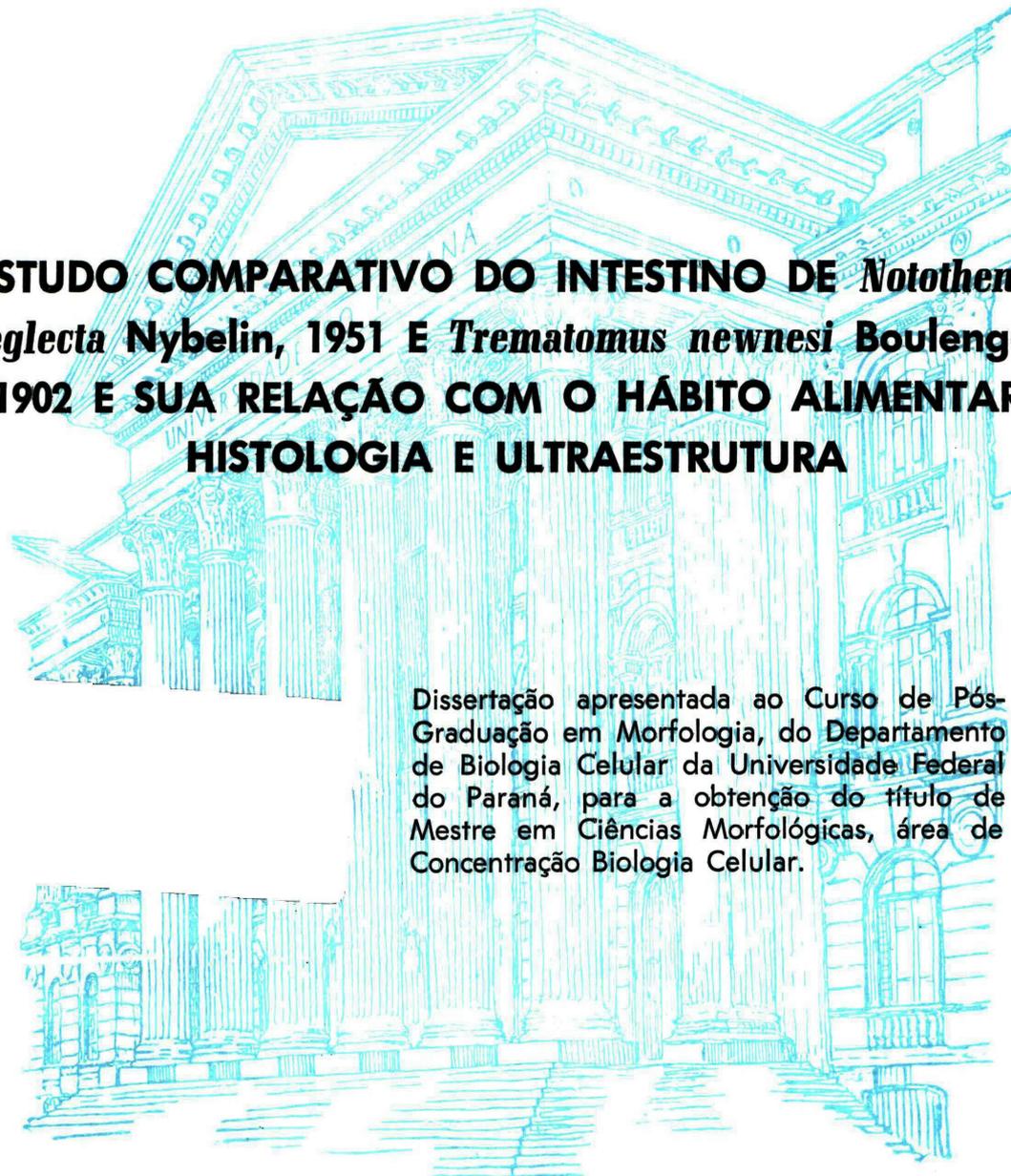


ANA CRISTINA CASAGRANDE VIANNA



ESTUDO COMPARATIVO DO INTESTINO DE *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951 E *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 E SUA RELAÇÃO COM O HÁBITO ALIMENTAR: HISTOLOGIA E ULTRAESTRUTURA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Morfologia, do Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Morfológicas, área de Concentração Biologia Celular.

CURITIBA
1998

ANA CRISTINA CASAGRANDE VIANNA

ESTUDO COMPARATIVO DO INTESTINO DE *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951 E *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 E SUA RELAÇÃO COM O HÁBITO ALIMENTAR: HISTOLOGIA E ULTRAESTRUTURA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Morfologia, do Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Morfológicas, área de concentração Biologia Celular.

ORIENTADORA:

Dra. Edith Fanta

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

CO-ORIENTADORA:

Dra. Edna Haapalainen

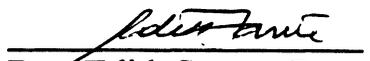
Universidade Federal de São Paulo
Centro de Microscopia Eletrônica

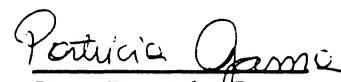
**CURITIBA
1998**

PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOLOGIA
BIOLOGIA CELULAR
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PARECER

A Comissão Examinadora de Dissertação de mestrado “ESTUDO COMPARATIVO DO INTESTINO DE *Notothenia neglecta* NYBELIN, 1951 E *Trematomus newnesi* BOULENGER, 1902 E SUA RELAÇÃO COM O HÁBITO ALIMENTAR: HISTOLOGIA E ULTRAESTRUTURA”, de autoria da Pós-Graduanda, ANA CRISTINA CASAGRANDE VIANNA composta pelos Professores: Dra. Edith Fanta (como orientadora), Dra. Patrícia Gama e Dr. Ciro Alberto Oliveira Ribeiro, atribui individualmente as seguintes notas: Dra. Edith Fanta, nota 10.0 (dez); Dra. Patrícia Gama, nota 10.0 (dez); Dr. Ciro Alberto Oliveira Ribeiro, nota 10.0 (dez). De acordo com o Regimento interno do Curso, a candidata foi aprovada com a nota: 10.0 (dez), para a devida publicação o trabalho deve sofrer as modificações sugeridas. Curitiba, 15 de setembro de 1998.


Dra. Edith Susana Fanta


Dra. Patrícia Gama


Dr. Ciro Alberto de O. Ribeiro

*“E se não há melhor resposta
que o espetáculo da vida:
vê-la desfiar seu fio,
que também se chama vida,
ver a fábrica que ela mesma
teimosamente fabrica,
vê-la brotar como há pouco
em nova vida explodida.”*

João Cabral de Melo Neto

Dedico esse trabalho

*Aos meus pais, Lívio e Ana Elisa,
que sempre estiveram ao meu lado, transmitindo
através do seu exemplo de caráter, humildade,
amor e dedicação, os verdadeiros valores da
vida. Dedico a vocês, com a mais profunda
admiração e respeito, essa conquista.*

*Ao querido Ricardo,
que enriqueceu minha vida e meu trabalho e,
com seu espírito encorajador e perseverante,
trouxe-me inspiração para arriscar novos
caminhos.*

AGRADECIMENTOS

Chegou o momento de, com muito prazer e algumas poucas palavras, agradecer a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, participaram e tornaram possível a realização desse trabalho.

À Dra. Edith Fanta, minha orientadora, que acreditando no meu potencial, deu-me a oportunidade de iniciar no campo da Ciência ainda durante o curso de Biologia, permitindo assim, o início do meu amadurecimento acadêmico e científico. Com ela, aprendi o valor e a seriedade de um trabalho de pesquisa. Gostaria de neste momento, deixar os mais sinceros agradecimentos por todos os seus ensinamentos, assim como, pela sua colaboração, dedicação e confiança.

À Dra. Edna Haapalainen, chefe do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de São Paulo e minha co-orientadora. Agradeço a sua compreensão e colaboração, que se iniciaram antes mesmo do mestrado, quando abriu as portas do seu laboratório possibilitando-me o aprendizado das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e varredura, assim como, permitindo o uso dos equipamentos necessários para o desenvolvimento desse trabalho. Sou muito grata pela sua disposição e por todo o seu incentivo.

Agradeço à Silvia R. Z. da Cruz, Sonia Grötzner, Sandra Freiburger, Flavia Sant'Anna, Lucélia Donatti, Patrícia Calil, Paula Nakayama e Ana Tereza B. Guimarães, que são muito mais do que companheiras de laboratório, são amigas verdadeiras. Gostaria de neste momento ressaltar a minha admiração e respeito por todas vocês e agradecer por todas as horas de agradável convívio e trabalho em equipe, que muito me estimularam a lutar pelos meus ideais.

À Márcia Fabiana Luvizzotto e Ana A. N. Meyer, ex-integrantes do laboratório, pelos ensinamentos iniciais das técnicas de histologia e apoio recebidos.

Aos integrantes do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de São Paulo (CEME - UNIFESP), Márcia Tanakai, que sempre muito atenciosa e sem medir esforços ensinou-me as técnicas de microscopia eletrônica com muita dedicação e seriedade profissional; Eng. Flávio Paulo de Farias, pelo seu apoio e sugestões no preparo e observação do material de microscopia eletrônica de varredura; André Haraguti Aguilera, que demonstrando grande capacidade profissional, sempre esteve disposto a transmitir seus conhecimentos e a ajudar nos momentos difíceis; Patrícia C.

Milanes, pelas revelações e ampliações das eletromicrografias contidas nesse trabalho e; Maria Isabel dos Santos Santana, que tornou os dias de trabalho no CEME mais leves e agradáveis com sua alegria contagiante.

