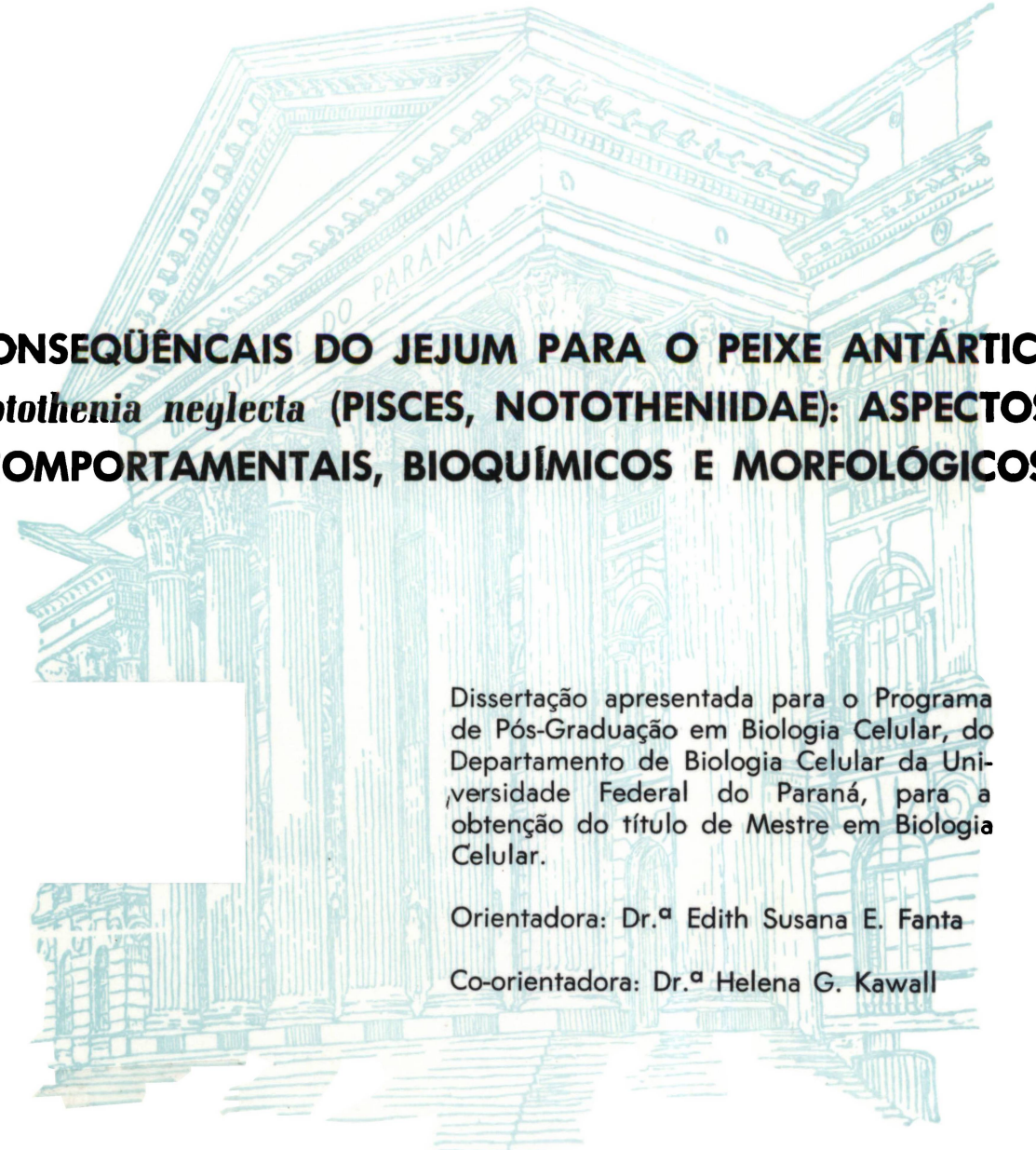


ELOISA APARECIDA RIBEIRO DE MORAES



CONSEQUÊNCIAS DO JEJUM PARA O PEIXE ANTÁRTICO
***Notothenia neglecta* (PISCES, NOTOTHENIIDAE): ASPECTOS**
COMPORTAMENTAIS, BIOQUÍMICOS E MORFOLÓGICOS

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, do Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Biologia Celular.

Orientadora: Dr.^ª Edith Susana E. Fanta

Co-orientadora: Dr.^ª Helena G. Kawall

CURITIBA
2001

ELOISA APARECIDA RIBEIRO DE MORAES

**CONSEQÜÊNCIAS DO JEJUM PARA O PEIXE ANTÁRTICO
Notothenia neglecta (PISCES, NOTOTHENIIDAE): ASPECTOS
COMPORTAMENTAIS, BIOQUÍMICOS E MORFOLÓGICOS**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, do Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Biologia Celular.

Orientadora: Dr.^ª Edith Susana E. Fanta

Co-orientadora: Dr.^ª Helena G. Kawall

CURITIBA

2001

*Um pensamento positivo e muito especial
a Olívia Ribeiro (in memoriam)
que esteve presente em cada momento
deste trabalho
me fortalecendo sempre.*

*Um pensamento forte e muito iluminado
a Deus que continua sendo
o princípio de tudo
e a minha maior fonte de inspiração.*

*Minhas melhores lembranças
e todo meu respeito pela Antártica
que sem dúvida
é um lugar único e sagrado.*

Dedico este trabalho

Ao meu pai Israel

e

pai espiritual Matson,

ao

Ademir,

Rogério,

Antonio Carlos

Otávio,

Andrade,

Kodama

Mentores e Entidades espirituais

a vocês

que foram os grandes homens

da minha vida

estando ao meu lado

física ou espiritualmente

antes, durante e depois.

desta conquista.

AGRADECIMENTOS

Acredito que “agradecer” não seria o termo correto para expressar o resultado que este trabalho trouxe em minha vida profissional e pessoal. Assim deixo aqui o nome de pessoas a quem devo todo o meu respeito, admiração e um desejo sincero de tê-las sempre em minha vida:

Dra. Edith S. Fanta,
Dra. Helena G. Kawall,
Dra. Lia Rieck,
Dra. Maria Consuelo A. Marques,
Dra. Lucélia Donatti,
Dra. Sandra R. Stabille,
Marilza Lucas Sette,
Cacá Andreato,
Ana Claudia Jacinto,
Sueli Terezinha Bucco,
Sandra Freiberger,
Gustavo Villani Serra,
Tânia Zaleski,
Luciana Momesso,
Daniela Mello Braga,
Fabiola S. Cleto,
Wagner E. Cardoso,
Gabriel M Leão,
Luiz F. Bianchini,
Reginaldo Estrela,
Alessandra R. Santos,
Ana Paula Karam,
Marlene Bonifácio de Camargo.

Agradeço à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná e a seu corpo docente, e à CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Grupo Base, ano 98/99, 99/00, 00/01 da Estação Antártica Comandante Ferraz, assim como ao projeto: “Biologia Integrativa de Peixes Antárticos” desenvolvido nessa região, que recebeu apoio logístico da SECIRM (Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar) e suporte financeiro do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) / PROANTAR (Programa Antártico Brasileiro – Projeto nº 480. 265/ 003) e finalmente, a Aparecida Simeoni que mesmo longe, continua sendo um exemplo “da busca incessante” em direção ao conhecimento...Muito obrigada tia.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUÇÃO	1
II. OBJETIVOS	7
III. MATERIAL E MÉTODOS	8
III. 1 LOCAL DE ESTUDO: Baía do Almirantado – Ilha Rei George	8
III. 2 MATERIAL BIOLÓGICO	8
III. 3. DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL	10
III. 3.1 Análise comportamental	10
III.3.2 Análises Bioquímicas	11
III. 3.3 Análise Histológica do Fígado e Músculo	12
IV. RESULTADOS	13
IV. 1 COMPORTAMENTO	13
IV. 1.1 Atividade Natatória	13
IV. 1.2 Agressividade	15
IV. 1.3 Distribuição/ Posição	17
IV. 2 BIOQUÍMICA	20
IV. 2.1 Músculo	20
IV. 2.2 Fígado	25
IV. 3 HISTOLOGIA DO FÍGADO E MÚSCULO	30
IV. 3.1 Morfologia Muscular	30
IV. 3.2 Morfologia Hepática	30
V. DISCUSSÃO	38
VI. CONCLUSÕES	47
VII. ANEXOS	48
VIII. REFERÊNCIAS BIBIOGRÁFICAS	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 a) Mapa do Continente Antártico	32
Figura 1 b) Mapa da Península Antártica	32
Figura 1 c) Mapa da Ilha Rei George	32
Figura 1 d) Vista da Enseada de Martel, na Baía do Almirantado (Ilha Rei George).....	32
Figura 2 a) Estação Antártica Comandante Ferraz (E A C F)	33
Figura 2 b) Módulo de Triagem da E A C F.....	33
Figura 2 c) Laboratório Frio da E A C F	33
Figura 2 d) Laboratório de Biologia da E A C F	33
Figura 3 a) Bote inflável “Zodiac”.....	34
Figura 3 b) Lancha Oceanográfica - “Skua”	34
Figura 3 c) Pesca com Vara e Molinete	34
Figura 3 d) Tanque Experimental na lancha “Skua”	34
Figura 4 a) <i>Notothenia neglecta</i> (Foto).....	35
Figura 4 b) <i>Notothenia neglecta</i> (Desenho).....	35
Figura 4 c) Distribuição Geográfica de <i>Notothenia neglecta</i>	35
Figura 5 a) Fibras Musculares – Controle – Natureza.....	36
Figura 5 b) Fibras Musculares – Controle – Jejum	36
Figura 5 c) Fibras Musculares – Jejum - 30 Dias	36
Figura 5 d) Fibras Musculares – Jejum - 60 Dias	36
Figura 6a) Células Hepáticas – Controle – Natureza	37
Figura 6 b) Células Hepáticas – Controle – Jejum	37
Figura 6 c) Células Hepáticas – Jejum - 30 Dias	37
Figura 6 d) Células Hepáticas – Jejum – 60 Dias	37

Figura 9) Tempo de natação de <i>Notothenia neglecta</i>	13
Figura 10) Atividade natatória de <i>Notothenia neglecta</i>	15
Figura 11) Número de Perseguições de <i>Notothenia neglecta</i>	16
Figura 12) Número de Ataques de <i>Notothenia neglecta</i>	17
Figura 13) Número de Indivíduos Agrupados da espécie <i>Notothenia neglecta</i>	18
Figura 14) Número de indivíduos Dispersos da espécie <i>Notothenia neglecta</i>	19
Figura 15. Peso seco do músculo de <i>Notothenia neglecta</i>	22
Figura 16. Água no músculo de <i>Notothenia neglecta</i>	23
Figura 17. Peso úmido de proteínas no músculo de peixes da espécie <i>Notothenia neglecta</i>	24
Figura 18. Peso seco de proteínas no músculo de <i>Notothenia neglecta</i>	25
Figura 19. Peso úmido de lipídeos no músculo de <i>Notothenia neglecta</i>	25
Figura 20. Peso seco de lipídeos no músculo de <i>Notothenia neglecta</i>	26
Figura 21. Peso seco do fígado de <i>Notothenia neglecta</i>	28
Figura 22. Água no fígado de <i>Notothenia neglecta</i>	29
Figura 23. Peso úmido de proteínas no fígado de <i>Notothenia neglecta</i>	29
Figura 24. Peso seco de proteínas no fígado de <i>Notothenia neglecta</i>	30
Figura 25. Peso úmido de lipídeos no fígado de <i>Notothenia neglecta</i>	31
Figura 26. Peso seco de lipídeos no fígado de <i>Notothenia neglecta</i>	31

LISTA DE TABELAS

Tabela I-Comprimento total (Lt) e comprimento standard (Ls), desvio padrão das médias (Sx), comprimentos mínimos e máximos (Ax) e número total de animais (n)	09
Tabela II- Atividade natatória de <i>Notothenia neglecta</i>	14
Tabela III Número de peixes dispersos da espécie <i>Notothenia neglecta</i>	20
Tabela IV: Lipídeos e proteínas totais (expressos em peso úmido e peso seco) e Água no músculo de <i>Notothenia neglecta</i>	21
Tabela V Lipídeos e proteínas totais (expressos em peso úmido e peso seco) e Água no fígado de <i>Notothenia neglecta</i>	27

RESUMO

A adaptação dos peixes ao ambiente antártico está relacionada à sazonalidade de intensidade luminosa e, conseqüentemente, disponibilidade de alimento. Isto causa mudanças nos hábitos alimentares e no comportamento dos peixes nas diferentes estações do ano. *Notothernia neglecta* (Nybelin, 1951) é um teleósteo onívoro, de dieta católica e sujeito à baixa oferta de alimento durante o inverno. O presente trabalho teve como objetivo estudar, através de ensaios em tanques, os efeitos do jejum no comportamento, na composição química e morfologia do fígado e do músculo de *N. neglecta*. Os peixes foram coletados na Baía do Almirantado (Ilha Rei George) nos verões de 1998/99 e 2000/01, sendo os testes realizados nos laboratórios da Estação Antártica Comandante Ferraz. No experimento, 6 indivíduos para cada grupo de teste foram mantidos em jejum por 7, 15, 20, 30, 45 e 60 dias. Um grupo controle foi alimentado e, um outro grupo, também controle foi analisado imediatamente após a captura na natureza. *Notothernia neglecta* é um teleósteo sedentário, com baixa atividade, mas mostrou aumento progressivo de agressividade ao longo do jejum. Não foram encontrados diferenças significativas nos níveis de água, proteína e lipídeos teciduais nos tempos experimentais. No músculo experimental foram encontrados em média: 78,5% de água; 6,4% e 3,0% de proteínas; 35,2% e 17,9% de lipídeos expressos em peso úmido e peso seco respectivamente. No fígado, 72,3% de água; 14,4% e 58,1% de proteínas; e 8,8% e 33,3% de lipídeos expressos pelo peso úmido e peso seco. Alterações morfológicas foram observadas através de microscopia óptica no músculo, após jejum, como desaparecimento parcial das estriações e aumento do perímio na musculatura esquelética. No fígado houve achatamento dos hepatócitos e aumento de vacuolização após jejum. Os resultados indicam que *N. neglecta* aparentemente reduz seu metabolismo e atividade durante períodos de escassez de alimento, apresentando assim grande capacidade adaptativa à variação sazonal do alimento disponível, garantindo sua sobrevivência no ecossistema antártico.

ABSTRACT

The adaptation of fish to the Antarctic environment is related to the sazonality of light intensity and consequent availability of food. This causes changes in the feeding habits and the behaviour of fish in different seasons. *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951 is an endemic teleost in Antarctica. It is omnivorous with catholic diet, and subject to low food offer during the Antarctic winter. The present research aimed to study, through experiments in tanks, the effects of starvation on the behaviour of *N. neglecta* and on the chemical composition and morphology of liver and muscle. Fish were collected from Admiralty Bay (King George Island) , during the summers 1998/99 and 2000/01, and the fish tests were conducted at the Brazilian Antarctic Station Comandante Ferraz. Fish were maintained in 1000 litres tanks. In the experiment, 6 individuals for each test group were food deprived for 7, 15, 20, 30, 45 and 60 days, and the control group was fed every day for the same period. Another control group was analysed immediately after capture from the natural environment. *N. neglecta* are sedentary, and showed very low levels of activity, but increasing aggressiveness along the period of food deprivation. No significant changes were seen in the water, protein and lipid levels along the experimental period. In the muscle mean values of 78.5% water, 6.4% (%DW) and 3.0% (%WW) of protein and 35.2% (%DW) and 17.9% (%WW) of lipids, were obtained, and in the liver 72.3% water, 14.4 % and 58.1% protein and 8.8% and 33.3% lipids. Some morphological changes were noticed in the muscle after starvation, such as partial loss of striation and increase of the perimisium. In the liver, changes in the shape of hepatocytes and increase in vacuolisation were observed. Our results indicate that *N. neglecta* apparently reduces its metabolism and activity in periods of low food supply, showing therefore great adaptive capacity to the sazonal variability in food offer, what guarantees their survival in the Antarctic ecosystem.

I. INTRODUÇÃO

Uma variedade de processos vitais como o crescimento, a reprodução e a sobrevivência de espécies é influenciada por fatores abióticos, entre os quais a temperatura, a salinidade e a luminosidade. Enquanto a temperatura é baixa, porém constante, o regime de luz na região Antártica é extremamente variável nas diferentes estações do ano e característico das regiões polares. No inverno, a quantidade de luz é reduzida, enquanto que no verão a luz é praticamente contínua. Nas outras estações do ano, temos situações intermediárias de luminosidade (RIVKIN & PUTT, 1975; FANTA *et al.*, 1994; FANTA, 1999; FANTA *et al.*, 2001). Além disso, localmente, a transmissão da luz no mar congelado é influenciada por diversos fatores, dentre os quais o ângulo do sol, as condições do gelo marinho, a cobertura de neve e os fatores biológicos como a quantidade de fitoplâncton abaixo da superfície do gelo (BUNT & WOOD, 1963).

As variações sazonais do período e da intensidade de luz a que estão sujeitas as formas de vida na Antártica, levam a alterações na biomassa e na produtividade primária no oceano (EASTMAN, 1993). No inverno, como a quantidade de luz é reduzida, toda a cadeia trófica sofre com a queda da biomassa no primeiro nível de produção. Para se ajustar a essa sazonalidade, os peixes antárticos desenvolveram hábitos alimentares e mecanismos morfofuncionais responsáveis pela obtenção e pelo armazenamento de energia naquelas épocas do ano em que há maior produtividade, sendo consumindo esta reserva energética principalmente no inverno quando o alimento é escasso (CLARKE, 1988; JOHNSTON & BATTRAM, 1993).

Aproximadamente 300 espécies de peixes demersais e pelágicos são encontradas ao sul Convergência Antártica, sendo que a grande maioria endêmica (GRÖSHLER, 1994). O grupo dominante de peixes, em número e biomassa, pertence à Subordem Notothenioidei. Esta subordem representa aproximadamente 50% dos peixes da região (GON & HEEMSTRA, 1990). A radiação adaptativa desse grupo leva a crer que a fauna anterior foi quase toda extinta e que os nototeníóides são um grupo monofilético que ocupou um nicho ecológico (IWAMI, 1985; EASTMAN, 1993). EASTMAN (1991) sugere que o fato do endemismo dos Notothenioidei não estar representado nos registros fósseis encontrados na Antártica, deve estar relacionado com

a sua evolução *in situ*, nas margens do continente, no decorrer da sua adaptação às condições de congelamento durante o Terciário.

Notothenia neglecta (sin. (*Notothenia coriiceps* e *Notothenia coriiceps neglecta*) é uma espécie de peixe antártico com ampla distribuição, habitando as áreas costeiras do continente Antártico, Península Antártica, áreas de recife no arco de Scotia, Ilhas Geórgia do Sul, Bouvetoya, Peter, Orkney do Sul e Sandwich do Sul (EVERSON, 1997; FISCHER & HUREAU 1985). É uma espécie demersal que vive em águas com profundidade entre 0 e 450 metros (KOCK, 1989; TIEDKE & KOCK, 1989 *apud* BARRERA-ORO & CASAUX, 1990), sendo abundante nas profundidades até 200m nas zonas em que o mar congela sazonalmente (FISCHER & HUREAU, 1985; KOCK, 1992).

Apesar de não ser comercialmente explorada, é considerada uma espécie potencialmente importante na região, devido à sua posição na cadeia alimentar antártica (EVERSON, 1997; FISCHER & HUREAU, 1985).