Aos amigos Nilson, Magaly, Ceneviva, Masami, Vivian e Ivette, que além de abrirem as portas das suas casas, tornando possível a realização de parte desse trabalho, foram companhias bastante agradáveis. Agradeço especialmente à Ivette, por sua amizade, dedicação, colaboração e sugestões em partes desse trabalho.

À Coordenação do Curso de Pós-graduação em Morfologia da Universidade Federal do Paraná, ao seu corpo docente e à secretária Marlene.

Agradeço aos integrantes das XIV e XV (verão e inverno) Expedições Brasileiras à Antártica, com quem dividi momentos inesquecíveis e que, de alguma forma, colaboraram com o meu trabalho.

À SECIRM - Marinha do Brasil, pelo apoio logístico aos projetos desenvolvidos na Antártica, tornando possível a exploração científica desse continente.

Ao CNPq/PROANTAR pelo apoio financeiro.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Agradeço também, aos meus familiares e amigos, de quem recebi apoio em todos os momentos dessa caminhada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFIA	9
3. OBJETIVOS	32
4. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1. ÁREA DE ESTUDO: Baía do Almirantado - Ilha Rei George	33
4.2. MATERIAL BIOLÓGICO	34
4.3. MÉTODO DE COLETA DOS ESPÉCIMES	36
4.4. ACLIMATAÇÃO E MANUTENÇÃO DOS ESPÉCIMES	37
4.5. OBTENÇÃO DO MATERIAL PARA ANÁLISES MORFOLÓGICAS E ULTRAESTRUTURAIS	38
4.5.1. Dissecção	38
4.5.2. Fixação e Processamento Histológico para Microscopia de Luz	38
4.5.3. Fixação e Processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura	40
4.5.4. Fixação e Processamento para Microscopia Eletrônica de Transmissão	40
5. RESULTADOS	42
5.1. CECOS PILÓRICOS	44
5.2. INTESTINO MÉDIO	46
5.3. INTESTINO POSTERIOR	49
6. DISCUSSÃO	92

7. CONCLUSÃO	103
8. ANEXO	105
8.1. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA DE LUZ	105
8.2. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	107
8.3. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	109
8.4. PREPARO DAS SOLUÇÕES UTILIZADAS NA COLETA E FIXAÇÃO DAS AMOSTRAS	111
8.5. PREPARO DOS CORANTES UTILIZADOS EM MICROSCOPIA DE LUZ	114
8.6. PREPARO DAS SOLUÇÕES UTILIZADAS NO PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO E VARREDURA	119
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Mapas do Local de Estudo I	54
FIGURA 2: Mapas do Local de Estudo II	55
FIGURA 3: Local de Captura e Laboratório Frio	56
FIGURA 4: Captura dos Peixes	57
FIGURA 5: Material Biológico	58
FIGURA 6: Trato Digestivo	59
FIGURA 7: Aspectos Histológicos Gerais do Intestino	60
FIGURA 8: Tipos Celulares da Mucosa Intestinal	61
FIGURA 9: Enterócito	62
FIGURA 10: Célula Caliciforme	63
FIGURA 11: Lâmina Basal e Camada Submucosa	64
FIGURA 12: Topografia dos Cecos Pilóricos	65
FIGURA 13: Mucosa dos Cecos Pilóricos I	66
FIGURA 14: Mucosa dos Cecos Pilóricos II	67
FIGURA 15: Mucosa dos Cecos Pilóricos III	68
FIGURA 16: Distribuição e Histoquímica das Células Caliciformes nos Cecos Pilóricos	69
FIGURA 17: Topografia do Intestino Médio I	70
FIGURA 18: Topografia do Intestino Médio II	71
FIGURA 19: Mucosa do Intestino Médio I	72
FIGURA 20: Distribuição das Células Caliciformes no Intestino Médio	73
FIGURA 21: Histoquímica das Células Caliciformes do Intestino Médio	74

FIGURA 22: Mucosa do Intestino Médio II	75
FIGURA 23: Mucosa do Intestino Médio III	76
FIGURA 24: Valva Íleo-retal	77
FIGURA 25: Topografia do Intestino Posterior I	78
FIGURA 26: Topografia do Intestino Posterior II	79
FIGURA 27: Mucosa do Intestino Posterior I	80
FIGURA 28: Distribuição das Células Caliciformes no Intestino Posterior	81
FIGURA 29: Histoquímica das Células Caliciformes do Intestino Posterior	82
FIGURA 30: Mucosa do Intestino Posterior II	83
FIGURA 31: Mucosa do Intestino Posterior III	84
FIGURA 32: Mucosa do Intestino Posterior IV	85
FIGURA 33: Mucosa do Intestino Posterior V	86
FIGURA 34: Esfíncter Anal	87
FIGURA 35: Epitélio Anal I	88
FIGURA 36: Epitélio Anal II	89
FIGURA 37: Epitélio Anal III	90
FIGURA 38: Epitélio Anal IV	91

RESUMO

As variações sazonais do período e da intensidade luminosa levam a alterações na biomassa e produtividade primária no Oceano Antártico. Esse fator pode ter forçado a evolução de certos hábitos alimentares das espécies de peixes antárticos, assim como, o desenvolvimento de um mecanismo muito aprimorado para a obtenção do alimento, demonstrado através do comportamento alimentar, associado às modificações morfológicas e fisiológicas do aparelho digestivo. O presente trabalho tem como objetivo principal estudar, morfológica e ultraestruturalmente, a relação entre o hábito alimentar e a morfologia funcional do intestino. *Notothenia neglecta* é uma espécie bentônica e relativamente inativa, enquanto que *Trematomus newnesi* é um peixe semipelágico e planctônico. As duas espécies exibem as principais características do trato digestivo de peixes carnívoros, como um grande estômago e um intestino curto. O intestino inicia-se na região dos cecos pilóricos, que são em número 5 a 7, a partir dos quais estende-se o intestino médio, constituído de 3 alças intestinais, delimitado posteriormente pela valva íleo retal, que separa o intestino médio do intestino posterior, o qual se estende até o ânus. A mucosa ao longo de todo o intestino é composta por um epitélio colunar simples, constituído por enterócitos, células caliciformes, células endócrinas, linfócitos e células com grânulos em bastonete. As células caliciformes secretam mucossubstâncias neutras e ácidas ao longo de toda a extensão do intestino das duas espécies estudadas. Mucossubstâncias ácidas ricas em grupamentos sulfatados só não estavam presentes nos cecos pilóricos de *N. neglecta*. Os enterócitos dos cecos pilóricos e da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta*, assim como, do intestino médio de *T. newnesi*, exibem as principais características de células que estão envolvidas com a função de absorção de lipídios. Os enterócitos do intestino posterior de ambas as espécies têm características células com a função de absorver proteínas. Outra importante função do intestino de peixes é a osmorregulação, que em *N. neglecta* pode estar ocorrendo principalmente nas porções mediana e distal do intestino médio e, em *T. newnesi*, ao longo do intestino médio. Sugere-se que essas diferenças encontradas nos segmentos intestinais, responsáveis por desempenhar algumas dessas importantes funções, possam estar relacionadas com o metabolismo energético, o qual pode resultar em uma utilização diferenciada dos nutrientes alimentares em espécies ecologicamente diferentes, assim como, em indivíduos de uma mesma espécie em diferentes estações do ano.

ABSTRACT

Seasonal variations in photoperiod and light intensity in the Antarctic Ocean cause a natural fluctuation in biomass and primary production. Consequently, during the evolutionary process in fish, feeding behaviour, associated to morphological and physiological features of the digestive tract, have been adapted to this highly variable environment, in order to allow their best nutrition. Therefore, the present study aims to relate the intestine functional cell morphology to the feeding habits of the Antarctic fish *Notothenia neglecta* and *Trematomus newnesi* and verify their potential capability to digest different food components. *N. neglecta* is a benthic species with relatively low activity while *T. newnesi* is semi-pelagic and planctonic. Both have a digestive tract that is typical for carnivorous fish: proportionally big stomach and short intestine. The intestine of both species begins at the region with 5 to 7 pyloric caecae, extending towards the posterior region, forming 3 loops and ending at the ileo-rectal valve. After the valve, the posterior intestine extends towards the anus. The intestine of both species is lined by a mucosa of simple columnar epithelium with enterocytes, goblet cells, endocrine cells, lymphocytes and rodlet cells. In both species the goblet cells secrete neutral and acid mucosubstances. Sulphated mucosubstances were absent only from the pyloric caecae of *N. neglecta*. The enterocytes of the pyloric caecae and of the proximal portion of the medium intestine of *N. neglecta* as well as the medium intestine of *T. newnesi* have characteristics of cells that absorb lipids. Cells with characteristics for protein absorption were detected at the posterior intestine of both species. Other important function of the intestine of fish is osmoregulation that in *N. neglecta* can occur at the median and distal portion of the medium intestine and in *T. newnesi* along the entire medium intestine. One can suggest that these differences that were detected in the intestinal segments and that are related to such important functions can be related with the energetic metabolism, resulting in a differentiated use of food nutrients in species that are ecologically diverse, as well as in distinct individuals of one same species but in different seasons of the year.

1. INTRODUÇÃO

Os primeiros fósseis de vertebrados mandibulados (Gnathostomata), grupo constituído pelos peixes e tetrápodos, foram encontrados durante o período Siluriano (450-400 milhões de anos atrás). Atualmente, existem cerca de 45-50.000 espécies de vertebrados mandibulados. As quatro classes de tetrápodos (Amphibia, Reptilia, Ave e Mammalia) compreendem um total de aproximadamente 21.500 espécies diferentes e o restante das espécies de vertebrados mandibulados são todos peixes (POUGH et al., 1993; JOBLING, 1995).

Filogeneticamente os peixes são divididos em cartilaginosos (Elasmobranchiomorphi) e ósseos (Teleostomi). Os Teleostomi compreendem os extintos acantodianos (Acanthodii) e os peixes ósseos modernos (Osteichthyes). Os Elasmobranchiomorphi também são divididos em duas classes, a dos placodermos (Placodermi), já extinta, e a dos peixes cartilaginosos modernos (Chondrichthyes) (POUGH et al., 1993). As duas linhagens filogenéticas parecem ter tido desenvolvimento paralelo, pois representantes fósseis de ambas as classes modernas são encontrados em registros do período Devoniano (350 milhões de anos atrás) (JOBLING, 1995).

As mais de 20.000 espécies de peixes ocupam habitats marcadamente diferentes, além de formarem um grupo bastante heterogêneo. Assim, os peixes são encontrados em lagos, riachos, estuários e oceanos de todo o mundo, podendo ser encontrados em quase todos os habitats aquáticos concebíveis, desde locais onde a temperatura da água pode exceder os 40°C, até em mares antárticos, onde a temperatura da água está muito próxima de 0°C (JOBLING, 1995).

A Antártica congelou rapidamente a cerca de 38 milhões de anos atrás e tornou-se isolada dos outros continentes entre aproximadamente 30-14 milhões de anos, quando a Passagem do Drake se fechou, formando o Oceano Circum-Antártico (KENNETT, 1977 apud NORTH, 1991). O Continente Antártico é uma massa de terra que abrange 14 milhões de km² e está isolado, por um grande e extenso oceano gelado, de todos os outros continentes, exceto da extremidade sul da América do Sul (Fig. 1A).

As temperaturas continentais usualmente estão abaixo de 0°C durante todo o ano, tanto no interior como em algumas regiões costeiras. Em 1983, na Estação Soviética Vostok, foi registrada a temperatura de -89,6°C, um recorde mundial (PHILLPOT, 1985 apud EASTMAN, 1993).

A neve acumulada há milênios cobriu o continente com uma camada de gelo, tem em média 2.160m de espessura. O peso do gelo tem afundado o continente e a costa continental em vários mil metros. Assim, uma considerável porção da massa de terra da Antártica encontra-se abaixo do nível do mar. Por outro lado, algumas altas montanhas projetam-se 2.000m acima da superfície de gelo (EASTMAN, 1993).

As Montanhas Transantárticas dividem o continente em duas regiões, a grande Antártica Oriental e a pequena Antártica Ocidental, esta última está localizada inteiramente no Hemisfério Ocidental. A Antártica Ocidental é uma área montanhosa que inclui a Península Antártica (Fig. 1B).

A extensa área oceânica que circunda o Continente Antártico consiste de partes dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico. Existe, entre 50° e 60°S aproximadamente, uma barreira natural denominada de Convergência Antártica, que separa o Oceano Circum-Antártico dos outros oceanos. Nessa faixa existem características oceanográficas importantes que influenciam diretamente na vida dos organismos marinhos polares que ali vivem (DeWITT, 1971; FOSTER, 1984).

A temperatura das águas continentais antárticas, bem como a das regiões costeiras, usualmente permanece em torno de 0°C durante todo o ano (EASTMAN, 1991), decrescendo e tendo pequena variação em direção ao sul, $+3,5^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ a 50°S para $-1,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ a 78°S (DUHAMEL, 1987 apud NORTH, 1991). Além disso, pode-se observar um aumento da sazonalidade em relação à luminosidade e produtividade primária com o aumento da latitude (NORTH, 1991; EASTMAN, 1993). O regime de luz é característico de regiões polares, assim, no inverno há longos períodos sem luz, enquanto que no verão a luz é praticamente constante, ocorrendo situações intermediárias nas outras estações do ano (RIVKIN e PUTT, 1987). As condições de penetração de luz na água do mar podem ser comparadas com as encontradas em águas oceânicas profundas de outras áreas do mundo, pois podem ser atenuadas pelo gelo e pela neve (KOCK, 1992).

A densidade da água é controlada pela salinidade. Quando se dá a formação de gelo a partir da água do mar muitos dos sais ali dissolvidos são excluídos, aumentando a salinidade e, conseqüentemente, a densidade da água. Assim, em temperatura baixa, a água torna-se duas vezes mais viscosa do que a água de mares temperados (FOSTER, 1984; EASTMAN, 1991). Essa combinação de características físicas da água gelada é única e certamente teve influência nas adaptações evolutivas da fauna marinha (EVERSON, 1984).

Os registros fósseis indicam que os peixes têm ocupado águas na Antártica e ao seu redor há vários milhões de anos. No entanto, a composição taxonômica e o significado biogeográfico dessa ictiofauna têm sofrido significativas mudanças através do tempo geológico (EASTMAN, 1991).

Foram encontrados no Continente Antártico registros fósseis de peixes de água doce do Paleozóico (Devoniano) e Mesozóico (Jurássico Inferior) (EASTMAN, 1993). Esses peixes mostram afinidades biogeográficas com formas da Austrália, comprovando que a Antártica foi uma parte integrante do supercontinente Gondwana (COLBERT, 1982 apud EASTMAN, 1991). No entanto, os representantes das ictiofaunas fósseis, tanto continental como marinha, encontrados na Antártica não são ancestrais uns dos outros e nem estão relacionados com nenhum componente da ictiofauna moderna, a qual é exclusivamente marinha (EASTMAN, 1991).

Das mais de 20.000 espécies de peixes modernos, aproximadamente 300 espécies de peixes demersais e pelágicos (1,5%) são encontradas ao sul da Convergência Antártica, sendo que, a maior parte é encontrada exclusivamente nessa área (GRÖHSLER, 1994).

A fauna de peixes antárticos tem sofrido uma dramática redução em diversidade desde o período Terciário. EASTMAN e GRANDE (1989) apud NORTH (1991) sugerem que importantes fatores durante a evolução do ecossistema como o congelamento, a redução na área costeira e o aumento da profundidade na costa, podem resultar em uma baixa diversidade de espécies de vertebrados.

O grupo dominante de peixes antárticos pertence à Subordem Notothenioidei, a qual consiste de seis Famílias: Nototheniidae, Harpagiferidae, Bathydraconidae, Channichthyidae, Bovichthidae e Artedidraconidae (EASTMAN, 1993). A radiação adaptativa desse grupo pode sugerir que a fauna anterior foi quase toda extinta e que os nototeniídes emergiram em um “vácuo ecológico”, sendo considerado um grupo monofilético (IWAMI, 1985; EASTMAN, 1993). Essa radiação provavelmente ocorreu numa longa escala de tempo.

A maioria das espécies está restrita à costa continental ou à costa das ilhas próximas ao continente. Em geral, a profundidade da água na costa continental Antártica é muito maior do que em outros oceanos (ADIE, 1964 apud EVERSON, 1984; DeWITT, 1971) e no mar não há uma comunicação contínua de águas rasas entre a Antártica e os continentes ao norte. Uma consequência direta desse fato é um alto grau de endemismo entre as espécies antárticas (EVERSON, 1984).

EASTMAN (1991) sugere que o fato do endemismo dos Notothenioidei não estar representado nos registros fósseis encontrados na Antártica deve estar relacionado com sua evolução *in situ* nas margens do continente, enquanto gradualmente se adaptavam às condições de congelamento durante o Terciário.

Nas geladas águas costeiras, nototeniídeos ocupam todos os habitats bentônicos e da coluna d'água, e constituem 50% das espécies (GON e HEEMSTRA, 1990; HUBOLD, 1991) e 90-95% da biomassa (DeWITT, 1971; EKAU, 1990). Esse grupo, especialmente as espécies da família Nototheniidae, manifestam considerável diversidade ecológica (EASTMAN e DeVRIES, 1997).

Nototheniidae é a maior família. A maioria das espécies é sedentária demersal, embora algumas tenham se adaptado a viver no ambiente pelágico e outras rigorosamente associadas ao gelo na superfície (DeVRIES, 1978 apud EVERSON, 1984).

É tentador atribuir esse grande endemismo na composição da ictiofauna antártica à baixa temperatura da água, pois este é um fator limitante para os processos biossintéticos. Porém, existem outros fatores ecológicos, como limitação do habitat e a oscilação sazonal do suprimento alimentar que podem, em conjunto com a temperatura, ter contribuído para a restrição da diversidade (EASTMAN e GRANDE, 1989 apud KOCK, 1992; CLARKE, 1990 apud KOCK, 1992; EASTMAN, 1991).

CLARKE (1983) enfatizou a extrema importância do conjunto de alterações na estrutura trófica do Oceano Circum-Antártico, limitando e modificando consideravelmente os hábitos alimentares de algumas espécies de peixes em seus habitats naturais, acarretando uma grande mudança na ictiofauna da Antártica Paleogênica. Segundo esse mesmo autor, a baixa temperatura da água, a sazonalidade e a escassez de alimento são fatores determinantes na vida de ectotermos polares. Em adição a essas características típicas de altas latitudes, fatores ambientais como distribuição da massa de água e padrões de corrente também afetam a vida dos peixes na Antártica. A hidrografia torna-se um fator ainda mais crítico quando estágios pelágicos são incluídos na história da vida desses animais (HARDEN JONES, 1968 apud HUBOLD, 1991; SINCLAIR, 1988 apud HUBOLD, 1991).