Os peixes, como os outros vertebrados, respondem prontamente à complexidade ambiental devido à flexibilidade do tamanho do corpo, taxa de crescimento e biologia (SNORRASON *et al.*, 1994). Os ritmos biológicos representam um importante papel na adaptação e organização temporal dos organismos vivos, pois permitem aos animais ajustarem seus processos fisiológicos (FANTA *et al.*, 1994) ao tempo cronológico do mundo externo (FIGUEROA *et al.*, 2000).

Limitações morfológicas impõem diferentes comportamentos alimentares (CHAO & MUSICK, 1977; NORTON, 1991). Assim, é possível correlacionar adaptações morfológicas com condições ecológicas (WIENS & ROTEMBERRY, 1980; NORTON, 1991), tais como habitat, hábitos alimentares e composição da dieta (KEAST & WEBB, 1966; ALEXANDER, 1970; SAZIMA & CAMASHI, 1989; GUNN & MILWARD, 1985; MOODIE, 1985; MATTSON, 1990; GUINEA & FERNANDEZ, 1992; RIOS & FANTA, 1998; VIANNA *et al.*, 2000).

Durante o processo evolutivo dos peixes e conforme os hábitos alimentares de cada espécie, um mecanismo próprio foi desenvolvido para a obtenção do alimento, demonstrado através do comportamento alimentar (FANTA *et al.*, 1994; FANTA & MEYER, 1998; FANTA, 1999; FANTA, *et al.* 2001) e associado às modificações morfológicas e fisiológicas do aparelho digestório (DZHUMALIYEV, 1982). Dessa

forma, a relação entre o hábito alimentar e a morfologia e a fisiologia do trato digestório é de grande importância na interpretação das preferências alimentares e nas possibilidades de digestão e absorção do alimento (VIANNA *et al.*, 2000).

Nos peixes antárticos, adaptações ao tipo de presa e ao hábito alimentar, podem ser observadas mesmo em nível de família. Muitos peixes antárticos apresentam hábitos alimentares onívoros e oportunistas como um tipo de adaptação às condições polares (EVERSON, 1984). Com grande diversidade, tanto na dieta quanto no comportamento alimentar, *Notothenia neglecta* é menos especializada na escolha e no método de obtenção da presa se comparada com outras espécies de Nototeniídeos (DANIELS, 1982; KOCK, 1992; RIOS & FANTA; 1998; FANTA & MEYER, 1998). Crustáceos bentônicos, principalmente anfípodas, são as presas mais freqüentes capturadas pelos peixes antárticos, seguidos por poliquetas, isópodas, gastrópodes e bivalves (DANIELS, 1982).

Carboidratos, lipídeos e proteínas são a maior fonte energética dos peixes após a ingestão de alimentos. Estes macronutrientes constituem a maior parte do peso seco ingerido, podendo ser utilizados diretamente como combustível ou ainda, armazenados dentro do corpo para serem utilizados mais tarde. Vitaminas e sais minerais são micronutrientes requeridos pelos peixes e consumidos em pequenas doses, garantindo sua sobrevivência e seu crescimento eficaz (JOBBLING, 1995).

O glicogênio pode ser mobilizado fornecendo a glicose utilizada para a obtenção de energia de forma anaeróbica quando o animal encontra-se em condições severas de hipóxia ou anóxia. Assim, o armazenamento do glicogênio no músculo e no fígado, serve como reserva de alimento durante os períodos de ajuste a novos ambientes (WENDT, 1965). Contudo, para a armazenagem em longo prazo de grandes quantidades de energia, a gordura é a substância mais utilizada. Em peixes, o glicogênio parece ser pouco utilizado, sendo totalmente mobilizado em poucas horas, não servindo como um bom substrato para o armazenamento sazonal de energia (JOBBLING, 1995).

A oxidação dos ácidos graxos produz mais energia, calor e água do que uma quantidade equivalente de carboidratos. Analisando a absorção de lipídios pelos enterócitos de *Notothenia neglecta*, HERNANDEZ - BLAZQUEZ (1996) concluiu que a capacidade de absorção lipídica é maior do que a apresentada por teleósteos de regiões

temperadas, sendo este fator uma adaptação desta espécie às baixas temperaturas (SOMERO *et al.*, 1998).

Aparentemente, *Notothenia neglecta* é capaz de processar o alimento em taxas similares ao longo de todo o ano. Há, no entanto, diferenças sazonais no metabolismo intermediário em peixes que se alimentaram *ad libitum* sendo, por exemplo, os estoques de triglicerídios no fígado 54% maior nos indivíduos aclimatados no verão do que naqueles aclimatados no inverno (JOHNSTON & BATTRAM, 1993). Lipídios são o combustível primário para o metabolismo energético de peixes antárticos (CROCKETT & SIDDELL, 1990). Parece haver redução da atividade alimentar e/ou grande mobilização de lipídios durante os meses de inverno, o que pode possivelmente estar relacionado ao desenvolvimento das gônadas (JOHNSTON & BATTRAM, 1993).

Além de sua importância estrutural e como fonte energética, os lipídios são menos densos e ocupam menos espaço durante a estocagem nos tecidos (EASTMAN, 1993). Ademais, o oxigênio é quatro vezes mais solúvel e difunde-se mais livremente em lipídios do que no citosol aquoso (EASTMAN, 1993). Assim, hipoteticamente, os lipídios intracelulares em peixes antárticos podem aumentar a difusão de oxigênio dos capilares para as mitocôndrias localizadas profundamente nas fibras musculares oxidativas. Essas fibras também podem servir para a estocagem de oxigênio, principalmente nas espécies deficientes de mioglobina (EASTMAN, 1993). Uma vez que a viscosidade citoplasmática é maior em ambientes com baixas temperaturas, o aumento da porcentagem em volume de gotículas lipídicas e mitocôndrias servem para diminuir a distância de difusão e desta forma, compensar a taxa reduzida de difusão de oxigênio e outras substâncias (EASTMAN, 1993).

A digestão decompõe as proteínas dos alimentos em aminoácidos que são absorvidos pela corrente sanguínea e absorvidos para todas as partes do corpo do animal. Assim como as enzimas devem manter um nível ótimo de afinidade com seus substratos e cofatores, para manter uma regulação metabólica apropriada, as subunidades de proteínas multiméricas devem manter afinidades corretas necessárias à automontagem reversível sob condições fisiológicas particulares do meio (DI PRISCO *et al.* 1991).

Diferenças nos níveis de alimento fornecido pelo diferente habitat natural têm sido responsáveis por diferenças nas taxas de crescimento, longevidade, fecundidade e

tempo de desova em *Salmo salar*, sendo que o crescimento dos peixes é anormal quando há uma baixa quantidade de proteínas em sua dieta (SATOMI & NOSE, 1971).

As atividades de síntese protéica no RNA servem como instrumento na investigação da eficácia que diferentes dietas promovem no crescimento. SATOMI & NOSE (1971), demonstraram que um aumento nos níveis de proteína na dieta de *Salmo gairdneri* resultam em um aumento quase proporcional nos níveis de ácidos nucléicos no músculo e nos tecidos do trato digestório desta espécie, assim como no tecido hepático de *Pleuronectes platessa*.

Após a alimentação há um aumento na taxa metabólica (JOBBLING, 1981; JOHNSTON & BATTRAM, 1993). Em peixes de regiões temperadas, as taxas de consumo de oxigênio aumentam de 2 a 3 vezes dentro de poucas horas, quando relacionadas aos níveis de jejum pré-alimentar (JOBBLING, 1992 *apud* JOHNSTON & BATTRAM, 1993). Essa variação depende da temperatura, da composição e do tamanho do alimento e reflete requerimentos energéticos de numerosos processos, incluindo digestão, absorção, estocagem de nutrientes, determinação de aminoácidos, síntese de produtos de excreção e aumento da síntese de proteínas e lipídios associados com o crescimento (JOBBLING, 1995 *apud* JOHNSTON & BATTRAM, 1993).

Padrões sazonais em peixes antárticos, da massa do fígado e da massa total do corpo em relação ao comprimento, sugerem que a energia disponível para o crescimento varia durante o ano (CLARKE & NORTH, 1991). O tamanho relativo do fígado de *N. neglecta* é maior no verão e diminui rapidamente após a desova, sugerindo uma relação com os estádios finais da maturação dos ovos (EVERSON, 1970).

As observações de FANTA *et al.* (1994), demonstraram que durante o verão, o comportamento e as necessidades energéticas de *Notothenia neglecta* e outros peixes antárticos obedecem a um ritmo circadiano. Apesar de ter preferências alimentares específicas (FANTA, 1999), a alimentação não seletiva na natureza (EVERSON, 1984; BARRERO-ORO & CASAUX, 1990; RIOS & FANTA, 1998), constitui uma importante economia energética, reduzindo ao mínimo seu gasto de energia em busca de alimento.

O músculo apresenta as miofibrilas como unidades moleculares de contração. Nestas unidades ocorrem alterações após períodos relativamente curtos de jejum até sua completa desorganização. Após períodos longos de jejum dificilmente os peixes podem

desenvolver suas atividades natatórias ou mesmo sobreviver. Na falta de alimentação as reservas lipídicas do músculo são mobilizadas, a quantidade de fosfolipídio diminui, a proteína muscular é excessivamente retirada e o conteúdo de água aumenta ou se mantém. Tais eventos promovem alterações estruturais nas membranas das fibras a nível celular (LOVE, 1970).

Segundo HIBIYA (1982), grande quantidade de lipídeos e glicogênio são observados no citoplasma das células hepáticas determinando a forma dos vacúolos presentes nas mesmas. Com o armazenamento destes componentes bioquímicos os hepatócitos trabalham com eficiência na sua metabolização. No entanto, alterações na síntese de lipídeos ou o acúmulo dos mesmos no citoplasma causa atrofia ou retração celular e, aumento no número de granulações citoplasmáticas. Embora o núcleo não se altere estruturalmente, citólises ocorrem freqüentemente.

Assim, a partir de observações relacionadas ao comportamento biológico e aos hábitos alimentares de *Notothenia neglecta*, e levando-se em consideração sua relação com os recursos disponíveis na natureza nas diferentes épocas do ano e regiões da Antártica, este trabalho experimental foi desenvolvido com o intuito de estudar o efeito do jejum por períodos de até 60 dias nas reservas energéticas e constitucionais, bem como seus reflexos no comportamento desta espécie e quais seriam, portanto, as conseqüências para a ecologia desta espécie de peixe Antártico.

II. OBJETIVOS

II. 1 – OBJETIVO GERAL

Avaliar experimentalmente o efeito progressivo do jejum sobre o comportamento, a composição química e a morfologia do peixe Antártico *Notothenia neglecta*.

II. 2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar o comportamento de *N. neglecta* em tanques, durante um período de 60 dias de jejum, em comparação com o de peixes alimentados ao longo do mesmo período.
- b) Analisar o conteúdo de proteínas, lipídeos e água no músculo e fígado de *N. neglecta* ao longo do período de 60 dias de jejum, em comparação com o de peixes alimentados no mesmo período e de peixes coletados na natureza durante o verão antártico.
- c) Analisar o estado morfológico do fígado e do músculo de *N. neglecta*, através de microscopia óptica, ao longo do período de 60 dias de jejum em comparação com o de peixes alimentados no mesmo período e de peixes coletados na natureza durante o verão antártico.

III. MATERIAL E MÉTODOS

III. 1 – LOCAL DE ESTUDO

A Baía do Almirantado está situada ao sul da Ilha Rei George e esta se localiza a oeste da Península Antártica (Fig. 1a e 1b). A Ilha Rei George é a maior ilha do arquipélago da Shetlands do Sul, possuindo um território de 1.300km², sendo que 90% da sua superfície está revestida por gelo (Fig. 1c). A Baía do Almirantado é a maior baía da ilha, com um volume de água de 24,24 km³ (100%) e uma profundidade média de 201,7 m. (RAKUSA- SUSZCZEWSKI, 1980).

A Estação Antártica Brasileira Comandante Ferraz (E A C F.) está localizada na Península Keller da Baía do Almirantado (62° 05'S - 58° 23', 5W) (Fig. 2a). A E A C F está equipada com módulos com tanques para triagem e estocagem de animais marinhos (Fig. 2b); outros com temperatura controlada em torno de 0°C, onde existem tanques para a realização de bioensaios (Fig. 2c). Há ainda módulos utilizados para o desenvolvimento de análises laboratoriais (Fig. 2d). A EACF conta também com botes infláveis “Zodiac” (Fig. 3a) e uma lancha oceanográfica “Skua” (Fig. 3b).

III. 2 – MATERIAL BIOLÓGICO

III. 2.1 – CARACTERIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES

Os 100 espécimes estudados apresentaram em média o comprimento total (Lt) de 33,5 cm, desvio padrão (Sx) de $\pm 5,02$, com amplitude de variação (Ax) 24,0 cm - 51,0 cm (Tab. I).

Dos espécimes estudados, 89% eram adultos e destes, 41% fêmeas e 59% machos. Os 11% restantes eram juvenis.

Tabela I-Valores médios de comprimento total (Lt) e comprimento padrão (Ls), desvio padrão das médias (Sx), comprimentos mínimos e máximos (Ax) e número total de animais (n) avaliados neste trabalho.

<i>Notothenia neglecta</i>	x	Sx	Ax	n	
Lt (cm)	39,1	5,02	24,00	51,00	100
Ls (cm)	31,3	4,57	20,00	45,5	100

A identificação dos exemplares de *Notothenia neglecta* (Nybelin 1951) usados neste trabalho foi feita de acordo com FISCHER & HUREAU (1985). O teleósteo estudado pertence à Ordem Perciforme, Sub-ordem Notothenioidei e Família Nototheniidae (Fig.4a).

KOCK (1992) considera *Notothenia neglecta* (Nybelin 1951), como sinônimo de *Notothenia coriiceps*. Sabe-se, no entanto, que existe uma considerável variação das características merísticas e morfométricas nesta espécie (EVERSON, 1984; FANTA *et al.*, 2001). Nybelin (1951) descreveu *Notothenia neglecta* como uma nova espécie, porém segundo GON & HEEMSTRA (1990), Nybelin teria utilizado exemplares jovens de *Notothenia coriiceps* (Richardson, 1844). Como nesse trabalho a identificação dos espécimes foi feita segundo FISCHER & HUREAU (1985), a nomenclatura adotada será *N. neglecta*, já que os exemplares têm dados merísticos que os aproximam mais desta espécie (Fig.4b).

III. 3 – DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

Os espécimes de *Notothenia neglecta* foram coletados a uma profundidade de 20-40m com rede de espera trimalha e com vara e molinete, de 10-15 m de profundidade (Fig. 3a), durante o verão antártico, nos meses de dezembro de 1999 a março de 2000 e de dezembro de 2000 a janeiro de 2001 na Baía do Almirantado. Os peixes coletados eram colocados nos tanques com água do mar na lancha oceanográfica (Fig. 3d), durante o transporte para os tanques da Estação Antártica Comandante Ferraz.

As condições abióticas do período de aclimação foram mantidas durante todas as fases experimentais: pH 7,0 (± 0.2), salinidade 34% (± 0.5) e temperatura 1,0°C (± 0.5). O fotoperíodo foi mantido em 22 horas de luz, 2 horas de escuro, semelhante ao encontrado na natureza no verão austral. Lâmpadas vermelhas simulavam o período escuro e lâmpadas convencionais o período claro.

Em cada tanque foram colocados 6 peixes, alimentados diariamente às 18:00h (período claro) com pedaços de peixe na proporção de 5g/kg de peixe. Os peixes foram alimentados no primeiro dia experimental após a aclimação (T_0) e distribuídos aleatoriamente em tanques de 1000 litros. Os peixes do grupo controle continuaram a ser alimentados diariamente às 18:00h com pequenos filés de peixe da mesma espécie ou de *Trematomus newnesi*. Os peixes experimentais foram mantidos em jejum completo, por um período máximo de 60 dias.

Os seguintes estudos foram realizados:

III. 3.1 – ANÁLISE COMPORTAMENTAL

As observações do comportamento, tanto dos peixes mantidos em jejum (experimentais) como dos alimentados (controle), foram realizadas duas vezes ao dia, às 08:00h (manhã) e às 20:00h (noite), respectivamente, 6 e 18 horas após o início do período iluminado. Cada indivíduo foi observado durante 10 minutos, pelo método direto.

Os seguintes itens comportamentais foram observados e relatados: (1) quantidade de peixes em natação (deslocando-se pelo tanque); (2) tempo de natação, (3) agressividade que compreende os seguintes subitens: a) número de ataques (considerado

quando um peixe nadava direcionadamente ao encontro de outro, empurrando ou mordendo seu oponente) e b) número de perseguições (quando o peixe agressor nadava atrás do oponente, que tentava se deslocar para escapar da agressão); (4) distribuição dos peixes no tanque (número de peixes agrupados ou não) e, (5) posição dos peixes nos tanques (foram consideradas as regiões: parede, canto e meio dos tanques).

Para as análises, os dados foram reunidos em períodos de 1-7, 8-15, 16-30, 31-45 e 46-60 dias de observação. A análise estatística foi realizada pelo teste de análise de variância (ANOVA) seguida do teste de comparação múltipla de Bonferroni. A significância estatística se deu em nível de 95% ($p < 0.05$). Os cálculos foram realizados com auxílio do software GraphPad ® Prism, versão 1995.

III. 3.2 – ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Foram realizadas análises dos níveis de proteínas, lipídeos, peso seco e água no fígado e músculo esquelético de peixes capturados na natureza, de espécimes submetidos experimentalmente a jejum, bem como de peixes controle, alimentados em tanques.

Quarenta e dois peixes foram alimentados no primeiro dia de aclimação e distribuídos aleatoriamente em tanques. Um grupo com seis animais controle foi alimentado diariamente às 18:00 h e cinco grupos foram mantidos em jejum por 7, 15, 20, 30 e 60 dias.

No final de cada período experimental os animais foram sacrificados. Amostras de fígado e músculo foram coletadas e acondicionadas em tubos de microcentrifugação de 1,5 ml e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido.

O material foi transportado para o Laboratório de Impacto Ambiental da UFPR, na câmara fria do Navio de Pesquisas Oceanográficas Ary Rongel. Posteriormente, este material foi mantido em freezer (-20° C) até o momento das análises.

Para as análises bioquímicas, as amostras foram pesadas e homogeneizadas em água destilada nas proporções de 1:9 (músculo) e 1:19 (fígado). Duas alíquotas de 50 µl foram separadas para o teste de proteína e três alíquotas de 200 µl para determinação de lipídeos (Anexo I).

Para a determinação de proteínas totais utilizou-se o Método de LOWRY *et al.* (1951) (Anexo II).

A extração de lipídeos foi feita de acordo com BLIGH & DYER (1959) (Anexo III) e a quantificação com kit de lipídeos totais (Labtest ®).

Os pesos úmido e seco de cada amostra foram determinados através de pesagem de alíquotas de aproximadamente 1000µl, antes e após secagem em estufa a 60°C durante 72 horas. Foi utilizada balança analítica de precisão (Precision – PR 100 ®).

Através do teste de análise de variância (ANOVA) foram comparadas as médias de cada componente, no músculo e fígado dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos. Quando as variâncias não foram homogêneas, o teste de Kruskal-Wallis foi aplicado. Os resultados foram obtidos com o auxílio do programa STATISTICA FOR WINDOWS ® versão 5 (Stat Soft, Inc). O nível de significância adotado foi $p < 0.05$.

III. 3.3 – ANÁLISE HISTOLÓGICA DO FÍGADO E MÚSCULO

As análises histológicas foram realizadas em tecidos coletados dos mesmos peixes utilizados nas análises bioquímicas. Nos tempos 7, 15, 20, 30, 45 e 60 dias após o tempo inicial T_0 foram coletadas amostras de músculo da região posterior das nadadeiras peitorais, assim como de fígado na porção mediana dos lóbulos hepáticos.