Apesar de espécies de altas latitudes confrontarem-se com condições muito severas, elas também têm a possibilidade de desenvolver adaptações muito especializadas para combinar com essas condições no curso da evolução. É de interesse, portanto, investigar um largo espectro de características biológicas de peixes antárticos

e relacioná-las com os fatores determinantes desse ambiente particular (HUBOLD, 1991).

Certamente é de grande importância o estudo da especialização dos sistemas e mecanismos que permitem que peixes vivam com temperaturas internas próximas do ponto de congelamento da água, podendo esclarecer alguns processos biológicos básicos para a vida sob essas condições. Além disso, o estudo das relações bióticas e abióticas das diversas espécies de peixes antárticos é de grande importância para o entendimento das adaptações que permitiram a sobrevivência dessas espécies sob tais condições.

Os peixes antárticos exibem uma variedade de adaptações para evitar o congelamento (DeVRIES, 1988) e possuem membranas e proteínas tolerantes ao frio (SOMERO, 1991). Apesar dessas adaptações, processos fisiológicos como desenvolvimento e crescimento são relativamente lentos (JOHNSTON, 1990). Os peixes crescem lentamente e ocupam nichos ecológicos que envolvem um baixo fluxo energético (NORTH, 1991). Os adultos de muitas espécies são sedentários, nadam a baixas velocidades usando as nadadeiras pélvicas e têm uma limitada resistência à natação em alta velocidade (JOHNSTON, 1989).

Apesar de muitas das características biológicas peculiares dos organismos antárticos serem atribuídas diretamente aos efeitos da baixa temperatura outras, estão de certa forma, relacionadas com a marcada sazonalidade encontrada nessa região (JOHNSTON e BATTRAM, 1993). A sazonalidade influencia diretamente na produtividade primária no Oceano Antártico e, dessa forma, na disponibilidade de alimento.

Assim, para se ajustar a essa sazonalidade, os peixes antárticos desenvolveram hábitos alimentares e mecanismos estruturais que lhes permite aumentar o consumo de alimento e acumular lipídios durante os meses de verão, sendo que essa energia acumulada será direcionada durante o inverno para o crescimento das gônadas e produção de ovos (CLARKE, 1988; JOHNSTON e BATTRAM, 1993).

As variações sazonais do período e da intensidade de luz a que se submetem as formas de vida no ecossistema antártico, levam a alterações na biomassa e produtividade primária no oceano, as quais estão limitadas pelas condições de luminosidade (EASTMAN, 1993). No inverno, a quantidade de luz é reduzida e toda a cadeia trófica sofre com a queda da biomassa no primeiro nível de produção e, segundo KOCK (1992) isso pode ter forçado a evolução de certos hábitos alimentares.

No processo de alimentação dos peixes a primeira etapa é a detecção do alimento. Essa etapa, na maioria dos peixes, pode envolver a visão, a quimiorrecepção e a eletrorrecepção ou mecanorrecepção. Porém, esses diferentes mecanismos de detecção do alimento não são mutuamente exclusivos, isto é, uma mesma espécie pode usar um ou uma combinação desses mecanismos na procura de alimento, sendo que os diferentes mecanismos para a detecção da presa são utilizados de acordo com o tipo de alimento e o hábito alimentar do peixe, pois uma vez detectada, a presa necessita ser capturada e ingerida (FANTA et al., 1994a/b; JOBLING, 1995; MEYER e FANTA, 1998; FANTA et al., 1998).

Outra etapa no processo de alimentação é a seleção do alimento. Após ser capturada, a presa pode ser ingerida ou rejeitada, essa seleção é feita por botões gustativos na cavidade bucal e região faríngea dos arcos branquiais e dos seus rastros (RIOS, 1997; MEYER e FANTA, 1998; RIOS e FANTA, 1998).

Após a ingestão, o passo seguinte é a digestão da presa e absorção dos nutrientes. Aceita-se que a estrutura do trato digestivo em uma dada espécie de peixe está relacionada com a sua dieta, sendo que isso pode ser comprovado quando comparações da morfologia do intestino são feitas entre espécies de diferentes níveis tróficos, especialmente entre herbívoros e carnívoros. Os herbívoros têm intestino mais longo que os carnívoros, devido à dificuldade na digestão dos carboidratos vegetais e da quantidade de material não digerível (BRYAN, 1975).

Assim, durante o processo evolutivo dos peixes e conforme a natureza do alimento ingerido e os hábitos alimentares da espécie, desenvolveu-se um mecanismo muito aprimorado para a obtenção do alimento, demonstrado no comportamento alimentar (FANTA, 1998; MEYER e FANTA, 1998; FANTA et al., 1994a), associado às modificações morfológicas e fisiológicas do aparelho digestivo (DZHUMALIYEV, 1982). Dessa forma, a relação entre o hábito alimentar e a morfologia e fisiologia do trato digestivo é de grande importância na interpretação das preferências alimentares e nas possibilidades de digestão e absorção do alimento.

Como um reflexo dos inúmeros hábitos alimentares apresentados pelos peixes, a morfologia do trato digestivo é bastante diversificada. A grande variação na estrutura do intestino e a falta de referências anatômicas para dividir esse órgão em regiões definidas e constantes, dificulta a correlação entre os fenômenos observados à microscopia de luz e eletrônica à região anatômica onde eles ocorrem (HERNANDEZ-BLAZQUEZ, 1996; OLIVEIRA RIBEIRO, 1991).

Tem sido demonstrado que a maior parte dos peixes antárticos é carnívora, ocupando posições tróficas similares nas comunidades com as quais eles estão associados (TARGETT, 1981; DANIELS, 1982).

Em diferentes estações do ano e localidades, têm-se observado mudanças na dieta de peixes antárticos, essas mudanças geralmente estão relacionadas com uma utilização diferencial no tempo e no espaço do mesmo conjunto de itens alimentares. Assim, grande similaridade nos níveis tróficos e no tipo de presa ingerida são geralmente características da ecologia trófica na ictiofauna antártica (OJEDA, 1986; HUREAU, 1994).

A família Nototheniidae mostra-se menos especializada na escolha e no método de obtenção da presa quando comparada com as demais famílias de nototeniídeos, apresentando uma grande diversidade tanto na dieta, quanto no comportamento alimentar (DANIELS, 1982; KOCK, 1992; FANTA, 1998; FANTA e MEYER, 1998).

HUREAU (1994) afirma que o significado dos peixes no ecossistema marinho antártico, expresso em termos de biomassa, é grande. O impacto sobre os estoques de krill (*Euphausia superba*) é da mesma ordem de grandeza do impacto das populações de baleia e lulas, mas permanece abaixo do impacto de aves e focas. O papel dos peixes na dieta de predadores de níveis mais altos é insignificante. Assim, HUREAU (1994) conclui que os peixes ocupam uma posição central na cadeia trófica e no ecossistema marinho da Antártica. Essa posição é comparável com a de *Euphausia superba* (krill), pelo menos na Zona da Alta Antártica, região adjacente ao continente, a qual é coberta por gelo permanente a maior parte do ano.

A posição e importância dos peixes no ecossistema marinho antártico e cadeia alimentar foram alguns dos objetivos do programa internacional BIOMASS - "Biological Investigations of Marine Antarctic Systems and Stocks" - lançado em 1976 na Conferência de Woodshole (USA) e finalizado em 1991 no Simpósio sobre BIOMASS em Bremerhaven (Alemanha). Durante o curso desse programa, a primeira tentativa foi fazer uma estimativa do consumo de krill pelos peixes da costa da Antártica junto com uma avaliação da função dos peixes mesopelágicos, como predadores e como presas. Mais tarde muitos programas nacionais e internacionais desenvolveram pesquisas sobre a relação entre os peixes e outros componentes do ecossistema (HUREAU, 1994).

No presente, o estudo da biologia, principalmente a biologia alimentar, das espécies de peixes antárticos tem adquirido importância devido ao desenvolvimento das

atividades pesqueiras na região. Apesar da proclamação de boas intenções da Convenção para a Conservação dos Recursos Vivos Marinhos Antárticos (CCAMLR) e do Protocolo do Tratado Antártico, essas atividades pesqueiras levam à exploração desenfreada de algumas espécies (SKÓRA e SOSINSKI, 1983; POLICANSKY, 1994). Assim, pesquisas ictiológicas são de grande importância, já que os resultados obtidos podem trazer informações práticas e econômicas para um manejo racional da atividade pesqueira (SKÓRA e SOSINSKI, 1983). Pois as características biológicas específicas, assim como crescimento lento e baixa fecundidade, tornam os peixes antárticos particularmente susceptíveis à exploração em larga escala (KOCK, 1992).

A Antártica é agora reconhecida como tendo importância global, influenciando a atmosfera mundial e a circulação oceânica, assim como, sendo uma potencial reserva dos recursos naturais. Está em foco no presente pela considerável atividade internacional de pesquisa, e ocupa uma posição alta em termos políticos e sócio-econômicos (57 estações científicas e 22 nações estão operando na Antártica). Segundo cientistas de todas as áreas, a Antártica é um vasto laboratório natural, no qual os maiores processos fisiológicos e biológicos podem ser estudados em condições ambientais relativamente despoluídas (BLOCK, 1994).

A composição alimentar da maioria das espécies de peixes antárticos é agora bem conhecida e, como nos peixes a morfologia do trato digestivo está intimamente relacionada com os hábitos alimentares, o estudo histológico e ultraestrutural do intestino de peixes antárticos com diferentes hábitos e comportamentos alimentares, fornecem importantes informações para a elucidação dos mecanismos evolutivos e ecológicos que levaram os nototeniídeos a se adaptarem às condições encontradas nos mares austrais. Além disso, são de fundamental importância para a compreensão da biologia desses organismos, assim como de todo o ecossistema antártico, já que os peixes possuem importante papel na estrutura trófica desse ecossistema.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Investigações sobre peixes antárticos datam desde antes da metade do século XIX, quando a expedição de James Clark Ross (1839-1843) coletou os primeiros espécimes desse vertebrado marinho (KOCK, 1992; HUREAU, 1994). O início da ictiologia antártica foi marcado pela descrição de Richardson de uma coleção de peixes coletada durante essa expedição (KOCK, 1992), sendo que, por mais de um século só foram realizadas investigações taxonômicas, sistemáticas e biogeográficas (HEADLAND, 1990; KOCK, 1992; HUREAU, 1994). Essas investigações descreveram uma ictiofauna costeira única, dominada por perciformes pertencentes a uma única subordem: *Notothenioidi* (KOCK, 1992).

No início desse século alguns países demonstraram grande interesse em desenvolver atividades pesqueiras na Antártica e desde então aumenta a exploração intensiva de peixes antárticos. REGAN (1913) e NORMAN (1937, 1938), foram os primeiros cientistas que analisaram os problemas da atividade pesqueira nessa região (apud SKÓRA e SOSINSKI, 1983).

O desenvolvimento da pesca em larga escala na região Antártica desencadeou investigações sobre crescimento, reprodução e alimentação, principalmente das espécies coletadas. Os estudos mais importantes nesse período foram os de ANDRIASHEV (1965) apud SKÓRA e SOSINSKI (1983) e DeWITT (1971).

Foi somente a partir de 1950 que a ictiologia antártica ampliou-se, quando estudos fisiológicos e ecológicos tornaram-se mais comuns. A falta de hemoglobina nos eritrócitos do *ice-fish* foi descoberta e, mais tarde, o conceito de adaptação metabólica ao frio foi descrito. Nos anos 60, investigações a respeito dos mecanismos que levaram os peixes antárticos a se adaptarem com sucesso a um ambiente continuamente frio e com alta sazonalidade, tornaram-se o foco de estudos sobre a fisiologia desses organismos (KOCK, 1992).

Publicações sobre o desenvolvimento das formas larvais dos peixes antárticos só apareceram a partir da segunda metade dos anos 70. Os trabalhos sobre taxonomia, no entanto, não cessaram e as maiores revisões taxonômicas e estudos sobre as relações filogenéticas da ictiofauna costeira foram publicados. Apesar do grande número de fósseis descobertos recentemente, a origem dos peixes antárticos permanece desconhecida (KOCK, 1992).

EVERSON (1984) fez uma revisão da biologia dos peixes antárticos, onde

apresentou informações sobre a composição e distribuição das espécies, aspectos de sua ecologia como tamanho e crescimento, reprodução, alimentação e ciclo anual. Além disso, abordou também as adaptações ao ambiente Antártico, incluindo estenotermia e adaptações metabólicas ao frio. Apresentou também, uma breve introdução à problemática da exploração comercial de algumas espécies de peixes antárticos.

Mais tarde, outras importantes revisões a respeito da composição taxonômica e biogeográfica dos peixes antárticos (GON e HEEMSTRA, 1990), da composição da ictiofauna, sua distribuição e abundância, assim como, do desenvolvimento de especializações ao longo da evolução, enfatizando principalmente o crescimento, a reprodução, o desenvolvimento larval e o papel dos peixes na cadeia trófica do Oceano Antártico (di PRISCO et al., 1991; KOCK, 1992; EASTMAN, 1993), foram publicadas.

Idade, crescimento, mortalidade e biomassa populacional são importantes componentes para o entendimento da biologia das espécies de peixes, assim como, fornecem parâmetros para a avaliação dos estoques de peixes na região Antártica. Dessa forma, investigações sobre idade e crescimento de mais de 25 membros das famílias Nototheniidae, Channichthyidae, Harpagiferidae e Myctophidae foram desenvolvidas (KOCK, 1992).

Estudos têm demonstrado que peixes tropicais crescem mais rápido do que peixes temperados que, por sua vez, crescem mais rápido do que peixes de regiões polares (CLARKE e NORTH, 1991; JOHNSTON e BATTRAM, 1993). Embora existam poucos estudos detalhados do crescimento dos peixes antárticos em diferentes estações do ano, algumas evidências sugerem que o crescimento é sazonal. Por exemplo, os otólitos e as escamas de muitas espécies de peixes antárticos têm anéis compreendendo zonas de crescimento mais rápido e outras de crescimento mais lento (OLSEN, 1955 apud CLARKE e NORTH, 1991; WOHLSCHLAG, 1961; EVERSON, 1970, 1984). Foi demonstrado por NORTH (1988) que em algumas dessas espécies, a zona de crescimento rápido dos otólitos é formada durante o verão e o outono. Variações sazonais na taxa de crescimento têm sido observadas também para os estágios larvais de peixes antárticos (NORTH, 1990 apud JOHNSTON e BATTRAM, 1993). Todavia, CLARKE e NORTH (1991) e HUBOLD (1991) discutem que pequenas taxas de crescimento não são uma simples limitação decorrente da baixa temperatura.

Em larvas, baixas taxas de crescimento durante o inverno são, provavelmente, reflexo de um decréscimo na abundância e qualidade de ictioplâncton em conjunto com a redução do comprimento do dia e intensidade luminosa, o que também restringe as

oportunidades de alimentação (NORTH, 1991).

Segundo JOHNSTON e BATTRAM (1993), os estágios adultos de peixes antárticos podem apresentar um tipo de programação do consumo de energia de acordo com a demanda. Nesse caso, o controle no consumo de energia ocorre entre crescimento e reprodução, já que o crescimento das gônadas antes da desova leva a um consumo de energia próximo ao máximo do poder metabólico disponível, resultando em um desvio do crescimento corporal em favor da reprodução.

O esforço reprodutivo constitui a maior influência sazonal no orçamento energético. A desova (SAKAKIBARA et al., 1989) e o cuidado com a prole em algumas espécies (HOURIGAN e RADKTE, 1989) podem reduzir as taxas alimentares durante o inverno. TARGETT (1990) apud JOHNSTON e BATTRAM (1993) mediu taxas de alimentação e crescimento em *Harpagifer antarcticus* aclimatados em condições que simulavam regimes de temperatura e fotoperíodo encontrados no inverno e no verão, sendo que os indivíduos aclimatados no verão tiveram taxas de alimentação duas vezes maiores do que os aclimatados sob condições de inverno.

Os resultados de JOHNSTON e BATTRAM (1993) para *Notothenia neglecta*, também sugerem uma redução na atividade alimentar e/ou um aumento na mobilização de lipídios durante os meses de inverno, possivelmente relacionado com o desenvolvimento das gônadas. Além disso, estudos do conteúdo estomacal têm demonstrado que espécies relacionadas, como *Notothenia rossi*, comem menos durante os meses de inverno, ainda que as presas permaneçam abundantes durante todo o ano (BURCHETT, 1983a).

Uma consequência direta do crescimento lento e vida longa da maioria dos peixes antárticos, é o fato de que muitos não atingem a maturidade sexual antes dos cinco anos de idade. Porém, é provável que sejam capazes de procriar anualmente após terem alcançado a maturidade sexual. EVERSON (1984) resumizou as informações a respeito da idade e tamanho de maturidade sexual de várias espécies de peixes antárticos.

O desenvolvimento gonadal e a maturação progridem sincronicamente em indivíduos de uma mesma espécie, sendo assim, a estação de desova geralmente tem duração limitada. Nas espécies estudadas até o momento, a desova ocorre tipicamente nos meses de verão ou no início do inverno. CASAUX et al. (1990) estudando aspectos sazonais da biologia e dieta de nototenídeos da Enseada Potter, encontraram dados que coincidem com essa informação. Em *Notothenia neglecta* dessa região, estágios

maduros do ciclo gonadal aparecem em ambos os sexos nos meses de fevereiro a maio, logo, a desova provavelmente ocorre durante esses meses.

A taxa de maturação e fecundidade da maioria dos nototeniídeos (10 a 200 ovos/g) é relativamente baixa (KOCK e KELLERMAN, 1991). Contudo, os ovos geralmente são grandes (2-4mm de diâmetro) e investem energia suficiente para enfrentar os curtos picos sazonais de produção primária (NORTH e WHITE, 1987 apud JOHNSTON e BATTRAM, 1993).