As amostras dos tecidos foram lavadas com solução fisiológica de Cortland (WOELF, 1963) e fixadas em líquido de Bouin (BÜCHERL, 1962; CULLING *et al.*, 1985) para a microscopia óptica (Anexo IV). Após a fixação do material procedeu-se a desidratação de rotina e inclusão das amostras em Paraplast Plus® (Anexo V), sendo obtidos cortes em 2-3 µm, que foram corados com Hematoxilina-Eosina (CLARK, 1981) (Anexo VI).

IV. RESULTADOS

IV. 1 – COMPORTAMENTO

IV. 1.1 – ATIVIDADE NATATÓRIA

Notothenia neglecta tem baixa atividade natatória, sendo que um indivíduo se movimenta em média apenas durante 1,54 % do tempo. Nem todos os peixes, em um grupo de 6 animais, se movimentaram. Durante a maior parte do tempo os peixes ficaram em repouso, apoiados no substrato.

Nos primeiros sete dias após os T₀, dois animais em média nadavam ativamente durante a manhã e quatro durante a noite. Depois deste período até o final do experimento, o número de peixes em movimento foi dois animais nadando em cada tanque, tanto de manhã quanto à noite, não havendo diferença significativa desta proporção entre os peixes controle alimentados e os experimentais em jejum.

O tempo médio (\pm erro padrão da média) da atividade natatória dos peixes, tanto dos animais controle como dos experimentais submetidos ao jejum e avaliados pela manhã foi significativamente maior do que a dos peixes em jejum no período da tarde (Fig.09).

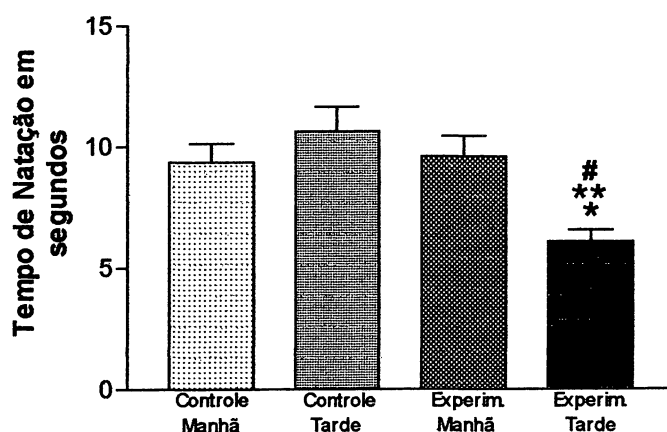


Figura 09. Média \pm erro padrão da média do tempo de natação de *Notothenia neglecta* avaliado em segundos, conforme os diferentes grupos experimentais e turno de observação. O teste estatístico aplicado foi o de análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Bonferroni.

* Difere estatisticamente do grupo controle manhã para $p < 0.05$;

** Difere estatisticamente do grupo controle tarde para $p < 0.001$;

Difere estatisticamente do grupo experimental manhã para $p < 0.01$

Observam-se variações da porcentagem de tempo em que os peixes estão em atividade natatória ao longo do experimento e de acordo com a condição alimentar. Os peixes do grupo controle não apresentaram diferenças significativas na porcentagem de tempo em natação entre os períodos da manhã e da tarde. Entretanto o nível de atividade natatória média foi constante nos primeiros quinze dias e crescente até o final do experimento.

Os peixes submetidos ao jejum apresentaram diferenças significantes ($p=0.02$) entre tempo em atividade no período da manhã e à tarde e, portanto cada período foi analisado separadamente. Os animais avaliados no período da manhã apresentaram uma atividade natatória reduzida nos primeiros e nos últimos quinze dias de avaliação. Porém quando analisamos estes mesmos animais durante o período da tarde, foi possível constatar que estes apresentaram um decréscimo na atividade natatória, sendo mais acentuado durante a última quinzena de observação (Tab. II).

Tabela II- Média \pm erro padrão da porcentagem da atividade natatória de peixes *N. neglecta* controles e experimentais nos diferentes períodos, agrupados conforme os vários dias de observação.

Notothenia neglecta		DIAS DE OBSERVAÇÃO				
GRUPOS	PERÍODO	01-07	08-15	16-30	31-45	46-60
Controle	Manhã	1.23 \pm 0.25	1.37 \pm 0.18	1.86 \pm 0.32	1.24 \pm 0.24	1.89 \pm 0.31
	Tarde	1.05 \pm 0.13	1.41 \pm 0.28	1.42 \pm 0.21	2.30 \pm 0.39	2.04 \pm 0.40
Experimental	Manhã	2.00 \pm 0.44	1.30 \pm 0.42	1.20 \pm 0.14	2.03 \pm 0.31	1.55 \pm 0.31
	Tarde	0.70 \pm 0.25	1.05 \pm 0.15	1.13 \pm 0.11	1.38 \pm 0.22	0.65 \pm 0.11

*, **, #.

A análise estatística foi realizada pela análise de variância seguida pelo teste de Bonferroni.

*Difere do grupo controle de 31-45 dias tarde para $p<0.001$

** Difere do grupo controle de 46-60 dias tarde para $p<0.05$

Difere do grupo experimental de 31-45 dias manhã para $p<0.05$

Peixes submetidos ao jejum por 46-60 dias apresentaram uma redução significativa de atividade natatória, quando comparado aos peixes dos grupos controle 31-45 dias tarde; controle 46-60 dias tarde e aos animais do grupo experimental 31-45 dias manhã (Fig. 10).

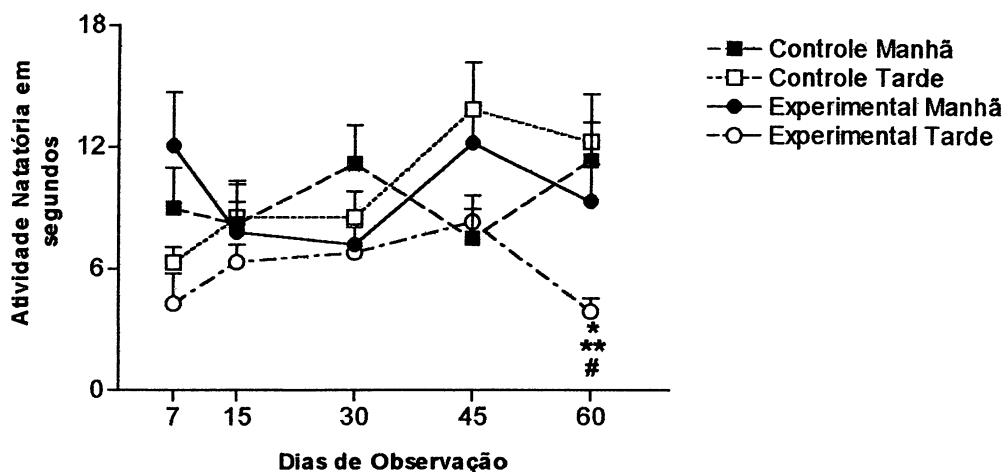


Figura 10. Média \pm erro padrão da média da atividade natatória de *Nototothenia neglecta* avaliado em segundos, conforme os diferentes grupos experimentais, turno e dias de observação. O teste estatístico aplicado foi o de análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Bonferroni.

*Difere do grupo controle de 31-45 dias tarde para $p < 0.001$

** Difere do grupo controle de 46-60 dias tarde para $p < 0.05$

Difere do grupo experimental de 31-45 dias manhã para $p < 0.05$

IV. 1.2 – AGRESSIVIDADE

Nos primeiros sete dias de observação os peixes alimentados diariamente não demonstraram nenhum comportamento agressivo. Após quinze dias e até o final do experimento, no entanto, observou-se disputa pelo alimento, com demonstrações constantes de agressividade, com nítida hierarquia dos animais de tamanhos diferentes, sendo que o dominante foi o animal que possuía comprimento total maior.

Durante os primeiros trinta dias de jejum, os peixes demonstraram comportamento agressivo constante, sendo que os peixes menores foram perseguidos

pelos maiores. Nos últimos quinze dias, entretanto, tanto os ataques quanto as perseguições cessaram.

O valor médio do número de perseguições não foi alterado quando analisamos os animais dos grupos controle e experimental, durante os turnos diurno e noturno e nos diferentes dias de observação dos animais. (Fig. 11). A variabilidade observada entre os animais do grupo experimental tarde - período de 1-7 dias de jejum ocorreu devido a um único animal que apresentou 11 perseguições durante este período.

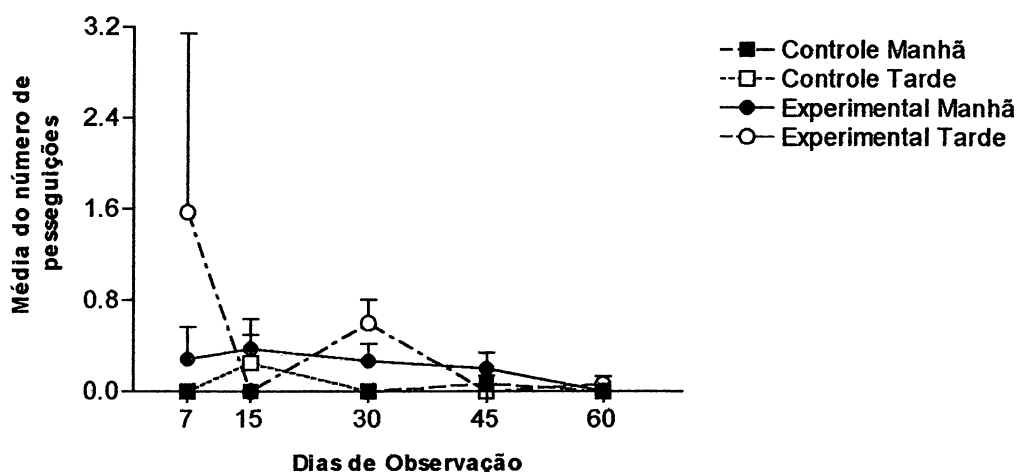


Figura 11. Média \pm erro padrão da média do número de perseguições avaliadas na *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais, turno e dias de observação. O teste estatístico aplicado foi o de análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Bonferroni.

O número médio de ataques apresentados pelos peixes durante todo o experimento foi muito variável. Esta variabilidade não permitiu uma identificação estatística das diferenças. Podemos verificar, no entanto, uma tendência de aumento no comportamento de ataque entre os animais que estavam em jejum, no turno da noite, entre o período de 16-30 dias de experimento, quando comparado aos animais dos dois grupos controle neste mesmo período de observação (Fig. 12).

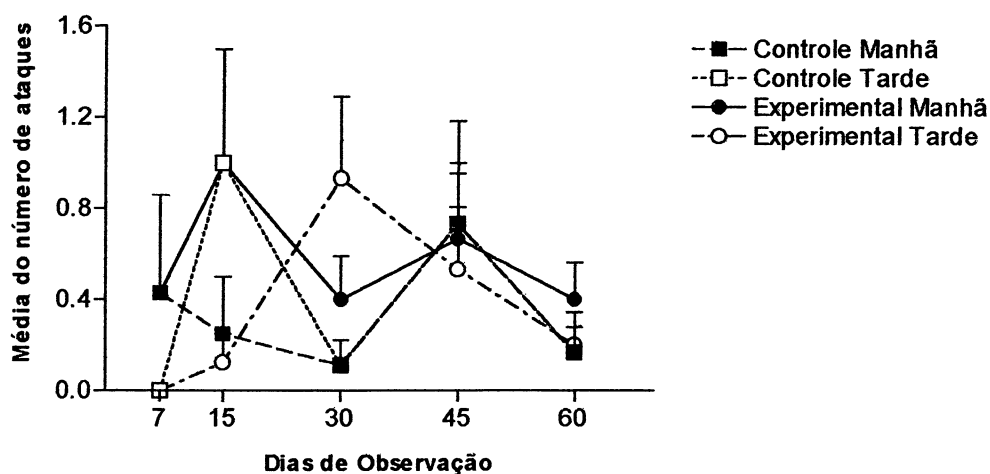


Figura 12. Média \pm erro padrão da média do número de ataques avaliados na *Notothernia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais, turno e dias de observação. O teste estatístico aplicado foi o de análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Bonferroni.

IV. 1.3 – DISTRIBUIÇÃO / POSIÇÃO

Foi observada uma tendência para que os animais controle apresentassem um maior padrão de agrupamento quando comparados aos animais dos grupos experimentais. Isso ocorreu nos primeiros trinta dias de observação. Após este período, a tendência dos grupos experimentais foi de apresentar o mesmo padrão de resposta comportamental, isto é, em média, três animais agrupados.

Ao serem mantidos em jejum, *Notothernia neglecta* demonstraram preferência por permanecerem agrupados, seja em grupos de quatro ou seis animais, o que foi mais claramente observado nos últimos quinze dias do experimento (Fig. 13).

O grupo controle de *Notothernia neglecta* passou grande parte do tempo no fundo do tanque e o grupo experimental teve como local preferido o canto dos tanques.

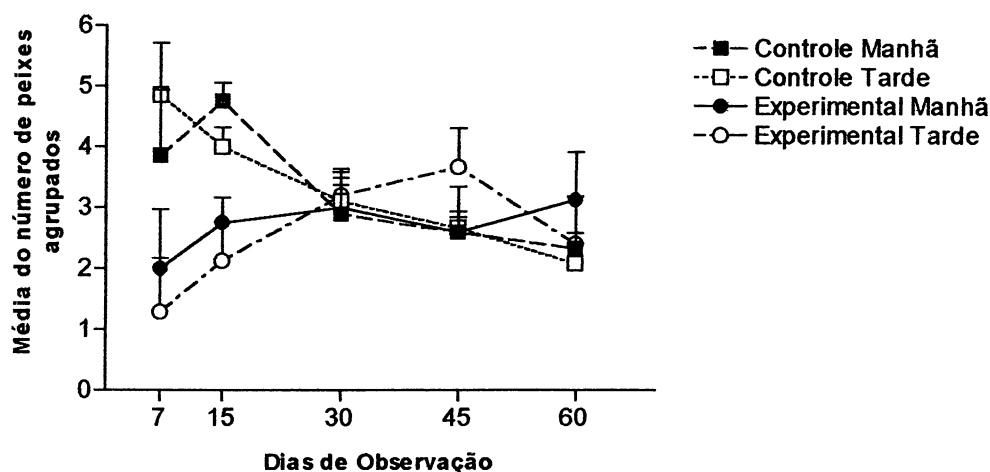


Figura 13. Média \pm erro padrão da média do número de peixes da espécie *Notothenia neglecta* agrupados, conforme os diferentes grupos experimentais, turno e dias de observação. O teste estatístico aplicado foi à análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni.

Quando avaliamos o número de peixes dispersos, o resultado foi inverso ao descrito para o número de agrupados. Os animais dos grupos experimentais tenderam a apresentar maior dispersão quando comparados aos animais dos grupos controle, durante os primeiros trinta dias de observação. No entanto, pela grande variabilidade nas respostas, não foi possível detectarmos diferenças significativas na comparação entre os grupos (Fig. 14).

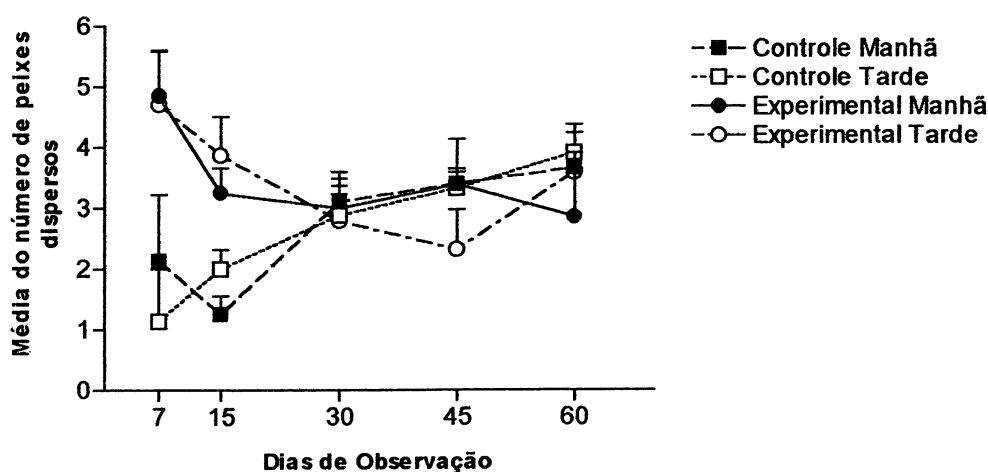


Figura 14. Média \pm erro padrão da média do número de peixes da espécie *Notothenia neglecta* dispersos, conforme os diferentes grupos experimentais, turno e dias de observação. O teste estatístico aplicado foi o de análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Bonferroni.

Entretanto, foi possível a detecção de diferenças estatísticas na comparação de respostas apresentadas pelos animais quando avaliamos o número de animais nas posições: 1-canto; 2- parede e 3- meio do tanque (Tab. III).

Tabela III- Média \pm erro padrão da porcentagem da média do número de posições (1-canto; 2- parede; 3- meio do tanque) avaliadas no peixe da espécie *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais, turno e dias de observação.

<i>Notothenia neglecta</i>		DIAS DE OBSERVAÇÃO				
GRUPOS	PERÍODO	01-07	08-15	16-30	31-45	46-60
Controle	Manhã	1.71 \pm 0.28	2.62 \pm 0.18	2.00 \pm 0.33	1.20 \pm 0.11	1.58 \pm 0.15
	Tarde	2.29 \pm 0.28	1.25 \pm 0.16	1.89 \pm 0.35	1.33 \pm 0.13	1.17 \pm 0.11
Experimental	Manhã	1.29 \pm 0.18	1.62 \pm 0.18	1.93 \pm 0.15	1.40 \pm 0.13	1.33 \pm 0.13
	Tarde	0.43 \pm 0.30 **, #	1.50 \pm 0.19 **, #	1.60 \pm 0.13 **	1.20 \pm 0.11 *, #	0.27 \pm 0.121 *, **, #

O teste estatístico aplicado foi o de análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Bonferroni.

* Difere do grupo controle de 1-7 dias tarde para $p < 0.05$

** Difere do grupo controle de 8-15 dias manhã para $p < 0.05$

Difere do grupo controle de 8-15 dias manhã para $p < 0.001$

Dessa forma, os animais do grupo controle tarde 1-7 dias, apresentaram diferenças significativas ($p < 0.05$) entre os seguintes grupos: controle 31-45 dias manhã; experimental 31-45 dias tarde; controle 46-60 dias tarde; experimental 46-60 dias tarde.

IV. 2 – BIOQUÍMICAIV. 2.1 – MÚSCULO

Nenhum dos componentes bioquímicos variou significativamente no músculo, ao longo de 60 dias de jejum. O músculo de *Notothenia neglecta* possui em média 78,5% de água e 21,5% de peso seco. Estes componentes apresentaram grande variabilidade evidenciada, por exemplo, pelos valores de peso seco mínimo de 6,6% e máximo de 39,0% (Tab. IV).

Tabela IV: Médias das porcentagens de lipídeos e proteínas totais (expressos em peso úmido e peso seco) e do peso seco e da água no músculo de *Notothenia neglecta*: X (\pm dp,n).
Ps- peso seco; PrPu- proteína expressa em peso úmido; PrPs- proteína expressa em peso seco; LipPu- lipídeo expresso em peso úmido; LipPs-lipídeo expresso em peso seco.