As larvas da maioria dos nototeniídeos são pelágicas e se alimentam do mesoplâncton na zona nerítica (NORTH, 1991). Larvas de peixes, incluindo nototeniídeos, engolem suas presas inteiras, conseqüentemente, o tamanho da sua boca limita o tamanho máximo da presa que pode ser consumida (BALBONTIN et al., 1986; NORTH e WARD, 1989). Estudos realizados por BALBONTIN et al. (1986), KELLERMAN (1987) e NORTH e WARD (1989) demonstraram que os primeiros estágios de formas larvais de muitos nototeniídeos alimentam-se de presas com 0,05-0,75mm de largura, com a maior parte das presas sendo copépodos e eufausídeos entre 0,3 e 0,5mm de largura. Porém, existem algumas exceções, como as larvas de muitos membros da família Channichthyidae e de *Psilodraco breviceps* (Bathydraconidae), as quais possuem boca grande. Essas larvas são piscívoras e alimentam-se dos primeiros estágios larvais de outras espécies de peixes (>0,8mm de largura) em adição às formas jovens de eufausídeos e copépodos (KELLERMAN, 1987, 1989; BALBONTIN et al., 1986; HUBOLD e EKAU, 1990). A variedade de tipos alimentares na dieta das larvas de nototeniídeos também inclui anfípodos, moluscos e peixes (NORTH, 1991; KOCK, 1992; HUREAU, 1994).

No inverno, a sazonalidade do alimento disponível, do comprimento do dia e da intensidade luminosa combinados, reduzem as oportunidades de alimentação tanto para os invertebrados polares (CLARKE, 1988) como para as larvas de peixes (KELLERMANN, 1990; NORTH e WARD, 1990 apud NORTH, 1991), pois em comparação com o verão, a biomassa de zooplâncton na zona epipelágica (<100m de profundidade) cai para menos da metade durante inverno (FOXTON, 1956; ANDREWS, 1966). Além de reduzir as oportunidades de alimentação para invertebrados polares e larvas de peixes, a oscilação sazonal do suprimento alimentar pode reger alterações nos hábitos alimentares dos peixes antárticos ao longo do ano, pois os peixes são capazes de alterar o tipo de presa de acordo com a sua disponibilidade (MORENO e ZAMORANO, 1980; DANIELS, 1982; LINKOWSKI et

al., 1983; KOCK, 1985; BARRERA-ORO e CASAUX, 1990; CASAUX et al., 1990; McKENNA, 1991).

A dieta das formas adultas de espécies de peixes antárticos foi melhor descrita por EVERSON (1984). Segundo esse autor, os peixes antárticos podem ser segregados em cinco categorias de acordo com a sua presa predominante: 1) bentônicos, que se alimentam de poliquetos, moluscos e anfípodos; 2) piscívoros e bentônicos, cujas presas são peixes, cefalópodos e organismos epibentônicos; 3) planctônicos e piscívoros, os quais utilizam eufausídeos, copépodos, pterópodos e peixes como presas; 4) planctônicos e bentônicos, que se alimentam de eufausídeos, salpas, hiperídeos e organismos epibentônicos e; 5) planctônicos, os quais são primariamente dependentes de eufausídeos, copépodos, pterópodos e hiperídeos.

A composição alimentar de peixes adultos é muito variável, alguns são especialistas, outros são onívoros (HUREAU, 1994). Em adição ao papel ontogenético na composição e tamanho das presas (CASAUX et al., 1990), consideráveis variações na composição alimentar de algumas espécies de peixes antárticos existem local e sazonalmente (KOCK, 1992; HUREAU, 1994).

Conforme a revisão feita por EVERSON (1984), os grupos que predominam na dieta de muitas espécies de peixes antárticos são: algas, bivalvas, gastrópodos, anfípodos, isópodos, misidáceas, eufausídeos, poliquetos e peixes.

A dieta de peixes antárticos adultos tem sido estudada em detalhe por vários autores a mais de 20 anos (HUREAU, 1970; EVERSON, 1970, 1977, 1984; TARVERDYIEVA, 1972; PERMITIN e TARVERDYIEVA, 1972, 1978; RICHARDSON, 1975; MORENO e OSÓRIO, 1977; MORENO e ZAMORANO, 1980; TARGETT, 1981; WYANSKI e TARGETT, 1981; DANIELS, 1982; BURCHETT, 1983b; LINKOWSKI et al., 1983; DUHAMEL e HUREAU, 1985; KOCK, 1985, 1987, 1992; WILLIAMS, 1985; BARRERA-ORO e CASAUX, 1990; CASAUX et al., 1990; McKENNA, 1991; MONTGOMERY et al., 1993; VACCHI e LA MESA, 1995; LA MESA et al., 1997).

Uma excelente revisão da composição alimentar dos peixes antárticos foi publicada por KOCK (1992). Dentre estes, os peixes mesopelágicos e da família Myctophidea são as espécies melhor documentadas, especialmente nas zonas de “pack-ice” sazonal e livre de gelo.

RICHARDSON (1975) descreveu as dietas de quatro espécies de peixes antárticos encontradas ao longo da Península Antártica e discutiu a sobreposição dessas

dietas. TARGETT (1981) examinou a estrutura trófica de cinco espécies de peixes demersais da Antártica e Ilhas Sub-antárticas. PERMITIN e TARVERDIYEVA (1972, 1978) examinaram o grau de similaridade entre a dieta de 10 espécies de peixes de Ilhas Sub-antárticas, Georgia do Sul e, nototeniídeos e canictídeos coletados das Ilhas Orkney do Sul, um arquipélago ao norte da Península Antártica. MORENO e OSÓRIO (1977) examinaram mudanças na dieta de *Notothenia gibberifrons* com a profundidade e WYANSKI e TARGETT (1981) relataram a dieta de 9 espécies de harpagiferídeos. DANIELS (1982) examinou vários aspectos da ecologia alimentar de peixes antárticos, incluindo mudanças sazonais, espaciais e dimensionais.

Além de DANIELS (1982), outros cientistas também estudaram variações na composição alimentar dependentes do local e da estação do ano. LINKOWSKI et al. (1983) examinaram o conteúdo estomacal de cinco espécies de peixes da família Nototheniidae, coletados no verão e no inverno na Baía do Almirantado, Ilha Rei George. KOCK (1985) analisou a proporção de krill na dieta de nototeniídeos antárticos ao longo do ano nas Ilhas Georgia do Sul, Orkney do Sul, Elefante e Shetland do Sul. CASAUX et al. (1990) analisaram o conteúdo estomacal de quatro espécies costeiras de nototeniídeos coletados durante um ano na Enseada Potter, Ilhas Shetland do Sul. MONTGOMERY et al. (1993) examinaram o conteúdo estomacal de três espécies do gênero *Trematomus* da área de McMurdo e demonstraram que há considerável flexibilidade espacial e temporal nas espécies de presas ingeridas por esses peixes.

Dentro da sub-ordem Notothenioidei, a família Nototheniidae mostra a maior diversidade tanto na composição da dieta, quanto no comportamento alimentar, mostrando-se menos especializada na escolha e no método de obtenção da presa do que as demais famílias dessa sub-ordem (DANIELS, 1982; KOCK, 1992). Nototheniidae inclui espécies bentônicas, como *Gobionotothen gibberifrons* e *Trematomus lepidorhinus*, assim como, espécies que se alimentam de zooplâncton na coluna d'água, por exemplo *Lepidonotothen larseni* e *Pagothenia borchgrevinki* (KOCK, 1992). Segundo esse mesmo autor, todas as outras famílias de nototeniídeos são mais especializadas na sua dieta. Harpagiferídeos e artedidraconídeos predam um limitado espectro de anfípodos bentônicos e poliquetos. A maioria dos batidraconídeos permanecem na camada próxima ao fundo e na coluna d'água e se alimentam de eufausídeos, misídeos e decápodos. Espécies da família Channichthyidae predam eufausídeos e peixes na coluna d'água e no fundo.

Em experimentos em tanques, realizados com diferentes espécies da família

Notothenidae verificou-se, entretanto, que as estratégias alimentares variam com a espécie e com a composição faunística local, bem como a preferência alimentar (FANTA, 1998; FANTA e MEYER, 1998; FANTA et al., 1994a).

Os resultados das análises realizadas por LINKOWSKI et al. (1983) do conteúdo estomacal de cinco espécies de peixes da família Nototheniidae, coletados na Baía do Almirantado, mostram que a dieta básica de *Notothenia coriiceps neglecta*, *N. rossi marmorata* e *N. nudifrons* consiste de organismos bentônicos e, *Trematomus newnesi* e *Pleuragramma antarcticum* se alimentam de organismos pelágicos. Vale a pena mencionar também, que as três espécies de *Notothenia* mostraram uma tendência à necrofagia. O hábito alimentar necrófago de peixes da família Nototheniidae foi também mencionado por ARNAUD e HUREAU (1966) e ARNAUD (1970).

A análise do conteúdo estomacal de *Notothenia coriiceps neglecta* realizada por MORENO e ZAMORANO (1980) revelou uma alta eurifagia, sendo que o grupo de organismos mais representados foram os anfípodos, seguidos pelos gastrópodos.

CASAUX et al. (1990) observaram que *Notothenia neglecta* e *N. gibberifrons*, coletados na Enseada Potter, apresentam uma larga variedade de itens alimentares, o que também sugere um comportamento eurífago. *Trematomus newnesi* e *N. rossi marmorata* mostraram menor diversidade na composição da dieta. Para as quatro espécies analisadas, anfípodos gamarídeos foram as principais presas.

Os resultados de CASAUX et al. (1990) indicaram planctivoria para os exemplares de *T. newnesi*, o que foi confirmado por VACCHI e LA MESA (1995) para adultos de *T. newnesi* coletados na Baía Terra Nova. Segundo esses autores, a maior parte das presas capturadas por essa espécie eram zooplanctônicas, sendo a maioria larvas de peixes, anfípodos e eufausídeos. No conteúdo estomacal dos exemplares coletados foi encontrado um grande número de estágios pós-larvais de peixes, sendo que a maioria era de *T. newnesi*. Até então, canibalismo só tinha sido observado em alguns estágios larvais de *T. newnesi* coletados no Estreito de Bransfield por BALBONTIN et al. (1986).