Tratamento	Ps	Água	PrPu	PrPs	LipPu	LipPs
P	0,125	0,282	0,357	0,162	0,4602	0,403
Natureza	21,8 (8,6; 14)	77,7 (8,8;14)	6,7 (1,6; 8)	31,6 (11,2; 8)	2,9 (2,8; 7)	15,1 (12,2; 7)
Controle	25,4 (9,4; 11)	75,0 (9,4; 11)	7,2 (1,6; 5)	35,3 (16,3; 5)	2,1 (1,3; 8)	9,7 (10,1; 8)
Jejum (7 dias)	18,4 (11,6; 5)	81,6 (11,6; 5)	7,2 (3,0; 4)	56,8 (29,6; 4)	3,3 (1,7; 5)	20,5 (12,8; 5)
Jejum (20 dias)	18,1 (4,8; 5)	81,1 (4,8;5)	5,9 (3,8; 4)	34,1 (28,9; 4)	2,1 (1,1; 4)	13,5 (8,7; 4)
Jejum (30 dias)	13,6 (4,7; 5)	86,4 (4,7;5)	-	-	4,4 (1,2; 7)	35,7 (19,8; 5)
Jejum (60 dias)	24,2 (5,4; 6)	75,8 (5,4; 6)	4,6 (3,6; 4)	22,0 (19,4; 4)	3,9 (2,1; 6)	18,1 (13,3; 6)
Média Geral	21,3 (8,6;46)	78,5 (8,7;46)	6,4 (2,6;25)	35,2 (20,4;25)	3,0 (1,8;37)	17,9 (14,6;35)
Mínimo	6,6	61,0	1,1	5,2	0,4	2,0
Máximo	39,0	88,8	11,4	98,9	9,2	68,2

A figura 15 representa a média \pm dp do peso seco no músculo de *Notothenia neglecta*, conforme o tempo de jejum destes animais. Mesmo não apresentando significância estatística, observamos pequena aumento de peso seco deste órgão nos animais experimentais aos 60 dias. Este valor volta a se elevar, apresentando valor semelhante ao controle.

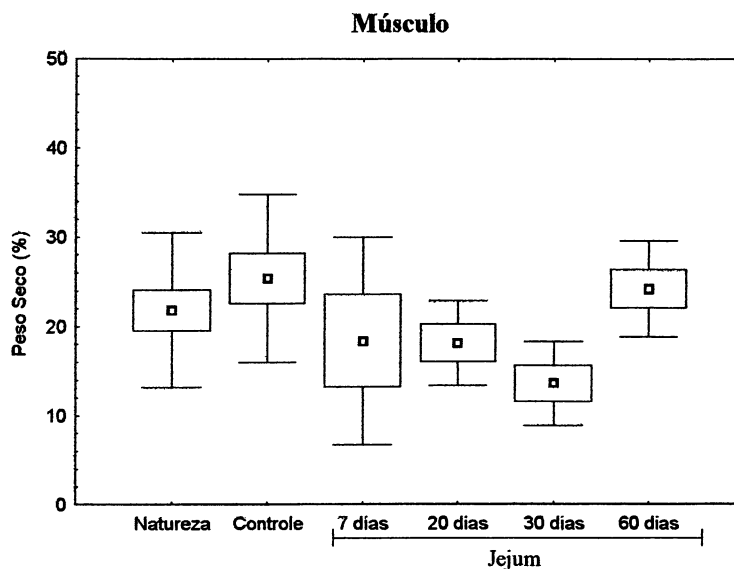


Figura 15. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) do peso seco no músculo de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

Pela análise da figura 16 na qual estão representadas as médias \pm dp e ep na porcentagem de água dos músculos de *Notothenia neglecta*, verificamos que não houve diferença significativa entre os vários grupos avaliados. Inversamente ao resultado de peso seco, existe uma tendência de aumentar a água entre 7 e 30 dias de jejum, e reduzir aos 60 dias.

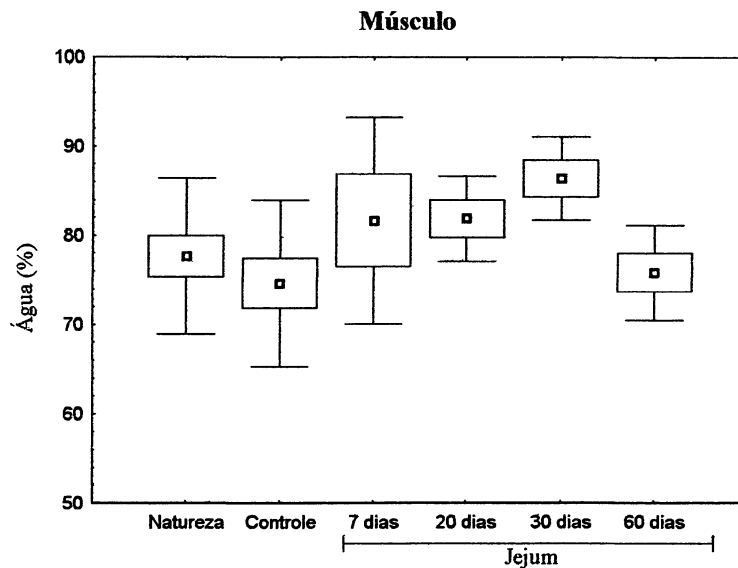


Figura 16. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) de água no músculo de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

A quantidade de proteínas também foi determinada e expressa em peso úmido (Fig 17) e peso seco (Fig 18). Conforme verificado, não houve alteração significativa, quando comparamos os dados referentes aos diferentes grupos experimentais. Apesar disto, foi observado uma tendência de diminuição na quantidade de proteínas do músculo após 20 dias de jejum (Fig. 17, 18). Não foi possível analisar os músculos dos peixes com 30 dias de jejum pela insuficiência de material necessário para esta determinação.

No músculo dos peixes também foi determinada a quantidade de lipídeos. Como podemos verificar não foi detectada alteração significativa de lipídeos expressos em peso úmido quando analisamos os vários grupos experimentais (Fig. 19).

Por outro lado, quando analisamos os valores médios da quantidade de lipídeos expressos em peso seco, foi possível verificar que, animais com 30 dias de jejum, apresentaram aumento deste parâmetro bioquímico avaliado quando comparado com os animais do grupo controle. Estes dados podem ser mais bem visualizados na análise da figura 20.

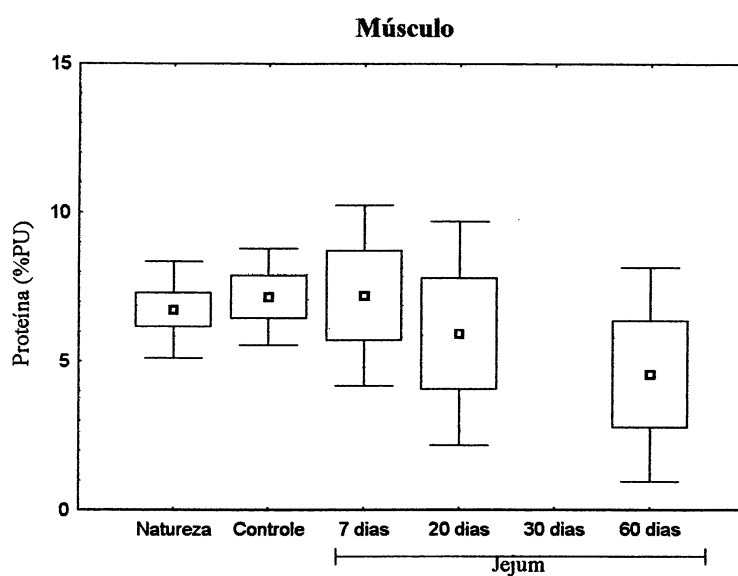


Figura 17. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) do peso úmido de proteínas no músculo de peixes da espécie *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

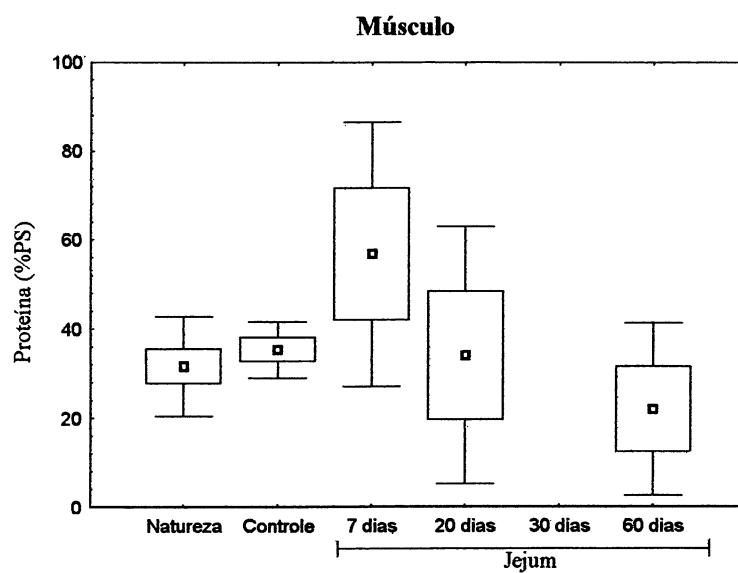


Figura 18. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) do peso seco de proteínas no músculo de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

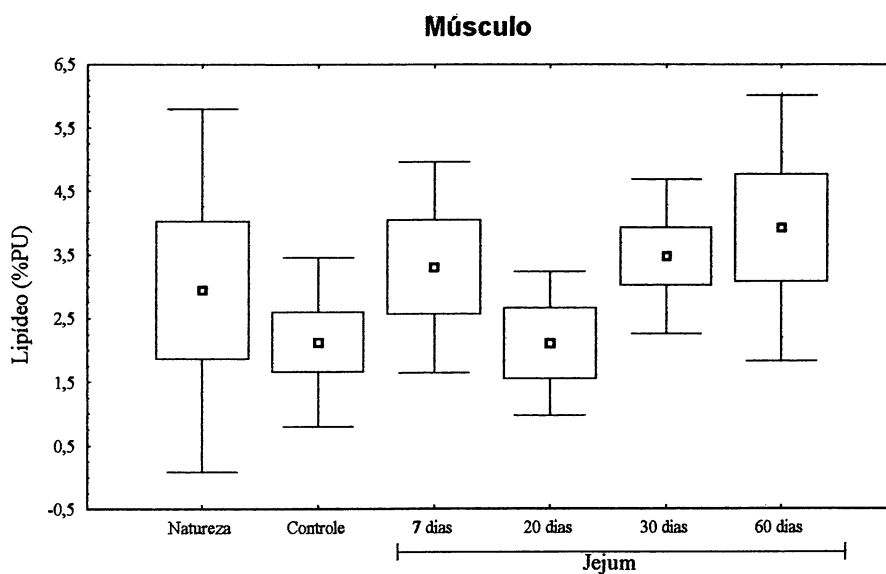


Figura 19. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) do peso úmido de lipídeos no músculo de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

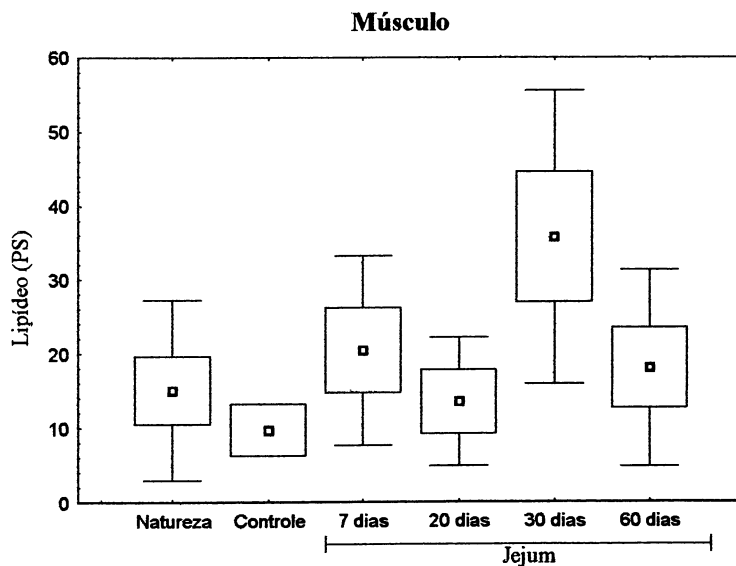


Figura 20. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) do peso seco de lipídeos avaliadas no músculo de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

IV. 2 1 – FÍGADO

Nenhum dos componentes bioquímicos variou significativamente no fígado ao longo de 60 dias de jejum. O fígado de *Notothenia neglecta* possui em média 72,3% de água e 27,5% de peso seco. O peso seco também apresentou grande variabilidade evidenciada pelos valores mínimos de peso seco de 10,6% e máximo de 44,6% (Tab. V).

Tabela V: Médias das porcentagens de lipídeos e proteínas totais (expressos em peso úmido e peso seco) e do peso seco e da água no fígado de *Notothenia neglecta*: $X (\pm dp, n)$.
Ps- peso seco; PrPu- proteína expressa em peso úmido; PrPs- proteína expressa em peso seco; LipPu- lipídeo expresso em peso úmido; LipPs-lipídeo expresso em peso seco.

Tratamento	Ps	Água	PrPu	PrPs	LipPu	LipPs
p	0,738	0,722	0,055	0,088	0,125	0,145
Natureza	26,8	72,7	7,4	77,3	7,8	29,1
	(6,6; 14)	(6,3; 14)	(6,0; 9)	(38,9; 9)	(2,7; 6)	(15,5; 6)
Controle	29,1	70,9	15,7	48,6	6,5	20,1
	(5,5; 11)	(5,5; 11)	(5,6; 5)	(15,2; 5)	(2,2; 7)	(10,3; 8)
Jejum	33,5	66,5	6,9	23,0	13,7	43,0
(7 dias)	(6,4; 5)	(6,5; 5)	(1,5; 3)	(4,2; 3)	(6,1; 5)	(22,5; 5)
Jejum	24,0	76,0	10,7	48,0	7,2	30,4
(20 dias)	(6,0; 2)	(6,0; 2)	(4,3; 2)	(29,9; 2)	(0,5; 2)	(5,5; 2)
Jejum	23,7	76,4	-	-	8,7	45,3
(30 dias)	(6,6; 6)	(6,6; 6)			(4,0; 8)	(21,2; 6)
Jejum	26,5	73,6	13,1	58,2	8,7	34,6
(60 dias)	(11,3; 6)	(11,4; 6)	(11,0; 4)	(5,7; 6)	(5,7; 6)	(18,6; 6)
Média Geral	27,5	72,3	14,4	58,1	8,8	33,3
	(7,2; 44)	(5,2; 44)	(6,0; 23)	(31,6; 23)	(4,5; 34)	(18,3; 33)
Mínimo	10,6	62,0	5,5	18,2	1,1	3,7
Máximo	44,6	89,4	16,1	73,6	21,6	81,1

A figura 21 representa a média \pm dp e ep do peso seco dos fígados de *Notothenia neglecta*, conforme o tempo de jejum destes animais. Pudemos verificar que houve uma tendência de redução de peso seco após 20 dias de jejum.

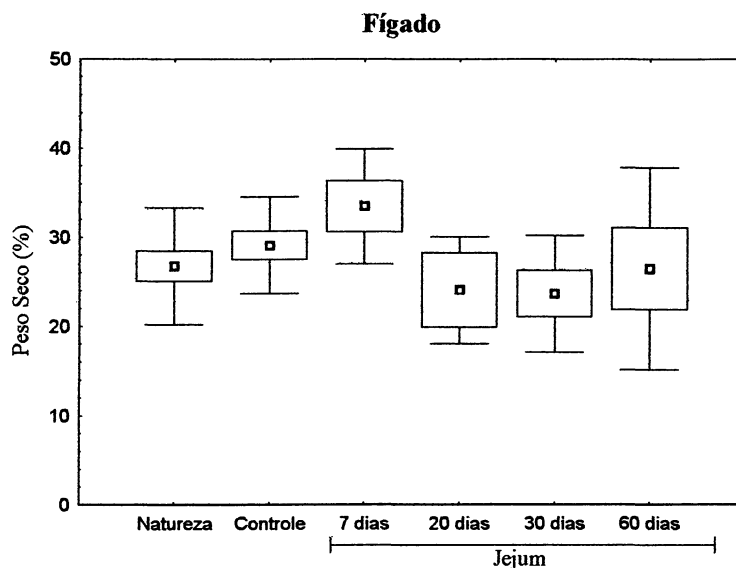


Figura 21. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) de peso seco no fígado de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

Pela análise da figura 22 onde representamos a média \pm dp e ep da água dos fígados dos peixes da espécie *Notothenia neglecta*, divididos conforme o tempo de jejum, observamos que apesar de não verificarmos diferença significativa entre os grupos analisados, existe um discreto aumento neste componente após 20 dias de jejum.

Quando analisamos os dados da determinação de proteínas, expressos em peso úmido, pudemos verificar uma diminuição deste parâmetro bioquímico entre os animais, a partir de sete dias de jejum, em relação aos animais da natureza e controle, ($p= 0,055$) (Fig. 23).

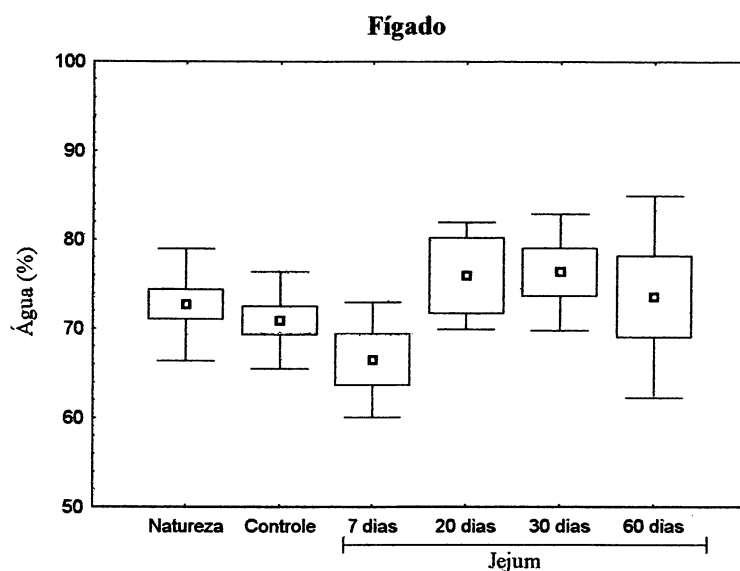


Figura 22. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) de água no fígado de *Notothernia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

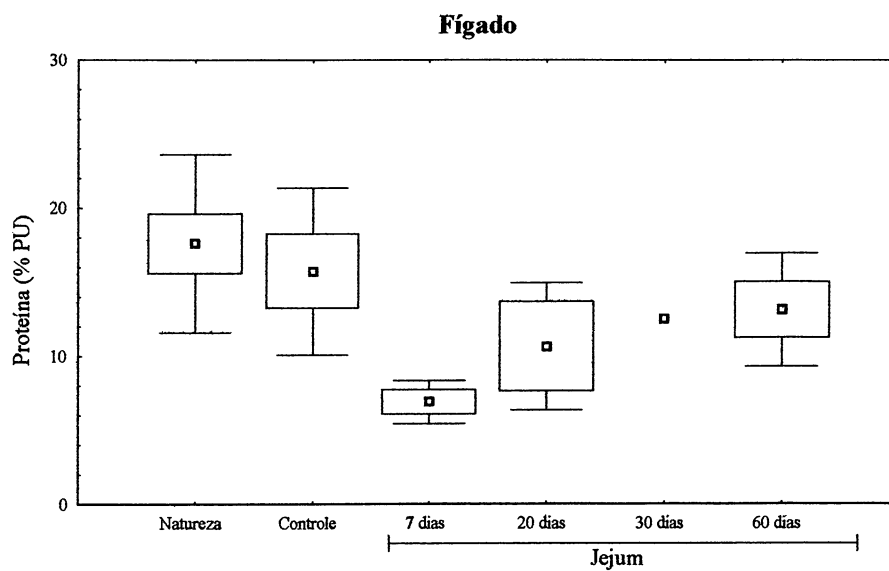


Figura 23. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) expressos em peso úmido de proteínas no fígado de *Notothernia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação

Quando realizamos a análise dos dados de proteína, expressos em peso seco, a mesma relação descrita anteriormente foi observada. Desta forma, animais com 7 dias de jejum apresentaram uma redução deste parâmetro bioquímico quando comparado aos animais dos grupos controle e natureza ($p= 0,088$). Estes dados estão representados na figura 24.

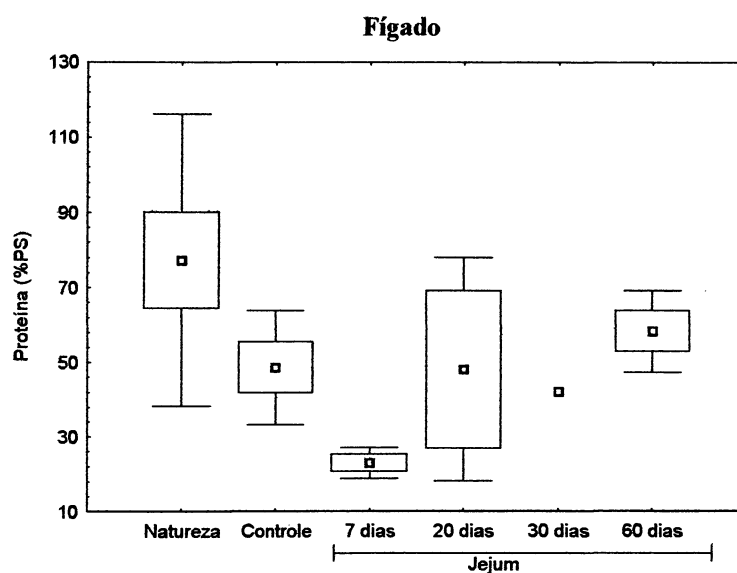


Figura 24. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) do peso seco de proteínas no fígado de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais dias de observação.

A determinação de lipídeos também foi realizada no tecido do fígado. Foi possível verificar uma tendência de aumento deste parâmetro bioquímico entre os animais com 7 dias de jejum. Entretanto, três animais apresentaram dados discrepantes em relação aos demais, o que justifica a impossibilidade de observação de significância na análise dos dados (Fig. 25).

Quando avaliamos este mesmo parâmetro bioquímico, expresso em peso seco, não foi possível determinar qualquer alteração estatisticamente significativa na análise entre grupos (Fig. 26).

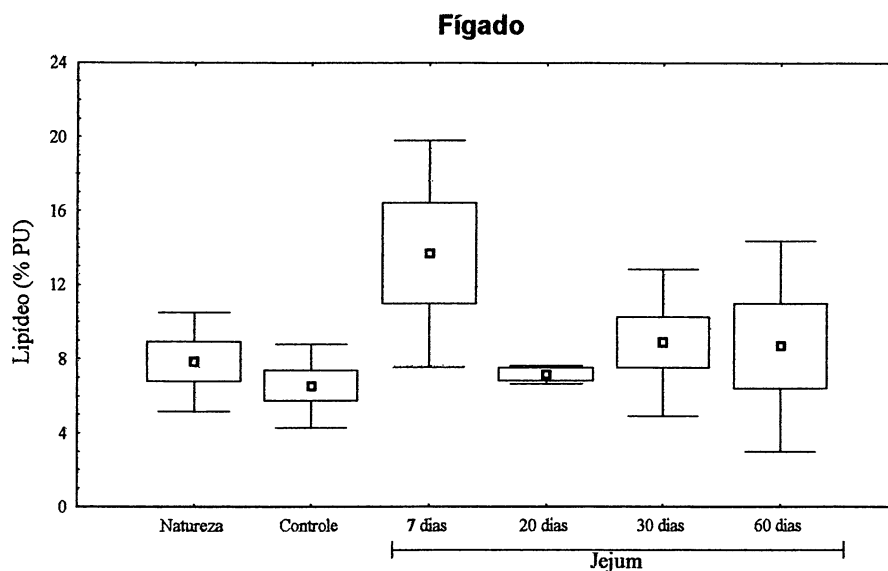


Figura 25. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) do peso úmido de lipídeos no fígado de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

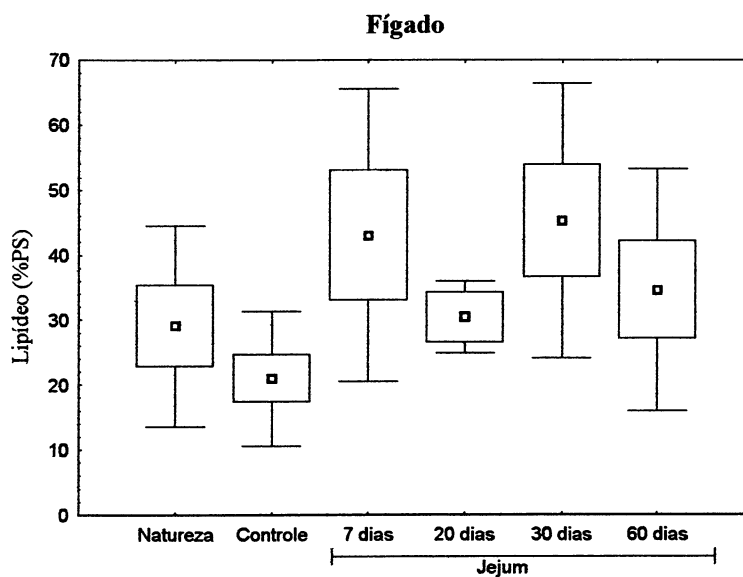


Figura 26. Porcentagem média (\pm erro padrão e desvio padrão) do peso seco de lipídeos no fígado de *Notothenia neglecta* conforme os diferentes grupos experimentais e dias de observação.

IV. 3 – HISTOLOGIA DO FÍGADO E MÚSCULO

IV. 3.1 - MORFOLOGIA MUSCULAR

O músculo esquelético de *Notothenia neglecta* apresenta coloração esbranquiçada e fibrosa.

Foi analisada a morfologia de fragmentos de tecido muscular retirados de uma porção acima das nadadeiras peitorais, atrás da cabeça. O músculo esquelético é revestido por uma bainha de tecido conjuntivo, o epimísio. Vasos sanguíneos, linfáticos e nervos interiorizam o músculo e circundam os feixes de fibras musculares, constituindo o perimísio. Em continuidade com o perimísio, lâminas de tecido conjuntivo estendem-se entre cada fibra muscular numa região que contém os capilares e fibras nervosas que suprem as fibras musculares.

Em *Notothenia neglecta* coletada da natureza, a fibra muscular longa e multinucleada com padrão de estriação (Fig. 5a), apresenta espaço extracelular estreito (Fig. 5 b).

Após os primeiros 7 dias de jejum as fibras musculares não apresentaram diferenças estruturais quando comparadas às do controle.

Entretanto, após 30 dias de jejum houve uma diminuição no diâmetro das células o que se manteve após 45 e 60 dias de jejum (Fig. 5c₁).

Após 45 dias de jejum houve um aumento no espaço extracelular (Fig. 5c₁). Além disso, devido à diminuição do diâmetro das fibras houve aumento de distância entre os feixes, destacando o perimísio que circunda os feixes musculares (Fig. 5c₂).

IV. 3.2 – MORFOLOGIA HEPÁTICA

Através de observações macroscópicas, verifica-se que o fígado de *Notothenia neglecta* apresenta-se volumoso, quando comparado ao restante do corpo, apresentando uma coloração marrom avermelhada e consistência macia.

Situado na porção anterior do abdômen, recobre parte da porção dorsal e ventral do estômago. O fígado é composto por três lobos hepáticos, sendo que na posição ventral do estômago encontramos os dois maiores e o terceiro situado dorsalmente, ainda em relação ao estômago.

Em *Notothenia neglecta* coletados da natureza, as células hepáticas ou hepatócitos possuem forma arredondada poligonal, com núcleo grande e central (Fig. 6a) arranjam-se em cordões hepáticos (Fig. 6b) limitados por um dos lados pelos sinusóides. O citoplasma dos hepatócitos apresenta granulosidade e aspecto bem vacuolizado, provavelmente devido ao depósito de lipídeos retirados durante o processamento para Microscopia Óptica.

Após 7 dias de jejum as células hepáticas começaram a apresentar diferenças estruturais quando comparadas ao controle. A forma celular foi descaracterizada com um visível achatamento dos hepatócitos (Fig. 6c₁). As células apresentam-se levemente inchadas e os limites celulares em algumas células ficaram menos nítidos. Vacuolizações que permaneceram em algumas regiões e em outras não e vacúolos citoplasmáticos, normalmente observados nas células, tiveram neste período experimental maior incidência em algumas regiões (Fig. 6c₁). Alguns núcleos apresentam alteração no tamanho e formato.

Alterações progressivas foram observadas, após 45 dias de jejum as células, em muitas regiões, tornam-se indistinguíveis, podendo ou não apresentar vacuolizações.

Após 60 dias foram encontrados espaços entre os cordões de Remake, preenchidos pelo extravasamento de líquido dos sinusóides. Não foram observados limites entre as células do tecido hepático. Foi observado vacuolização intensa e hepatócitos com laterização nuclear (Fig. 6c₂).

FIGURA 1

LOCAL DE ESTUDO

- a) Mapa do Continente Antártico. Notar a proximidade entre a região da Península Antártica e a América do Sul.**
- b) Detalhe da Península Antártica, onde se localiza a Ilha Rei George.**
- c) Detalhe da Ilha Rei George, onde o Brasil tem instalada a Estação Antártica “Comandante Ferraz”.**
- d) Vista da Enseada de Martel, na Baía do Almirantado.**

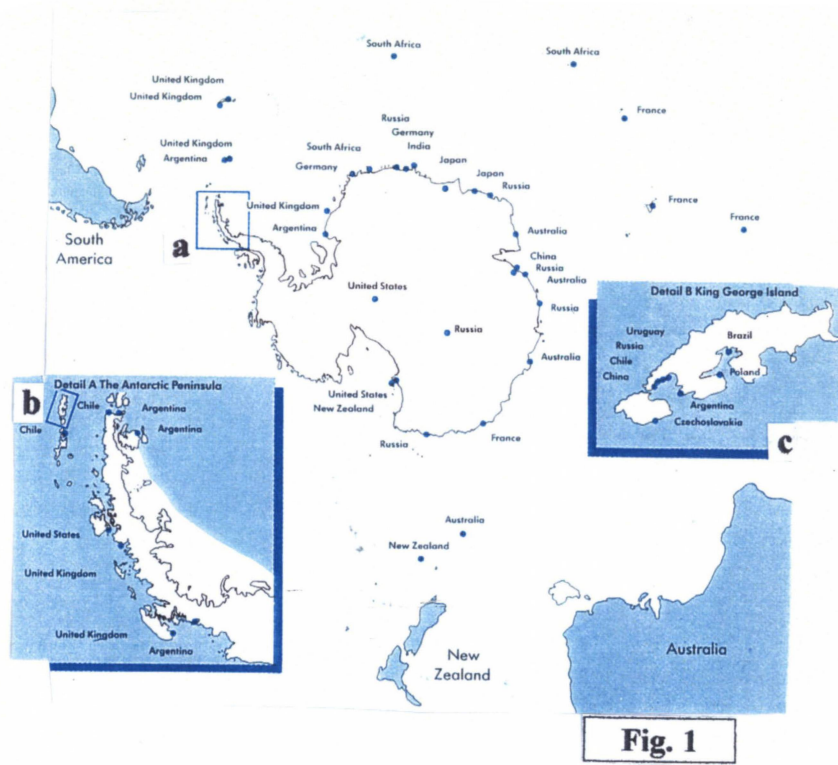


Fig. 1d

FIGURA 2

LOCAL DE CAPTURA E LABORATÓRIOS EXPERIMENTAIS

- a)** Estação Antártica Comandante Ferraz (E.A.C.F.), localizada às margens da Enseada de Martel.
- b)** Laboratório Frio, mantido a 0°C, com tanques de 1000L, onde foram realizadas as observações de comportamento de *Notothenia neglecta*.
- c)** Laboratório de Biologia, local oferecido aos pesquisadores pelo PROANTAR, onde foram iniciadas as análises bioquímicas e histológicas.
- d)** Módulo de Triagem da Estação Antártica Comandante Ferraz, onde foi realizada a coleta dos tecidos para as análises bioquímicas e histológicas.



Fig. 2a



Fig. 2b



Fig. 2c



Fig. 2d

FIGURA 3

CAPTURA DE *Notothenia neglecta*

- a) Bote inflável “Zodiac”, embarcação utilizada para o lançamento e recolhimento da rede de espera tipo feiticeira para a captura dos espécimes.
- b) Lancha Oceanográfica “Skua”, embarcação também utilizada para realizar a captura dos exemplares.
- c) Pesca de peixes da espécie *Notothenia neglecta* com vara e molinete, à bordo da Lancha oceanográfica “Skua”.
- d) Tanque da Lancha oceanográfica “Skua” com renovação de água constante, onde foram colocados os peixes imediatamente após a coleta.



Fig. 3a



Fig. 3b



Fig. 3c

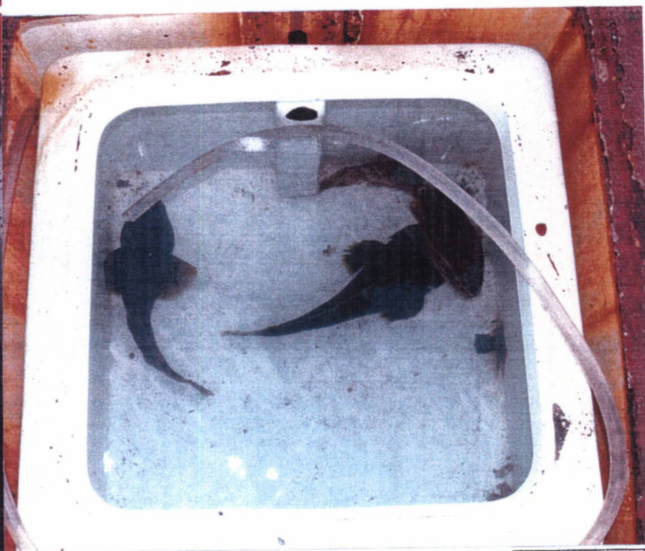


Fig. 3d

FIGURA 4

MATERIAL BIOLÓGICO

- a) Foto de um exemplar de *Notothenia neglecta* no aquário do Laboratório frio da Estação Antártica Comandante Ferraz.
- b) Desenho esquemático de *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951.
- c) Mapa do Continente Antártico mostrando a distribuição geográfica de *Notothenia neglecta* (Nybelin, 1951) (em sombreado) e os locais onde sua presença é questionável (?).

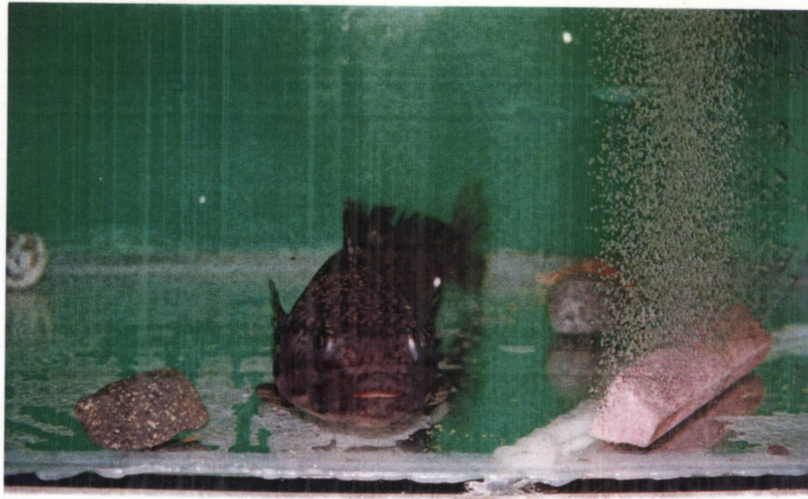


Fig. 4a

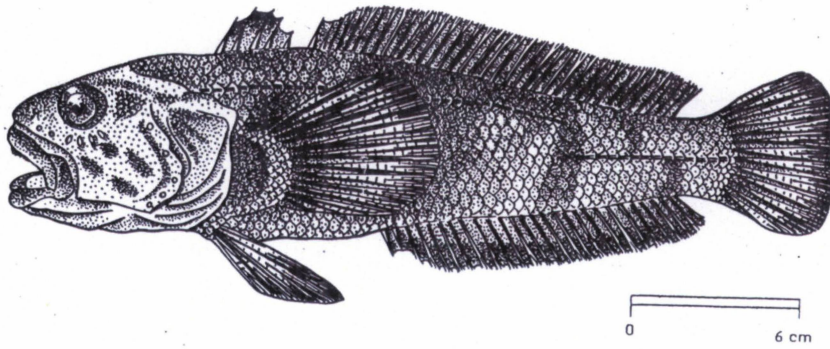


Fig. 4b

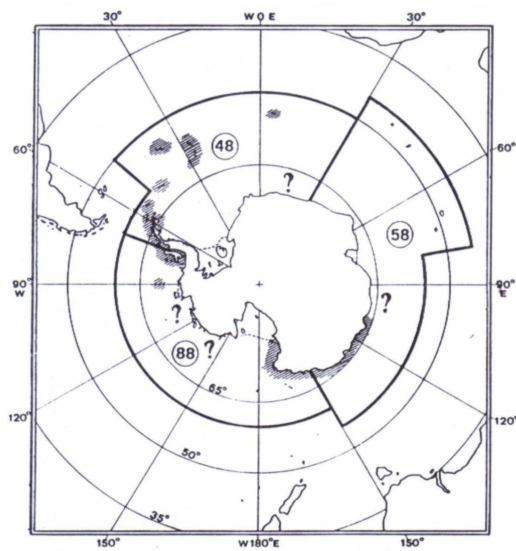


Fig. 4c

FIGURA 5

TECIDO MUSCULAR

a) Fibras musculares com núcleos alongados (▶) dispostos nas “fileiras” do sarcolema, bastante evidenciado (▼) e núcleo basófilo (*).

Tratamento: Indivíduo alimentado (controle - natureza)

Microscopia de Luz

Coloração: Hematoxilina - Eosina

Aumento: 100X

b) Fibras musculares com pouco espaço extracelular (Δ). Observar a presença de estriações distintas nas miofibrilas (○).