Variações sazonais na dieta de algumas espécies de peixes antárticos também foram observadas. *N. neglecta* da Enseada Potter se alimentou de anfípodos gamarídeos principalmente no outono, inverno e início da primavera, sendo que o krill foi a presa mais importante no final da primavera e verão (BARRERA-ORO e CASAUX, 1990; CASAUX et al., 1990). Já as análises de LINKOWSKI et al. (1983) mostram que existem pequenas diferenças na composição alimentar de *N. coriiceps neglecta* coletada

na Baía do Almirantado, no verão e no inverno. Apesar das mudanças na estrutura de predominância de espécies de anfípodos, eles são sempre o grupo de maior preferência. No verão um aumento no número de animais pelágicos, como salpas e eufausídeos, foi observado na composição alimentar, como também, foi observada uma diminuição na taxa de anfípodos e peixes no peso total de alimento. Entretanto, se mais itens alimentares estão à disposição, *N. neglecta* prefere se alimentar de pequenos peixes bento-pelágicos e krill (FANTA, 1998), como demonstrado através de testes.

Trematomus newnesi mostrou preferência alimentar no inverno similar à do verão (LINKOWSKI et al., 1983). Anfípodos gamarídeos foram as principais presas e anfípodos hiperídeos e eufausídeos foram presas secundárias, tendo um aumento de importância no outono e inverno (LINKOWSKI et al., 1983; CASAUX et al., 1990). Também não foi encontrada por CASAUX et al. (1990) uma variação significativa na dieta de *Notothenia gibberifrons* ao longo do ano, exceto por um consumo limitado de anfípodos hiperídeos durante o inverno e um aumento em poliquetos durante a primavera e início do verão.

A composição do alimento de *Notothenia rossi marmorata* da Baía do Almirantado, nas diferentes estações do ano, foi marcadamente diferente. LINKOWSKI et al. (1983) observaram um aumento considerável na preferência por salpas durante o verão e por poliquetos no inverno, sendo que anfípodos foram o componente dominante da dieta dessa espécie tanto no verão quanto no inverno. Segundo os resultados de CASAUX et al. (1990) para essa mesma espécie coletada na Enseada Potter, anfípodos gamarídeos foram as principais presas, mas não dominaram como para as outras espécies por eles estudadas. Durante alguns períodos específicos outras presas tornaram-se alimento principal, como por exemplo, bivalvas e eufausídeos no inverno, algas na primavera e início do verão e anfípodos hiperídeos no outono.

Além das variações sazonais na composição da dieta de certas espécies de peixes antárticos, LINKOWSKI et al. (1983) observaram que *Notothenia coriiceps neglecta*, *Trematomus newnesi* e *N. rossi marmorata* se alimentam mais intensamente no verão, quando os índices de repleção do estômago durante o verão e o inverno foram comparados.

MORENO e BAHAMONDE (1975), SHOWERS et al. (1977), MORENO e ZAMORANO (1980), BURCHETT (1982 e 1983b), DANIELS (1982), LINKOWSKI et al. (1983), BARRERA-ORO e CASAUX (1990) e CASAUX et al. (1990) trabalharam com a presença de algas na dieta de peixes da costa da Antártica. MORENO e

BAHAMONDE (1975) e SHOWERS et al. (1977) indicam que as algas formam uma importante parte da dieta de *Notothenia coriiceps neglecta*, tanto em porcentagem do volume como em peso seco.

CASAUX et al. (1990) fizeram uma relação da presença de algas na dieta dos peixes com a associação que existe entre estas e anfípodos gamarídeos. A frequência de ocorrência de algas na dieta de *N. neglecta*, *N. gibberifrons* e *N. rossi marmorata* é mais alta do que a desses crustáceos. Se as algas são comidas acidentalmente a eficiência para captura de anfípodos gamarídeos seria muito baixa. *T. newnesi* consome principalmente gamarídeos e somente ocasionalmente algas. Essa espécie é um predador mais efetivo de anfípodos gamarídeos, talvez devido à posição supraterritorial da sua boca, ou as algas foram comidas intencionalmente. Por outro lado, as duas espécies mais bentófagas, *N. neglecta* e *N. gibberifrons*, ingerem algas mais frequentemente. O consumo de alga é provavelmente relatado como o hábito alimentar preferido em relação à ingestão de anfípodos gamarídeos. Além disso, o consumo de algas mostra pequena variação durante o ano, enquanto que os anfípodos gamarídeos são flutuantes.

TARGETT e RADTKE (1984) analisaram o pH gástrico e intestinal de *N. neglecta* e concluíram que o pH gástrico parece ser suficiente para a lise da parede celular das algas e que macroalgas podem ser assimiladas pelos peixes. Logo, CASAUX et al. (1990) sugerem que as algas são ativamente selecionadas e consumidas deliberadamente pelos peixes e que, pela sua dieta, podem ser considerados onívoros. Já, os resultados de FANTA (1998), demonstraram que a ingestão de algas só ocorre nos longos períodos de ausência de outros itens alimentares.

Os resultados de LINKOWSKI et al. (1983) mostram que as algas foram o componente que mais frequentemente ocorreu na dieta ($f = 80\%$), confirmando a hipótese de que a ingestão de algas não é acidental associada com o consumo de anfípodos gamarídeos, mas que a alga é comida ativamente pelo peixe (DANIELS, 1982).

Além das mudanças sazonais, a dieta pode mudar com a ontogenia. Porém, a maioria das espécies permanece com a mesma categoria de presas durante toda a sua vida. Somente algumas poucas espécies mudam sua dieta e habitat quase que completamente, como é o caso de *Notothenia rossii*, a qual na forma juvenil epipelágica alimenta-se de copépodos e krill. Quando os juvenis tornam-se demersais em águas costeiras mudam sua dieta para crustáceos bentônicos, gastrópodos e peixes demersais

(HUREAU, 1970; BURCHETT, 1983b; LINKOWSKI et al., 1983). Quando adultos, movem-se a pouca distância da costa e se alimentam de organismos planctônicos e peixes na coluna d'água (TARVERDYIEVA, 1972; LINKOWSKI e REMBISZEWSKI, 1978; TARVERDYIEVA e PINSKAYA, 1980; BURCHETT, 1983b).

RICHARDSON (1975) e TARGETT (1981) encontraram variação na dieta com relação ao tamanho do corpo de *Trematomus newnesi* das Ilhas Orkney do Sul. VACCHI e LA MESA (1995) estudando a dieta de *T. newnesi* da Baía Terra Nova, notaram uma tendência de decréscimo na diversidade dietética com o aumento do tamanho de peixe, o que está de acordo com os resultados de RICHARDSON (1975) com relação à diversidade de espécies de anfípodos na dieta de exemplares de *T. newnesi* de tamanhos diferentes. CASAUX et al. (1990) encontraram variação na composição e hábito alimentar de *Notothenia neglecta* conforme a idade e o tamanho do corpo. Anfípodos gamarídeos e gastrópodos opistobrânquios foram ingeridos por peixes de tamanhos pequeno e médio, mas foram encontrados com menor frequência na dieta de indivíduos grandes. Peixes, principalmente *Harpagifer antarcticus* e *Trematomus newnesi*, foram consumidos por *N. neglecta* intermediárias e grandes. Gastrópodos, arqueogastrópodos e cefalópodos foram somente ingeridos por peixes grandes.

RIOS (1997) e RIOS e FANTA (1998) estabeleceram a relação entre as presas ingeridas e as características da porção faríngea do arco branquial e demonstraram que *N. neglecta* tem estruturas que possibilitam a ingestão ativa de peixes, krill e anfípodos, assim como também, estruturas que possibilitam a retenção por filtração passiva de pequenos invertebrados marinhos.

A relação entre tamanho do predador e tipo de alimento ingerido por *N. neglecta*, também foi estudada por BARRERA-ORO e CASAUX (1990). Os exemplares de *N. neglecta* foram agrupados arbitrariamente dentro de três categorias por comprimento: pequeno (< 28cm); médio (28-38cm) e; grande (> 38cm). Os resultados encontrados por esses autores mostraram que o krill foi o principal item alimentar em todas as categorias. Algas constituíram o principal alimento de peixes pequenos, sendo menos consumidas com o aumento do tamanho do peixe. Anfípodos gamarídeos foram as principais presas de peixes médios e de importância secundária nos tamanhos restantes.

Em um estudo feito com *Nototheniops larseni*, BARRERA-ORO e TOMO (1987) apud CASAUX et al. (1990) observaram que o crescimento em tamanho está

correlacionado com uma diminuição no consumo de copépodos e um aumento no consumo de krill.

A importância do krill na dieta de peixes antárticos é bem conhecida (PERMITIN, 1970; TARGETT, 1981; KOCK, 1985; WILLIAMS, 1985; McKENNA, 1991; HUREAU, 1994). Embora o krill seja mais consumido por peixes pelágicos, quando abundante, este é ingerido com frequência por peixes demersais. Isso pode ser explicado de duas formas: 1) em águas de plataforma o krill desce ocasionalmente para o fundo, sendo consumido por peixes oportunistas (EVERSON, 1977; TARGETT, 1981; KOCK, 1985) e 2) peixes demersais migram para a zona de meia-água para se alimentar de formas pelágicas (EVERSON, 1977; DANIELS, 1982; DUHAMEL e HUREAU, 1985; KOCK, 1985).