Tratamento: Indivíduo alimentado (controle - jejum)

Microscopia de Luz

Coloração: Hematoxilina - Eosina

Aumento: 40X

c) Após período de jejum entre as fibras musculares observa-se um aumento no espaço extra-celular (●) com a retração das células (↑) e o perimísio, destacado, circundando os feixes musculares (◊).

c₁) Tratamento: Indivíduo em jejum a 30 dias

Microscopia de Luz

Coloração: Hematoxilina - Eosina

Aumento: 100X

c₂) Tratamento: Indivíduo em jejum a 60 dias

Microscopia de Luz

Coloração: Hematoxilina - Eosina

Aumento: 100X

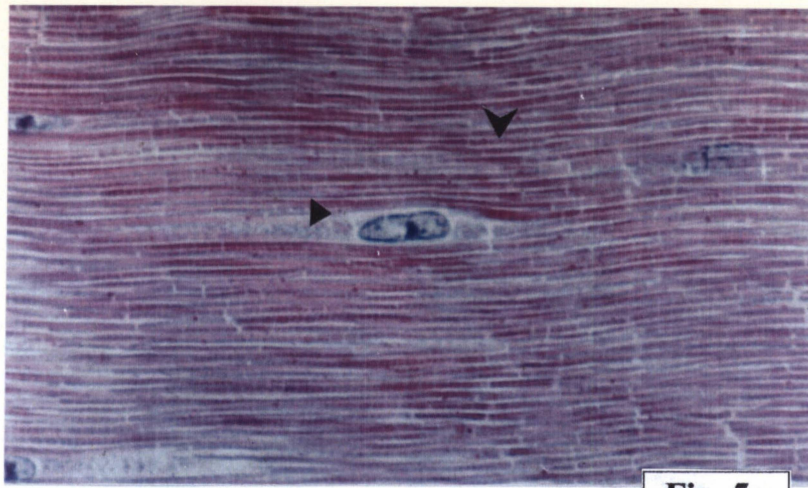


Fig. 5a

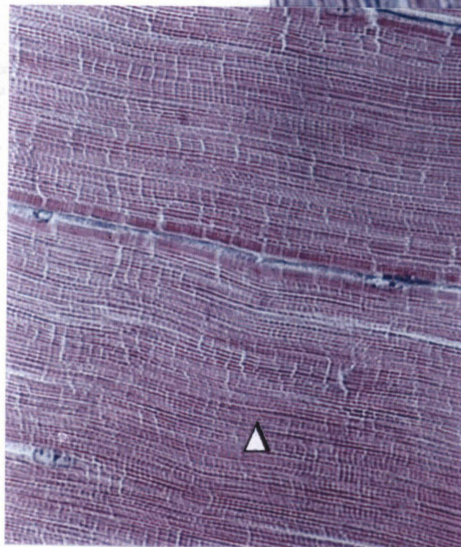
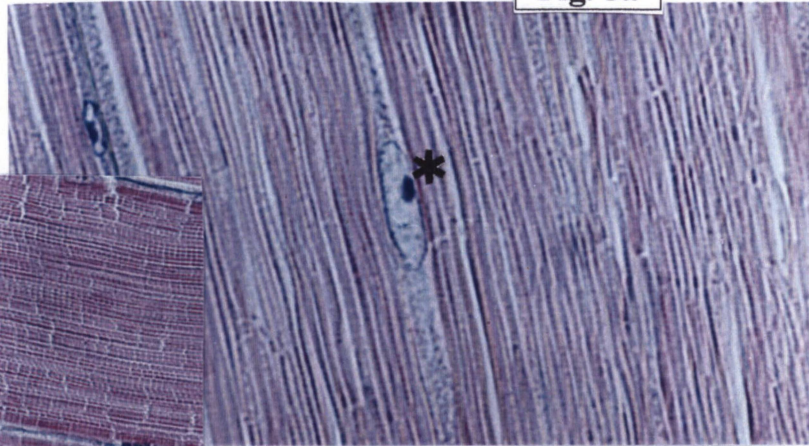


Fig. 5b

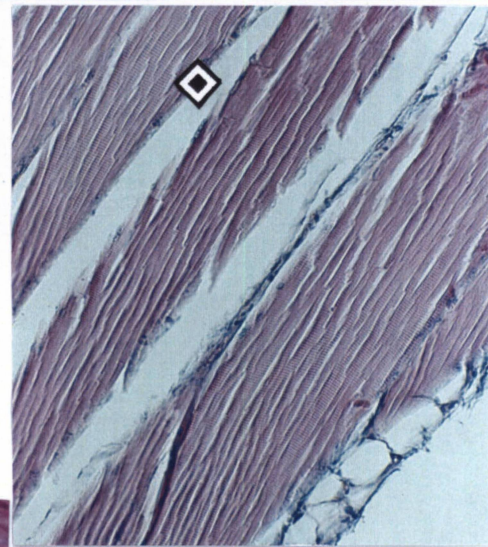


Fig. 5c₁

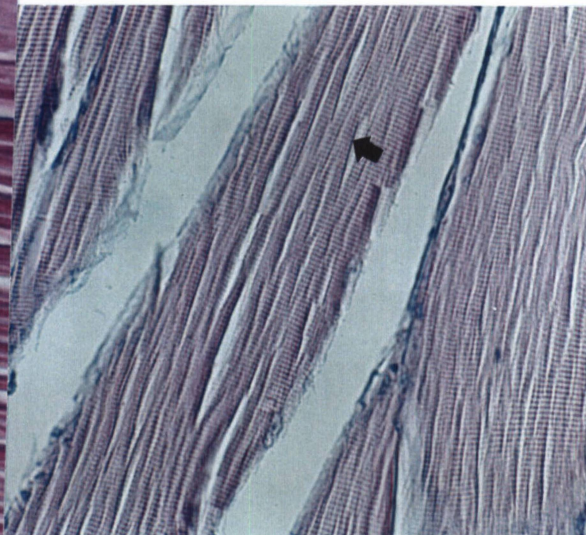
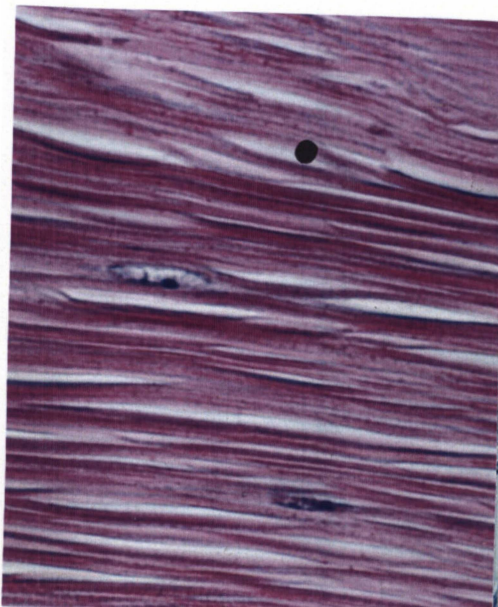


Fig. 5c₂

FIGURA 6
TECIDO HEPÁTICO

a) Células hepáticas com formato arredondado-poligonal (◆) com núcleos grandes e centrais (▼).

a₁) **Tratamento:** Indivíduo alimentado (controle – natureza)

Microscopia de Luz

Coloração: Hematoxilina – Eosina

Aumento: 100X

b) Células hepáticas (hepatócitos) arranjadas em cordões (Remake) (△) apresentando citoplasma com granulosidades e aspecto vacuolizado (◆).

b₁) **Tratamento:** Indivíduo alimentado (controle – jejum)

Microscopia de Luz

Coloração: Hematoxilina - Eosina

Aumento: 40X

c) Após período de jejum nota-se hepatócitos visivelmente alterados. Sinusóides de vacúolos citoplasmático (+), núcleos não apresentaram alteração histológica (▼) e o desaparecimento da organização celular com células em sofrimento e morte celular(✱).

c₁) **Tratamento:** Indivíduo em jejum a 30 dias

Microscopia de Luz

Coloração: Hematoxilina - Eosina

Aumento: 100X

c₂) **Tratamento:** Indivíduo em jejum a 60 dias

Microscopia de Luz

Coloração: Hematoxilina - Eosina

Aumento: 100X

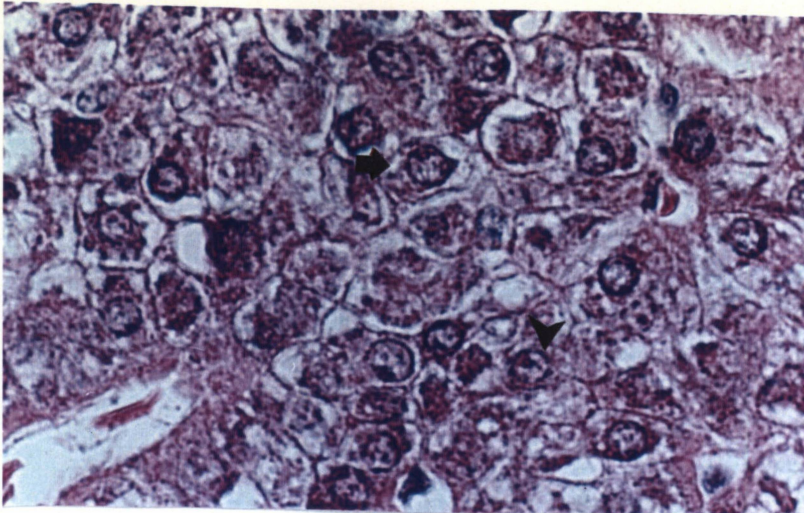


Fig. 6a

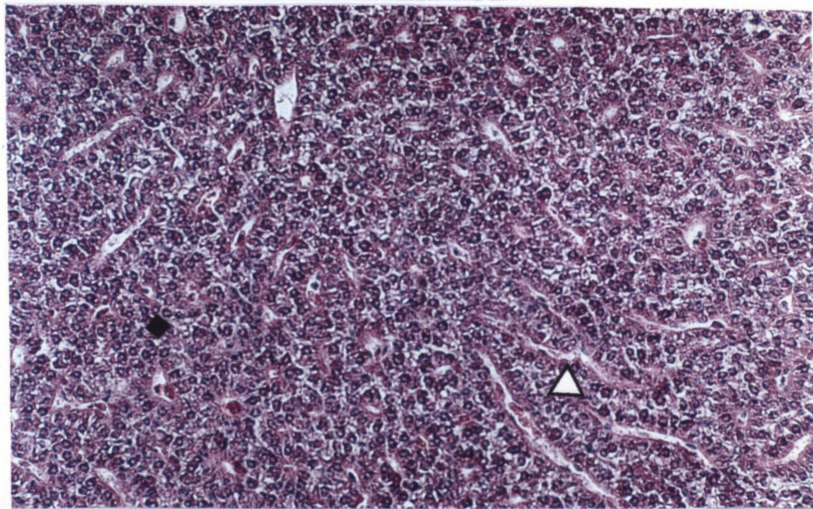


Fig. 6b

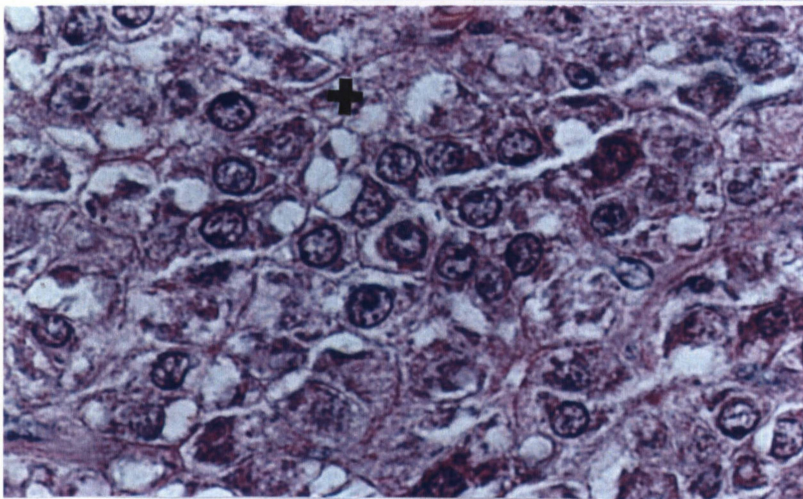


Fig. 6c₁

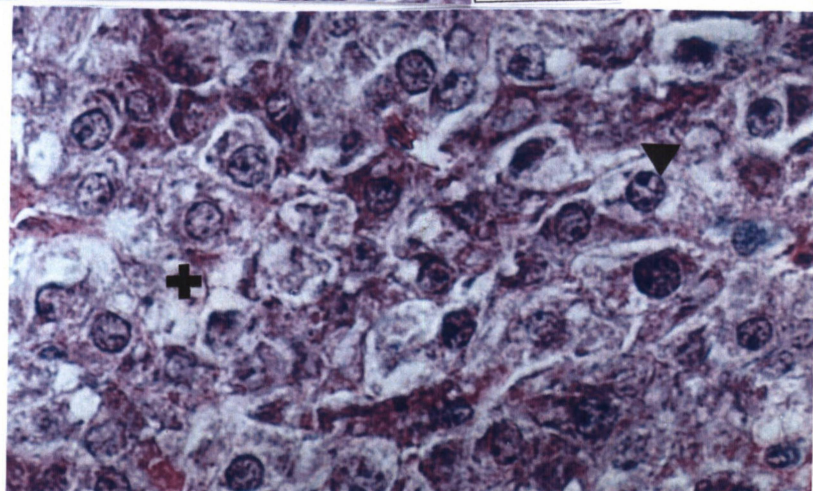


Fig. 6c₂

V. DISCUSSÃO

A dieta de *Notothenia neglecta* varia de acordo com a estação do ano devido à flutuação na disponibilidade de alimento. Esta espécie apresenta um grande espectro dietético, tanto bentônico quanto pelágico e, ainda, o hábito alimentar varia com a idade e o tamanho dos peixes (BARRERA-ORO & CASAUX, 1990; CASAUX *et al.*, 1990). Embora essa espécie seja omnívora (DANIELS, 1982), possui trato digestório com características de hábitos alimentares carnívoros (VIANNA *et al.*, 2000), com uma dentição faríngea bem desenvolvida, estômago com grande capacidade distensível, intestino curto (MARTIN & BLABER, 1984) e trato digestório em formato de “V” ou “Y” (SUVOROVA & TRESHCHUK, 1978; CLARKE & WITCOMB, 1980 e CATALDI *et al.* 1987).

Notothenia neglecta pode ingerir peixes com metade ou um terço do seu comprimento, tanto na natureza como em tanques experimentais (DANIELS, 1982; FANTA, 1999). A necrofagia é comum entre os nototenídeos (ARNAUD, 1970 *apud* KOCK, 1992) apesar deste grupo de peixes, de acordo com vários autores (DANIELS & LIPS, 1978; MORENO & ZAMORANO, 1980; DANIELS, 1982; CASAUX *et al.*, 1990, RIOS & FANTA, 1998), utilizar a predação de emboscada e apreender apenas presas móveis, ignorando presas visíveis, porém estacionárias (FANTA & MEYER, 1998).

Assim, mesmo neste trabalho aonde *Notothenia neglecta* foi alimentada com filés de peixes, verificou-se que estes eram capturados preferencialmente na coluna d’água, aonde os fragmentos de alimento estavam em movimento, e em menor proporção no fundo do tanque, aonde os pedaços estavam imóveis.

Quando observado o comportamento em *Notothenia neglecta*, considerando-se a natação e o repouso, foi evidenciado que os peixes permanecem em repouso a maior parte do tempo e na sua maioria posicionados no cantos e fundo dos tanques, o que corrobora as observações de FANTA & MEYER (1998) e FANTA(1999). Descrições de KEENLEYSIDE (1979) mostram que *N. neglecta* apresenta comportamento basal caracterizado por repouso durante a maior parte do tempo com raras natações aleatórias.

Os nototenídeos adultos são sedentários, nadam lentamente e apresentam curtos períodos de natação mais rápidos e limitados (MAC DONALD *et al.*, 1987 apud DI PRISCO *et al.*, 1991).

As observações realizadas neste trabalho indicam que *Notothenia neglecta* é uma espécie, cujos indivíduos mostram a tendência de se agrupar, mantendo normalmente o contato físico entre si, assim como ocorre em algumas outras espécies de peixe antárticas (LOVE, 1970).

Notothenia neglecta apresenta hábitos noturnos (RICHARDSON, 1975; MORENO & ZAMORANO, 1980; CASAUX *et al.*, 1990). Os peixes alimentados diariamente nos tanques apresentaram maior atividade natatória quando observados no período do final da tarde. Entretanto, quando avaliamos os animais em jejum, estes tiveram atividade reduzida neste mesmo período.

Como é uma espécie de hábito alimentar generalista, *Notothenia neglecta* apresenta melhor adaptação às condições variantes de sazonalidade na disponibilidade de alimento, reduzindo a competição pelo alimento, principalmente quando este se torna escasso (LINKOWSKI *et al.*, 1983; FANTA & MEYER, 1998; FANTA, 1999).

Notothenia neglecta apresentou atividade natatória restrita aos períodos de alimentação, como ocorre em outras espécies de antárticos como *Trematonus newnesi* e *Gobionotothen gibberifrons* (FANTA *et al.*, 1994), retornando rapidamente ao seu local inicial logo após a captura do alimento.

Notothenia neglecta de tamanhos homogêneos não apresentaram divisão hierárquica, mas quando haviam peixes de tamanhos diferentes, observou-se nítida hierarquia. Esta hierarquia ficou mais acentuada quando os peixes foram mantidos em jejum. A dominância é comum entre peixes mantidos em cativeiro mesmo em espécies que não apresentam este tipo de comportamento em seu ambiente natural (KEENLEYSIDE, 1979). Ocorreram poucas perseguições e ataques, mas os peixes maiores foram dominantes e tiveram prioridade na captura do alimento.

Com o aumento do período de jejum, foi observado um aumento, mesmo que discreto, de perseguições e ataques entre os indivíduos do mesmo tanque. Este aumento

na agressividade pode estar relacionado com a alteração metabólica ocasionada pelo jejum e com a necessidade de encontrar alimento, competindo por ele em um ambiente restrito.

Peixes das regiões polares gastam mais energia do que os peixes de águas temperadas, devido a algumas propriedades da água marinha em altas latitudes (EASTMAN, 1991). Uma destas propriedades é o grau de viscosidade, que chega a dobrar quando ocorre formação de gelo a partir da água do mar. Os sais que não se congelam aumentam a salinidade e a densidade da água. Em consequência de uma água mais viscosa, há um aumento de consumo energético para o desempenho de atividades motoras como a natação, e fisiológicas como a circulação sangüínea e a percepção sensorial.

No verão, os nototenídeos estocam energia e a utilizam no inverno quando sua atividade alimentar tende a decrescer. É necessária uma eficiente alimentação nos meses de primavera e verão para que ocorra um estoque energético suficiente para os meses seguintes (JOHNSTON & BATTRAM, 1993). Neste trabalho, os peixes foram coletados no verão e estudados em condições de luz, temperatura e salinidade simulando o verão austral, sendo a ausência de alimento induzida experimentalmente.

BURCHETT (1983), concluiu que exemplares de *Notothenia rossi*, que apresentam hábitos e comportamento semelhante ao de *Notothenia neglecta*, comem menos durante o inverno, mesmo com abundância de presas. Essa alternância entre alimentação, reprodução e crescimento deve-se, principalmente, às baixas taxas metabólicas e ao baixo nível de energia metabólica disponível para ser despendidos nessas atividades.

Apesar da obtenção de alimento se tornar mais difícil no inverno, ela é importante para indivíduos adultos, já que os mesmos terão que produzir ovos e garantir a reprodução da espécie (JOHNSTON & BATTRAM, 1993). As fêmeas tendem a armazenar reservas maiores durante a estação de alimentação. Estas reservas se tornam mais exauridas durante a desova. Por exemplo, em *Salmo gairdneri* o jejum provoca a redução de lipídios do fígado, vísceras e plasma. Porém, a ausência é mais severa em fêmeas adultas do que nas jovens, por causa da transferência adicional dos lipídios para

as gônadas que seria bem menor no caso dos machos (HIBYIA, 1982).

A redução na atividade é refletida na diminuição contínua do consumo de oxigênio. Já que parte da demanda reduzida inclui oxigênio que agora não é mais requerido na assimilação do alimento (BEAMISH, 1964). Contrário a este conceito, o consumo de oxigênio do *Protopterus aethiopicus* aumentou após um jejum de 5 meses. SMITH & WALTON (1975), consideraram isto como evidência de um aumento no catabolismo de proteína. Tal aumento sempre foi considerado como uma característica terminal do jejum em mamíferos, marcando o final das reservas de lipídios e carboidratos. Entretanto, não devemos esperar este fenômeno em peixes, já que eles subsistem da energia fornecida por aminoácidos. Presume-se que o *Protopterus aethiopicus* inicie sua reabilitação do jejum através de um fornecimento de carboidratos e lipídios como reserva de energia.

O limite de ingestão de proteínas para os peixes para que possam convertê-la em materiais aproveitáveis é de 30- 60% do alimento ingerido. Quando admitimos como baixa a quantidade de proteínas absorvidas, o crescimento torna-se anormal (LOVE, 1970).

A síntese protéica pode participar em proporção significativa, na manutenção do metabolismo e na produção de algumas enzimas, como as envolvidas no metabolismo energético. Isso requer uma constante renovação, o que justifica a adaptação evolutiva dos nototenídeos em superar os efeitos da baixa temperatura na síntese destas proteínas (SMITH & HASCHEMEYER, 1980).

Espécies antárticas, como o *Trematomus hansonii*, quando comparadas com peixes de clima temperado, possuem uma maior quantidade de proteínas sintetizadas. Isso ocorre devido à eficiente exportação de matéria prima para as proteínas intracelulares, sendo que, alguns destes produtos podem estar relacionados com a sobrevivência destas espécies a temperaturas negativas (SMITH & HASCHEMEYER, 1980).

SATOMI & NOSE (1971), demonstraram que um aumento na síntese de proteína no jejum pode resultar em um aumento quase proporcional nos níveis de ácidos nucleicos no músculo e nos tecidos do trato digestório de peixes como *Salmo gairdineri*. Alguns peixes, como por exemplo *Cyprinus carpio*, em período de

crescimento, não sofrem perda total de proteína quando submetidos a um período prolongado de jejum (BOUCHE & VELLAS, 1975).

Os lipídeos estocados são uma importante reserva de calorías para os peixes antárticos, sendo uma fonte energética importante no metabolismo corporal (CROCKETT & SIDELL, 1988). Os lipídeos monoinsaturados são os substratos mais rapidamente utilizados no metabolismo energético dos tecidos musculares nos peixes antárticos (SIDELL *et al.*, 1995), embora saibamos que depósitos de lipídeos também ocorrem à nível subcutâneo e hepático (EASTMAN, 1993).

Como o peixe geralmente armazena reservas de lipídios no músculo, estas provavelmente começam a ser mobilizadas imediatamente após a falta de alimento. No entanto, quando o lipídio do músculo é apenas estrutural, podemos imaginar que este retém seu nível original até o momento em que a estrutura das proteínas comece a ser degradada. O conteúdo de fosfolipídio então declina continuamente, enquanto o conteúdo de água aumenta. Estudos, porém sugerem que o conteúdo de água não sofre mudanças num período inferior a 9 semanas em *Perca flavescens* à 9 C (LOVE, 1970).

Em *Notothenia neglecta* não foi observada alteração significativa na quantidade de lipídeos, tanto no fígado quanto no músculo. O fígado é fundamental nos processos de metabolização, secreção, desintoxicação e neutralização de diversas substâncias do organismo, enquanto o músculo participa dos movimentos natatórios dos peixes.

Quanto aos níveis médios de proteínas e lipídeos no músculo, foram registrados neste trabalho, respectivamente, os valores médios 6,4% e 3,0%, expressos em peso úmido e 35,2% e 17,9% expressos em peso seco. OEHLENSCHLÄGER (1991) obteve 19,1% e 1,9% de proteínas e lipídeos no músculo de *Notothenia neglecta*, expressos em peso úmido. Já CRAWFORD (1978), observou uma redução média de 3,5% para a mesma espécie (expressos em peso seco) 84,2% de proteínas e 2,5% de lipídeos após 20 dias de jejum, sugerindo que os lipídeos foram rapidamente utilizados, ao contrário das proteínas que não apresentaram nenhuma alteração quantitativa até o final do experimento.

Os níveis médios de proteínas e lipídeos no fígado observados em *Notothenia*

neglecta foram 14,4% e 8,8%, respectivamente, expressos em peso úmido e 58,1% e 33,3% expressos em peso seco. OEHLENSCHLÄGER (1991) observou para os mesmos componentes químicos, 15,3% e 16,3%, expressos em peso úmido, em animais da mesma espécie e alimentados na natureza, evidenciando o fígado como um órgão armazenador de nutrientes.

Estudos comparativos mostram que exemplares de *Notothenia neglecta*, aclimatados em condições de verão, apresentam uma maior taxa de triglicerídeos no fígado e de algumas enzimas do metabolismo intermediário, em relação a peixes aclimatados no inverno (JOHNSTON & BATTRAM, 1993). Estes autores observaram em média, 71,5% e 14,3%, respectivamente, de proteínas e lipídeos expressos em peso seco no fígado de *Notothenia neglecta* durante o verão e respectivamente, 71,0% e 9,3% expressos em peso seco no inverno.

Durante o verão, a síntese proteica se associa ao rápido crescimento dos peixes (JOBLING, 1995). Por outro lado, a mobilização de lipídeos durante o inverno possibilita o desenvolvimento das gônadas (JOHNSTON & BATTRAM, 1993). Assim, os peixes antárticos necessitam de energia para o crescimento e a reprodução, apresentando diferenças metabólicas significativas em relação a peixes de regiões tropicais ou temperadas. Outras espécies de peixes como *Anguilla japonica* e *Anguilla anguilla* (LARSSON & LEWANDER, 1973) apresentaram redução no nível lipídico após diferentes períodos de jejum, assim como *Chaenocephalus aceratus*. No entanto, esta última espécie apresentou o fígado infestado por parasitas nematóides (20% do peso seco) o que, segundo OEHLENSCHLÄGER (1991), pode influenciar tais valores.

Em outros regimes termais notamos que a atividade do sistema para sintetizar os lipídeos é razoavelmente independente do nível de jejum. No entanto, há uma mudança na incorporação do acetato dos lipídeos estruturais de peixes em jejum. (MOROZ, 1971). O acetato radioativo tornou-se incorporado nos lipídios tanto do fígado como do resto do corpo de um *Esox lucius* em jejum por 2 meses (HALL & BELLWOOD, 1995). Os autores concluíram que uma quantidade mínima de lipídeos estruturais deve ser claramente mantida para o peixe manter-se vivo. NEWSON & LEIDUC (1975) descobriram que se o total do conteúdo de lipídios do *Perca flavescens*

cair abaixo de 2,2% do total do peso líquido, a morte advém tanto para o macho como para a fêmea, adulto ou jovem.

Os níveis médios de água no músculo foram de 78,5%; este valor foi similar aos resultados de CRAWFORD (1978) que observou na mesma espécie 79,3%. JOHNSTON & BRATTAMM (1993) descreveram um total de 80,4% de água no músculo de *Notothenia neglecta* no verão e 82,0% no inverno, período de baixa disponibilidade de alimento. Isto corrobora o aumento pouco significativo observado neste trabalho, com média de 81,2% de água no músculo de peixes mantidos em jejum.

No fígado encontramos valores médios de água equivalentes a 72,3%. JOHNSTON & BATTRAM (1993), observaram que não houve diferença neste componente entre animais coletados da natureza, durante o verão (77,2%) e o inverno (75,3%). Valor similar foi observado por CRAWFORD (1978) durante o período de jejum (77,3%). O fato de não haver diferença entre os níveis de água nos peixes submetidos ao jejum e mesmo entre verão e inverno, significa que as reservas energéticas não estão sendo utilizadas (MOROZ, 1971).

O tecido muscular é constituído por um complexo intrínseco de células, que participam de funções orgânicas fundamentais para a sobrevivência dos organismos como a locomoção, respiração e a digestão, embora normalmente, esteja associado aos movimentos corporais. Em peixes teleósteos (HIBIYA, 1982), torna-se evidente a função do tecido muscular em movimentar as nadadeiras corporais, sendo diferenciado de outros grupos de vertebrados por se constituir de longas unidades, chamadas de fibras musculares, além de armazenar energia.

Em nototenídeos os músculos miotomais constituem 51% do peso corpóreo de *Dissostichus mawnsi* e 30% em *Notothenia neglecta* (EASTMAN & DEVRIES, 1981). Os músculos miotomais incluem três tipos de fibras que são chamadas de fibras brancas, vermelhas e tônicas (WALESBY & JOHNSTON, 1980; DAVISON & MAC DONALD, 1985).

Segundo EASTMAN (1993), as fibras brancas são também chamadas de fibras de contração rápida, pela sua velocidade relativamente rápida de contração, com diâmetro de 100 - 230µm, formando a maior parte da musculatura miotomal. As fibras

vermelhas ou de contração lenta possuem um rico suplemento sanguíneo considerado como depósito lipídico que sustenta a velocidade lenta das movimentações e com diâmetro de 50 - 65 μ m. As fibras tônicas por sua vez mostram-se proeminentes na região da linha lateral nos peixes com diâmetro reduzido (25 μ m), porém com função similar às fibras vermelhas.

Em nototenídeos as fibras vermelhas equivalem a 3,0% do peso corpóreo, embora apresentem processos oxidativos que suplementam em dobro a energia necessária para as atividades oferecidas pelas fibras brancas.

Neste trabalho foram observadas estriações em fibras musculares normais, porém, ocasionalmente, estas estriações tornam-se obscuras ou desaparecem. Nos peixes mantidos em jejum. Este fenômeno reflete modificações no sarcoplasma, sendo uma clara evidência de condições patológicas, segundo HIBIYA (1982). A fibra muscular pode às vezes se romper parcial ou completamente. MATTSON (1990) relatou atrofia a nível celular da musculatura branca de *Gadus morhua* em jejum, assim como em *Pleuonectes platessa* descrito por JOHNSTON & BATTRAM (1993).

No músculo , à partir de 30 dias de jejum foi observado um aumento no espaço extracelular, o que também foi evidenciado por LOVE (1970) em *Anguilla anguilla*. Existe um aumento no sódio muscular, uma grande ionização extracelular e uma diminuição correspondente no total de potássio intracelular.

O tecido hepático é constituído de células parenquimatosas, sendo que os hepatócitos possuem forma poligonal, núcleos arredondados com localização lateral. Parte da superfície dos hepatócitos faz limite com os canaliculos biliares e outra parte com os sinusóides (HYBIYA, 1982).

O fígado é a maior glândula composta do organismo, participando da secreção biliar, detoxificação e neutralização de substâncias tóxicas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999). Em nototenídeos este órgão participa efetivamente dos processos sintéticos de proteínas (EASTMAN, 1993), além de outras funções, sendo essencial para a manutenção energética destes organismos que estão submetidos a variações sazonais características do ambiente antártico.

Os efeitos que o jejum causa no epitélio do trato digestório de peixes, geralmente estão relacionados com a atrofia das células, porém algumas espécies de peixes mostram-se adaptadas a essa situação (LOVE, 1970; HALL & BELLWOOD, 1995).

Neste trabalho foi observado uma alteração dos hepatócitos após 7 dias de jejum, o que foi também observado por LOVE (1970) em *Cyprinus carpio*. Segundo este autor após 120 dias de jejum as células do fígado diminuem em tamanho, de tal forma que os núcleos se aglomeram e a concentração de DNA aumenta.

O período de 60 dias em jejum permitiu a visualização da deformação dos hepatócitos e da formação de vacuolizações entre as células.

GÁS (1973), lista as mais importantes mudanças vistas no fígado, quando submetido à jejum, como a diminuição progressiva do glicogênio e seu desaparecimento após aproximadamente 8 meses. Também observou o surgimento de uma rede de fibras de colágeno, redução do volume celular, o acúmulo intracelular de partículas contendo ferro e finalmente o desaparecimento da organização celular.

A utilização das reservas energéticas representadas pelos componentes bioquímicos armazenados no fígado e músculo, causou alteração na morfologia hepática e muscular, embora período reduzido de jejum não produza danos letais para a sobrevivência do organismo.

Através de análises comportamentais e bioquímicas pudemos observar redução no metabolismo e nas atividades metabólicas de *N. neglecta* durante os períodos de escassez de alimento garantindo sua sobrevivência e permanência no ecossistema antártico.

VI. CONCLUSÕES

- A queda nos níveis de atividade dos peixes em jejum foi acompanhada por um decréscimo na demanda metabólica, demonstrada por depleção não significativa de reservas energéticas.
- Períodos de jejum aumentaram o comportamento agressivo entre os indivíduos.
- Não houve diferenças significativas entre a quantidade de lipídeos e proteínas em músculo e fígado entre os tratamentos.
- As médias de conteúdo lipídico e proteico foram maiores no fígado do que em músculo, evidenciando este órgão como armazenador de nutrientes.
- O período de 60 dias causou redução significativa apenas na quantidade de proteínas no fígado.
- As fibras musculares estriadas apresentaram desaparecimento parcial destas estriações após períodos de jejum.
- Os hepatócito poligonais tornam-se achatados após períodos curtos de jejum e há aumento de vacuolização após período de jejum prolongado.
- *Notothenia neglecta* é uma espécie de peixe adaptada à sazonalidade do ambiente e sua disponibilidade de alimento, e a redução na atividade dos peixes mantidos em jejum foi energeticamente favorável.

VII. ANEXOS

ANEXO I

PREPARAÇÃO DO MATERIAL E DAS AMOSTRAS PARA POSTERIOR ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Para análise bioquímica dos tecidos de músculo e fígado, o material foi pesado, homogeneizado e alíquotas de proteína e lipídeo: 50 µl e 200 µl, respectivamente, foram separadas e processadas como segue abaixo:

1. Separação do amostras em Ziploc,
2. Identificação dos frascos:

Lipídeos – 2 jogos de tubos de ensaio

Proteínas – 1 jogo de tubos de ensaio

3. Separação do material a ser utilizado:

- Água
- Bécker (50-80 ml.)
- Gelo
- Homogeneizadores
- Pinça
- Pipetas
- Tesoura

4. Pesagem do material:

Corte e identificação de pedaços de papel manteiga
Tara do papel e posterior pesagem das amostras

5. Para a homogeneização deste material foi feita a diluição:

- Músculo (1: 9 Proporção – Tecido : Água)
- Fígado (1: 19 Proporção – Tecido : Água)

6. Separação do homogenado em pequenos vidros:

- Separação de alíquotas (2 ou 3/ amostra)
Proteína: 50 µl Lipídeo: 200µl

7. Vidros contendo as amostras cobertos com parafilme ou plástico impermeável.

* Todas as amostras mantidas, sempre sobre gelo

ANEXO II

PROTEÍNAS

A determinação das proteínas foi feita do seguinte modo:

MÉTODO DE LOWRY

Reagentes Utilizados :

- Água deionizada
- Hidróxido de Sódio (0,1 N)
- Carbonato de Sódio(2,0 %) em NaOH 0,1 N
- Sulfato de Cobre (1,0 %)
- Tartarato de Sódio (1,0 %)
- Reagente de Folin

1. Inicialmente, foi diluído 50 µl do homogenado em 750 µl de água,
2. Foi adicionado um total de 80 µl da amostra anterior em três tubos de ensaio, devidamente identificados,
3. Foi utilizado o Padrão: albumina 0,4/ml. Sendo utilizadas as seguintes concentrações: 10µg, 20µg, 30µg, 40µg e 60µg para a absorção de curva padrão,
4. Foi adicionado 120 µl de Hidróxido de Sódio em cada um dos três tubos de ensaio, correspondentes a cada amostra
5. Foram colocados os tubos em banho - maria (100°C) por 10 minutos
6. Os tubos foram retirados e deixados em temperatura ambiente
7. Foram misturados: Carbonato de Sódio + Sulfato de Cobre + Tartarato de Sódio, nas seguintes proporções: 100:1:1. Tal composto recebeu o nome de Reagente B
8. Foi adicionado em cada tubo: 1,2 ml do Reagente B

9. Após 10 minutos foi adicionado: 120 μ l do Reagente de Folin,
 10. Os tubos foram homogeneizados, imediatamente
 11. Após 30 minutos foi feita a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de: 750nm.
- A análise deste material também foi feita através de comparações dos resultados obtidos com a curva padrão.

ANEXO III

LIPÍDEOS

A extração dos lipídeos foi feita segundo BLIGH E DYER (1959):

- a) Três frascos de Bécker foram separados e neles adicionados :
 - Água destilada
 - Clorofórmio
 - Álcool Metílico Ee Clorofórmio (2:1)
 - b) Foram misturados:
 1. 1,5 ml de Álcool Metílico e Clorofórmio na proporção - 2:1
 2. 0,5 ml de Clorofórmio
 3. 0,5 ml de Água destilada
 - c) Os tubos de ensaio foram cobertos com papel alumínio e posteriormente colocados na geladeira para a separação das fases
 - d) Após a separação do sobrenadante/ lipídeo foi retirado o sobrenadante com uma pipeta, sendo que este sempre esteve mantido no gelo e tampado
 - e) O lipídeo foi filtrado em papel filtro, molhado com clorofórmio, sendo o tubo lavado três vezes com clorofórmio
 - f) O líquido restante foi mantido na capela “overnight” ou na estufa à 60°C, até a evaporação completa do clorofórmio
- * Após a evaporação do clorofórmio foi feito o procedimento de acordo com o kit de lipídeos totais (Labtest ®)
- g) 1000 µl de ácido sulfúrico foram adicionados nos tubos que continham a amostra e 1000 µl nos tubos que continham padrão(50 µl de padrão - 1000 mg/dl)
 - h) Os frascos foram então agitados e colocados em banho - maria à 100° C por 10 minutos e posteriormente em banho de água gelada por mais 10 minutos

i) Em seguida foram separadas alíquotas de 25µl de:

- Branco: (Ácido sulfúrico)
- Mistura (padrão + ácido)
- Mistura (amostra + ácido)

j) A cada uma das alíquotas foram adicionados: 1250 µl de reagente de cor

k) Devidamente agitados, estes tubos foram novamente colocados em banho - maria à 37°C por 15 minutos e novamente, colocados em banho de água fria por 15 minutos

l) O espectrofotômetro foi ajustado ao comprimento de onda : 535 nm e feita a leitura.

A análise deste material foi feita através de comparações dos resultados obtidos com a amostras padrão.

ANEXO IV

PREPARO DAS SOLUÇÕES UTILIZADAS NA
COLETA E FIXAÇÃO DAS AMOSTRAS

SOLUÇÃO SALINA DE CORTLAND

Fonte: WOELF, 1963 (de acordo com G.M.HUGHES, comunicação pessoal)

NaCl.....	7,25 g
KCl.....	0,38 g
CaCl ₂ . H ₂ O.....	0,23 g
MgSO ₄ . 7h ₂ O.....	0,23 g
NaHCO ₃	1,00 g
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O.....	0,41 g
Glucose.....	1,00 g
H ₂ O destilada.....	1.000 mL (q.s.p)

Preparo:

- Dissolver todos os ingredientes em 950 mL de água destilada, um a um, na ordem citada acima, usando o agitador magnético com leve aquecimento.

- Ajustar o pH para 7,6 utilizando HCl ou NaOH.

- Completar o volume para 1.000 ml de água destilada.

- Conservar em frasco escuro, sob refrigeração.

* Aconselha-se adicionar o NaH₂PO₄ H₂O e a glucose, mantendo-se as proporções, somente na solução que for logo utilizada.

* A solução tem o prazo de validade de 30 dias (sem a glucose e o NaH₂PO₄. H₂O), sob refrigeração.

LÍQUIDO DE BOUIN

Fonte: BÜCHERL, 1962: CULLING *et al.*, 1985

Solução aquosa de ácido pícrico saturada.....	75,0 mL
Formaldeído.....	25,0 mL
Ácido acético glacial.....	5,0 mL

Preparo:

Misturar os componentes da fórmula.

ANEXO V

PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA DE LUZ

O processamento das amostras para as análises em microscopia de luz segue as seguintes etapas:

OBS.: Os diferentes tempos utilizados na fixação e no processamento histológico estão relacionados com o tamanho das peças processadas. Peças maiores requerem maior tempo, tanto na fixação como no processamento.

- Fixação

Líquido de Bouin.....8-12 horas

- Lavagens

Etanol 70%.....2-5 vezes

- Desidratação

Etanol 80%.....1 hora

Etanol 85%.....1/2 hora

Etanol 90%.....1 hora

Etanol 95%.....1/2 hora

Etanol 100%.....2x 1 hora

- Diafanização

Etanol 100 + Xileno (1:1).....	1 hora
Xileno I	30 minutos
Xileno II.....	30 minutos

- Impregnação

Em estufa a 58°C:

Paraplast plus® I.	1-3 horas
Paraplast plus®II.....	Overnight

- Inclusão

Em estufa mantida a 58°C, as amostras foram incluídas em Paplast Plus®, dentro de moldes cúbicos feitos de papel.

- Microtomia

Com a trimagem dos blocos em formato de pirâmide, a secção foi feita em micrótomos de parafina das marcas Wetzlar e Leica, obtendo-se cortes de 2 a 5µm de espessura.

- Coloração

Segue-se o roteiro de cada corante no Anexo III.

- Desparafinização

Xileno I	3 minutos
Xileno I.....	3 minutos

- Hidratação

Etanol 100%.....	3 minutos
Etanol 90%.....	3 minutos
Etanol 70%.....	3 minutos
H ₂ O corrente.....	lavagem
H ₂ O destilada.....	lavagem

- Desidratação

Etanol 95%.....	3 minutos
Etanol 100%.....	2x3 minutos

- Diafanização

Etanol 100%+Xileno (1:1).....	3 minutos
Xileno diafanizador.....	3 minutos
Xileno montagem.....	3 minutos

- Montagem

As lâminas permanentes foram montadas com lamínula e resina Polymount®.

ANEXO VI**PREPARO DOS CORANTES UTILIZADOS**
EM MICROSCOPIA DE LUZ**I. HEMATOXILINA DE HARRIS****Fonte:** CULLING, 1985

Solução A	
Hematoxilina.....	5,0 g
Etanol Absoluto.....	50 mL

Solução B	
Alúmen de potássio (Sulfato de Alúmen de Potássio).....	55,0g
H ₂ O destilada.....	600 mL

Solução C	
Óxido de Mercúrio vermelho.....	2,5 g
Ácido Acético Glacial.....	25 mL

Preparo:

Dissolver a solução A, deixar repousar.

Dissolver a solução B em água fervendo e adicionar a solução C, esfriar em água corrente.

Filtrar e adicionar a solução D.

II. EOSINA

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

Eosina.....	0,5 g
Álcool 95% PA.....	40 mL
H2O destilada.....	50 mL(q.s.p.)

Preparo:

Solução estoque

Misturar os reagentes até obter uma solução homogênea.

Solução útil

A solução a ser utilizada deve ser preparada com uma parte da solução estoque (eosina 1%) e três de álcool a 80%.

Acrescentar 0,5 ml de ácido acético glacial para cada 95 ml de solução útil.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, R. M. **Functional design in fishes**, London: Hutchinson Univ. Lib. p. 89-114, 1970.
- ARNAUD, P. M. Frequency and ecological significance of necrophagy among benthic species of Antarctic coastal waters. In HOLDGATE, M W. [Ed] **Antarctic Ecology**, p. 259-267, 1970.
- BARRERA-ORO, E. R.; CASAUX, R. J. Feeding selectivity in *Notothenia neglecta*, Nybelin, from Potter Cove, South Shetland Islands, Antarctica. **Antarctic. Sci.**, Oxford, v. 2, n. 3, p. 207-213, 1990.
- BEAMISH, F. W. H. Respiration of fishes with special emphasis on standard oxygen consumption. II Influence of weight and temperature on respiration of several species. **Can. J. Zool.**, v. 42, p. 177-194, 1964.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.**, v.37, p. 911-917, 1959.
- BOUCHE, E. G.; VELLAS, F. The speeds of renewal of the proteins of liver, muscle and plasma in carp (*Cyprinus carpio*) submitted to total and prolonged starvation. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 51 A, p. 185-193, 1975.
- BUNT, J. S.; WOOD, E. J. F. Microalgae and Antarctic sea-ice. **Nature**, v.199, p.1254-1255, 1963.
- BURCHETT, M. S. Age and growth of the antarctic fish *Notothenia rossi* FROM South Georgia. **BR. Antarctic. Surv. Bull.**, Cambridge, v.60, p.45-61, 1983.

BÜCHERL, W. **Técnica Microscópica**, São Paulo: Polígono, p. 164, 1962.

CASAUX, R. J.; MAZZOTTA, A. S.; BARRERA – ORO, E. R. Seasonal aspects of the biology and diet of near shore notothenid fish at Potter Cover, South Shetland Island, Antarctica. **Polar Biol.**, Berlin, v. 11, p.63-72, 1990.

CATALDI, E.; CATAUDELLA, S.; MONACO, G.; ROSSI, A.; TANCIONI, L. A study of the histology and morphology of the digestive tract of the bream, *Sparus aurata*. **J. Fish Biol.**, London, v.30, n.2, p.135-146, 1987.

CHAO, L. N.; MUSICK, J. A. Life history, feeding habits and functional morphology of juvenile scienidae fishes in the York River Estuary, Virginia. **U.S. fish Bull.**, v.75, p.657-702, 1977.

CLARK, G. **Staining procedures.**, 4^o ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1981.

CLARKE, A. Seasonality in Antarctic marine. **Comp. Biochem. Physiol. B.**, Oxford, v. 90 B, n. 3, p. 461-473, 1988.

CLARKE, A.; NORTH, A. W. Is the growth of polar fish limited by temperature? In: DI PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B. Eds. **Biology of Antarctic Fish**. Springer-Verlag, New York, p. 54-69, 1991.

CLARKE, A. J.; WITCOMB, D. M.; A study of histology and morphology of the digestive tract of of the commom ell (*Anguilla anguilla*). **J. Fishbiol.**, London, v.16, p.159-170, 1980.

CRAWFORD, R. E. Effect of starvation and experimental feeding on the proscimate composition and caloric content of an Antarctic teleost, *Notothenia coriiceps neglecta*. **Psysioll.**, v.62A, p.321-326, 1978.

- CROCKETT, E. L.; SIDELL, B. D. Some pathways of energy metabolism are cold adapted in Antarctic fishes. **Physiol. Zool.**, v. 90A; p. 611-621, 1988.
- CULLING, C. F. A; ALLISON, R. T.; BARR, W. T. **Cellular Pathology Technique.**, 4^o ed. London: Butter worth, p.642, 1985.
- DANIELS, R. A.; LIPS, J. H. Predation on foraminifers by Antarctic fish. **J. Foraminifer Res.**, Cambridge, v.8, n.2, p. 110-113, 1978.
- DANIELS, R. A. Feeding ecology of some fishes of the Antarctic Peninsula. **Fish. Bull.**, Dublin, v.80, p. 575-588, 1982.
- DAVISON, W.; MAC DONALD, J. A. A histochemical of the swimming musculature of Antarctic fish. **New Zealand Journal of Zoology**, v. 12, p. 473-483, 1985.
- DI PRISCO G.; MARESCA B.; TOTA, B. **Biology of Antarctic Fish**, Berlin: Springer – Verlag, p. 292, 1991.
- DZHUMALIYEV, M. K. The structure of the epithelium in fishes from different taxonomic groups. **Biol. Nauki.**, Kazakh, v. 1, p. 65-75, 1982.
- EASTMAN, J. T.; DEVRIES, A. L. Brioyancy adaptations in a swim-bladderless Antarctic fish. **Journal of morphology**, v. 167, p. 91-102, 1981.
- EASTMAN, J. T. Evolution and diversification of Antarctic notothenoid fishes. **Am. Zool.**, Lawrence, v31, n. 1,p. 93-109, 1991.
- EASTMAN, J. T. **Antarctic Fish Biology: Evolution in a Unique Environment.**, Academic Press, Inc., p. 322, 1993.

- EVERSON, I. The population dynamics and energy budget of *Notothenia neglecta* Nybelin at Signy Island, South Orkney Islands. **Br. Antarctic. Surv. Bull.**, Cambridge, n. 23, p. 25-50, 1970.
- EVERSON, I **The living resources of the Southern ocean.**, FAO UN Development programmed,, GLO/SO/77/1, p. 156, 1997.
- FANTA, E.; MEYER, A. A.; GROTZNER, S. R.; LUVIZOTTO, M. F. Comparative study on feeding strategy and activity patterns of two Antarctic fish: *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 and *Gogionototehen gibbrifrons* (Lönnerberg, 1905) (Pisces, Nototheniidae) under different light conditions. **Antarctic. Rec.**, Itabashi, v. 38, n. 1, p.13-29, 1994.
- FANTA, E.; MEYER, A. A. Behavioral strategies for feeding of six species of the Antarctic Fish Family Notothenidae (Pisces, Notothenioidei) in Tank. **Nankyoku, Shiriô (Antarctic Record)**, v.42, n.3, p.227-243, 1998.
- FANTA, E. Laboratory tests on feeding interactions and food preferences of some Antarctica fish from Admiralty Bay, King George island, Siuth Shetland Ilsland, **Polish Plar Research.**, v. 4, p. 335-346, 1999.
- FANTA, E.; RIOS, F. S. A ; MEYER, A. A . GROTZNER, S. R.; ZALESKI, T. Chemical and visual sensory systems in feeding behavior of the Antarctic fish *Ophthalmolycus amberensis* (Zoarcidae). **Nankyoku, Shiriô (Antarctic Record)**, v.45, n.1, p.27-42, 2001.
- FIGUEROA, R. J.; RODRIGUEZ-SABARIS R; ALDEGUNDE M; SENGAS, J. L. Effects of food deprivation on 24 h – changes in brain and liver carbohydrate and Ketone body metabolism of rainbow an out. **Journal of Fish Biology**, v. 57, p. 631-646, 2000.

- FISCHER, W; HUREAU, J. C. [Ed]. **FAO species identification sheets for fishery purpose**, Southern Ocean. Vol. II. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nation, 1985.
- GAS, N. Cytophysiology of the liver of carp (*Cyprinus carpio L.*) II. Modes of alteration of the ultra structures during prolonged experimental starvation. **J. Physiolol.**, Paris, v. 66, p. 283-302, 1973.
- GON, O.; HEEMSTRA, P. C. [Ed] **Fishes of the Southern Ocean**, Grahamstown J.L.B. Smith Institute of Ichthyology, 1990.
- GRÖHSLER, T. Feeding habits as indicators of ecological niches: Investigations of Antarctic fish conducted near Elephant Island in late autumn/ winter 1986. **Arch. Fish. Mar. Res.**, v. 42, n. 1, 1994.
- GUINEA, J.; FERNANDEZ, F. Morphological and biometric study of the gill rakes in four species as mullet. **Journal of Biology**, v. 41, p. 381-397, 1992.
- GUNN, J. S.; MILWARD, N. E. The food, feeding habits and feedings structures of the whiting species *Sillago sihama* (Forsskal) and analyze Whitey from Townville, North Queens land, Australia. **J.Fish.Bio**, v. 26, p. 411-427, 1985.
- HALL, K. C.; BELLWOOD, D. R. Histological effects of cyanide, stress and starvation on the intestinal mucous of *Pomacentru sp coelistis*, a marine aquarium fish species. **J. Fish Biol.**, London, v. 47, p. 438-454, 1995.
- HERNANDEZ – BLAZQUEZ, F. J. **Absorção de Lipídeos e Proteínas no Intestino do Peixe Antártico Notothenia. (neglecta). Ultraestrutura**, São Paulo. 1996. 123 p Tese (professor livre – Docente). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

- HIBIYA, T. **Atlas of fish Histology. Normal and Pathological features**, Tokyo: Kodansha Ltda, p.147, 1982.
- IWAMI, T. Osteology and relationships of the family Chammichthyidae. **Mem. Natl. Inst. Polar Res. Ser. E.**, Tókió, v.36, p.1-69, 1985.
- JOBLING, M. **Environmental Biology of Fishes**, London: Chapman & Hall, p. 455, 1995.
- JOBLING, M. The influences of feeding on the metabolic rate of fishes: a short review. **J. Fish Biol.**, v. 18, p. 385-400, 1981.
- JOHNSTON, I. A.; BATTRAM, J. Feeding energetics metabolism in demersal fish species from Antarctic, temperate and tropical environments. **Mar. Biol. Berl.**, Heidelberg, v. 115, n. 1, p. 7-14, 1993.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 272-286, 1999.
- KEAST, A; WEBB, D. Mouth and body form relative to feeding ecology in the fish fauna of a small lake, Lake Opinicon, Ontario. **J. Fish. Res. Can.**, v. 23, p. 1845-1847, 1966.
- KEENLEYSIDE, M. H. A. **Diversity and adaptation in fish behavior**, Berlin: Springer, p. 208, 1979.
- KOCK, K. H. Reproduction in fish around Elephant Island. **Arch. Fischwiss**, Berlin, v. 39, p. 171-210, 1989.
- KOCK, K. H. The significance of fish in the ecosystem. Antarctic Fish and Fisheries Studies. In : **Polar research**, Cambridge: University Press, p. 132-151, 1992.

- LARSSON A.; LEWANDER K. Metabolic effects of starvation in the cell. *Anguilla anguilla*. **L. Comp. Biochem. Physiol.**, v. 44, p. 367-374, 1973.
- LINKOWSKI, T. B.; PRESLER, P.; ZUKOWSKI, C. Food habits of nototheniidae fishes (*Nototheniidae*) in Admiralty Bay (King George Island, South Sheet Land Island). **Pol. Polar res.**, Warsaw, v.4, n.1-4, p. 79-95, 1983.
- LOVE, R. M. **The Chemical Biology of Fishes**, London: Academic Press, p. 547, 1970.
- LOWRY O.; ROEMBROUGH, N. M.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- MAC DONALD, J. A.; MONTGOMERY, J. C.; WELLS, R. G. M. Comparative physiology of Antarctica fishes. **Adv. Mar. Biol.**, USA, v. 24, p.321-388, 1987.
- MARTIN, T. J.; BLABER, S. J. M. Morphology and histology of the alimentary tracts of Ambassidae (Curvier) (Teleostei) in relation to feeding. **J. Morphol.**, New York, v.182, n.3, p.295-306, 1984.
- MATTSON, S. Food and feeding habits of fishes species over a soft sublittoral bottom in the northeast Atlantic. 1. Cod (*Gadus morhua* L.) (Gadidae). Bergen: **Saris**, Moscow, v. 75, p. 247-260, 1990.
- MOODIE G. E. E Gill rakervariaton and the feeding niche of some temperate and tropical freshwater fishes. **Environ. Biol. Of fish.**, Dordrecht, v. 13, n. 1, p. 71-76, 1985.
- MORENO, C. A.; ZAMORANO, J. H. Selection de loss TOS EM *Notothenia coriiceps neglecta* del centurion de macroalgas de Baía South Antarctic. **INACH (Institute Antarctic Chilean) Series scientific**, n. 25-26, p. 33-43,1980.

- MOROZ, I. Y. Dynamics of metabolism in the carp (*Cyprinus carpio L.*) during overwintering. **J. ICHTY.**, v. 11, p. 592-596, 1971.
- NEWSON, G. E.; LEDUC, G. Seasonal changes of fat content in yellow perch (*Perca flavescens*) of two Laurentian lakes. **J. Fish. Res. Can.**, v.32, p. 2214-2221, 1975.
- NORTON, S. F. Capture success and diet of clotted fishes: the role of predator morphology and attack Kinematics. **Ecology**, v. 72, n. 5, p. 1807-1819, 1991.
- OEHLENSCHLÄGER, J. Chemical composition of flesh and other A issues of Antarctic fish species of the families channichtyzidae and Nototheniidae. **Food Chemistry**, v.40, p. 159-167,1991.
- POUGH, F. H.; HEISER, J. B; MC. FARLAND, W. N. **A Vida dos Vertebrados.** São Paulo: Atheneu, p. 839, 1993.
- RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. Environmental conditions and functioning of Admiralty Bay (South Shetland Island) as part of the near-shore Antarctic ecosystem. **Pol. Polar Res.**, Warsaw, v.1, n.1, p.11-27, 1980.
- RICHARDSON, M. G. The dietary composition of some Antarctic fish. **Br. Antarctic. Surv. Bull.**, Cambridge, n. 41/42, p. 113-120, 1975.
- RIOS, F. S.; FANTA, E. Morphology of gill rockers and their ecological function in the feeding on the Antarctic fish *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951. **Nankyoku, Shiriô (Antarctic Record)**, v.42, n.3, p.227-243, 1998.
- RIVKIN, R. B.; PUTT, D. Dial periodicity photosynthesis in polar phytoplankton: influence in primary production. **Science**, Washington, v. 238, p. 1285-1288, 1987.

- SATOMI, Y.; NOSE, T. Nucleic acid and phospholipid contents of carp tissues (white muscle, liver, digestive tract, bred using foodstuffs with different protein contents) **Bull freshwater, Fish. Lab.**, Tokyo, v. 21, p. 99-105, 1971.
- SAZIMA, I.; CAMASHI, E. P. Comportamento alimentar de duas espécies de Curimatá, sintrópicas no Pantanal de Mato Grosso (Osteichthys, Characiformes) **Ver. Brás. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 49, n. 2, p. 325-333, 1989.
- SIDELL, B. D.; CROCKETT, E. L.; DRIEDZIC, W. R. Antarctic fish tissues preferentially catabolism mnemonic fatty acids. **J. Exp. Zool.**, New York, v. 271, n. 2, p. 73-81, 1995.
- SMITH, M. A. K.; HASCHEMEYER, A. E. V. protein metabolism and cold adaptation in Antarctic fishes. **Physiological Zoology**, v. 53, p. 373-382, 1980.
- SMITH, R. I. L.; WALTON, D. W. H. South Georgia, Sub Antarctic. In " Structure and function of tundra Ecosystems. **Ecological Bulletin**, v. 53, p. 119-140, 1975.
- SNORRASON, S. S.; SKÚLASON, S.; JONSSON, B.; MALMQUIST, H. J.; JÓNASSON, P.M.; SANDLUND, O.T.; LINDEM, T. Trophic specialization in Arctic char *Salvelinus alpinus* (Pisces; Salmonidae): morphological divergence and ontogenetic niche shifts. **Biol. J. Linn. Soc.**, London, v. 52 p. 1-18, 1994.
- SOMERO, G. N.; FIELDS, P. A. HOFMANN, G. G.; WEISTEIN, R. B.; KAWALL, H. Cold adaptation and Stenothermy Antarctic Notothenioid Fishes: What has been gained and what has been lost **Fishes of Antarctic. A biological overview**, Milan, p.98-109, 1998.
- SUVOROVA, L. G.; TRESHCHUK, L. I. The morphology and histochemistry of the alimentary canal of the Balkan Omul, *Coregonus autumnalis migratorius*. **Vopr. Ikhtyol.**, v. 18, n. 3, p. 431-437, 1978.

- TIEDKE, J. E.; KOCK, H. Structure and composition of the demersal fish fauna around Elephant Island. **Arch. Fischereiwiss**, Berlin, v. 39, p. 143-169, 1989.
- VIANNA, A. C.; FANTA, E.; HAAPALLAINEN, E. Comparative morpho- functional study of the intestine of the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* and *Trematomus newnesi* (Nototheniidae): Histology and ultra structure. **Nankyoku, Shiriô (Antarctic Record)**, v.44, n.2, p.61-82, 2000.
- WALESBY, N. J.; JOHNSTON, I. A. Fiber types in the locomotors muscles of an Antarctic teleost, *Notothenia rossi*. A histochemical ultraestructural and biochemical study. **Cell tiss. Res.**, v. 208, p. 143-164, 1980.
- WENDT, C. Liver and muscle glycogen and blood lactate in hatchery-reared *Salmo salar* l following exercise in winter and summer. **Rep. Inst. Freshwater. Res. Drottningholm**, v. 46, p. 167-184, 1965.
- WIENS, J. A.; ROTENBERRY, J. T. Patterns of morphology and ecology in grassland and shruteppe bird populations. **Ecol. Monogr. Tempe.**, v. 50, p.287-308, 1980.