Os nototeníóides utilizam variações de quatro tipos básicos de comportamento alimentar: emboscada, sucção no fundo, alimentação na coluna d'água e pastejo (DANIELS, 1982). A alimentação por emboscada provavelmente seja a estratégia mais frequentemente utilizada por peixes que se alimentam no fundo. Espécies de nototenídeos como *Notothenia coriiceps*, *Gobionotothen gibberifrons* e *Trematomus bernacchii* escondem-se entre pedras ou esperam imóveis, algumas vezes parcialmente enterrados, a aproximação da presa, capturando-a em seguida (KOCK, 1992). DANIELS (1982) e HUBOLD (1991) observaram que muitas espécies capturam somente organismos em movimento, ignorando presas facilmente visíveis, mas imóveis. Contudo, a necrofagia tem sido descrita como comum entre os nototenídeos (ARNAUD e HUREAU, 1966; ARNAUD, 1970; LINKOWSKI et al., 1983). Peixes que usam a estratégia de emboscada para capturar sua presa, tendem a ser carnívoros e predam organismos relativamente grandes e móveis (DANIELS, 1982; FANTA, 1998; FANTA e MEYER, 1998).

A estratégia de sucção tem sido observada mais frequentemente em *Gobionotothen gibberifrons*, que nada sobre o fundo lodoso, sugando e peneirando grande quantidade de lodo e consumindo os organismos encontrados (DANIELS e LIPPS, 1978). Peixes que se alimentam por sucção usualmente comem invertebrados sedentários ou que se movimentam lentamente e, raramente consomem matéria vegetal.

A alimentação na coluna d'água é característica de espécies pelágicas, como *Pleuragramma antarcticum*, *Pagothenia borchgrevinki* e *Trematomus newnesi*, mas também é observada em muitos outros nototenídeos demersais, como por exemplo *N. neglecta*, que realiza migrações verticais para aproveitar a abundância local e sazonal

de presas na coluna d'água (DANIELS, 1982; KOCK, 1992). Espécies que capturam suas presas na coluna d'água, usualmente se alimentam de invertebrados móveis, como eufausídeos, pterópodos e anfípodos, ou de outros peixes associados com comunidades pelágicas ou criopelágicas (DANIELS, 1982).

Embora nunca tenha sido observado, o pastejo parece ser uma importante estratégia alimentar para algumas espécies, como *N. neglecta*, durante a primavera e verão. ARNAUD e HUREAU (1966), DANIELS (1982), LINKOWSKI et al. (1983) e BARRERA-ORO e CASAUX (1990), analisando o conteúdo estomacal de espécies de peixes antárticos encontraram grande quantidade de macroalgas e diatomáceas.

Vários autores têm indicado que áreas com alta densidade de macroalgas mostram grande atividade de peixes (RICHARDSON, 1975; MORENO e ZAMORANO, 1980; ZUKOWSKI, 1980; DUHAMEL, 1982; BURCHETT, 1983b; CASAUX et al., 1990). Ambientes com macroalgas oferecem grande diversidade de presas e abrigo contra predadores potenciais como pinguins e alguns mamíferos marinhos (CASAUX et al., 1990).

Os peixes antárticos são predados por quase todos os níveis tróficos marinhos mais elevados (KOCK, 1992). Algumas espécies de nototenídeos, como *Dissostichus mawsoni* e *D. eleginoides*, canictídeos, como *Chaenocephalus aceratus* e algumas espécies de *Chionodraco*, são predadoras de peixes. Suas dietas podem ser compostas de 90-100% de peixes (KOCK, 1992; HUREAU, 1994).

Os peixes são as principais presas de lulas, mas não existe muita informação a respeito de sua dieta (KOCK, 1992; HUREAU, 1994). Muitas aves marinhas têm parte de sua dieta composta por peixes em vários estágios do seu desenvolvimento, como é o caso de muitos pinguins, albatrozes, petrels, esternas e skuas (CROXALL, 1984; KOCK, 1992; HUREAU, 1994). Várias espécies das famílias Nototheniidae, Chaennichthyidae e Myctophidae são predadas por aves marinhas (CROXALL, 1984) e constituem um importante componente da dieta das focas de Weddell e de Kerguelen, e do elefante marinho (LAWS, 1984; KOCK, 1992; HUREAU, 1994). As baleias também são predadoras de peixes, mas poucas espécies são piscívoras. A cachalote, a baleia assassina e os delfinídeos são bons exemplos (BROWN e LOCKYER, 1984, KOCK, 1992; HUREAU, 1994).

O consumo anual de peixes por aves e mamíferos marinhos tem sido estimado acima de 15 mil toneladas (EVERSON, 1977; LAWS, 1985).

Embora as informações sobre a composição alimentar de peixes antárticos

sejam numerosas, poucos estudos têm sido conduzidos sobre sua seleção alimentar em relação à disponibilidade do alimento na natureza (MORENO e ZAMORANO, 1980; DUARTE e MORENO, 1981; ASECIO e MORENO, 1984; KELLERMANN, 1987; BARRERA-ORO e CASAUX, 1990), e através de testes em laboratório (FANTA, 1998; FANTA e MEYER, 1998).

Segundo MORENO e ZAMORANO (1980), parece haver seleção de alguns tipos de presas por parte de *N. coriiceps neglecta*, a população estudada mostrou hábitos alimentares seletivos para alguns itens e outros são consumidos por simples abundância ou seleção negativa. Encontram-se bem representados na dieta dessa espécie organismos pouco móveis (gastrópodos) e de certa mobilidade (anfípodos). Além disso, demonstrou-se a preferência alimentar por pequenos peixes e krill, desde que estes estejam disponíveis (FANTA, 1998).

BARRERA-ORO e CASAUX (1990) encontraram pouca variação na seleção do alimento de *Notothenia neglecta* com relação ao tamanho. Os itens alimentares positivamente selecionados incluíram organismos sésseis (algas), aqueles com pouca mobilidade, espécies móveis (anfípodos) e alguns poliquetos sedentários.

É difícil determinar porque um tipo de presa em particular é selecionado. BARRERA-ORO e CASAUX (1990) sugerem que alguns dos fatores importantes são: tamanho da presa, mobilidade, tipo de fixação ao substrato, atividade, digestibilidade e camuflagem.

Pode-se notar que a maior parte dos estudos a respeito dos hábitos alimentares de peixes antárticos tem sido conduzida através da análise do conteúdo estomacal (ARNAUD e HUREAU, 1966; HUREAU, 1970; EVERSON, 1970, 1977; TARVERDYIEVA, 1972; PERMITIN e TARVERDYIEVA, 1972, 1978; RICHARDSON, 1975; MORENO e OSÓRIO, 1977; MORENO e ZAMORANO, 1980; TARVERDYIEVA e PINSKAYA, 1980; DANIELS, 1982; BURCHETT, 1983b; LINKOWSKI et al., 1983; KOCK, 1985; WILLIAMS, 1985; BARRERA-ORO e CASAUX, 1990; CASAUX et al., 1990; McKENNA, 1991; MONTGOMERY et al., 1993; VACCHI e LA MESA, 1995; LA MESA et al., 1997).

No entanto, relações entre morfologia e hábitos alimentares têm sido de grande interesse na elucidação dos importantes mecanismos adaptativos dos peixes (EASTMAN e DeVRIES, 1982; OJEDA, 1986). Muitos trabalhos já relacionaram a anatomia e morfologia de algumas estruturas com a dieta e hábitos alimentares, como morfologia do corpo (EKAU, 1991), forma e posição da boca (NORMAN, 1940 apud

DANIELS, 1982; DeWITT, 1971; CASAUX et al., 1990), estrutura do aparato de rastros branquiais (RIOS, 1997; RIOS e FANTA, 1998) e morfologia do estômago (FREIBERGER, 1996). A boca, a cavidade bucal e a região faríngea mostram uma estreita relação com a forma de alimentação e o tipo de alimento, estando associadas com as etapas de captura, apreensão e pré-digestão da presa.

A região faríngea com seu aparato de rastros branquiais, em conjunto com uma série de estruturas sensoriais, são responsáveis pelas etapas de detecção e seleção da presa. MACDONALD e MONTGOMERY (1991) fizeram uma revisão da biologia sensorial dos nototeniídeos antárticos. Através de estudos experimentais ficou demonstrado que espécies que habitam o mesmo ambiente e estão sujeitas às mesmas condições, apresentam diferentes estratégias de detecção e seleção do alimento (FANTA, 1998; FANTA e MEYER, 1998). FANTA et al. (1994a) analisaram as estruturas sensoriais de duas espécies de peixes antárticos, *Trematomus newnesi* e *Gobionotothen gibberifrons*, e demonstraram que essas diferenças nas estratégias alimentares são possíveis devido aos diferentes níveis de organização celular desses organismos, bem como, devido à quantidade e distribuição de estruturas sensoriais.

O ambiente marinho antártico é comparável ao do mar profundo, devido à sua baixa temperatura e aos baixos níveis luminosos durante o inverno. A posição e orientação dos olhos é variável entre os nototeniídeos e, parece estar correlacionada com a alimentação (PANKHURST e MONTGOMERY, 1989). GRÖTZNER (1994) relacionou as estratégias alimentares de *Trematomus newnesi* e *Gobionotothen gibberifrons* com as diferenças estruturais da retina, demonstrando que os padrões comportamentais de detecção e captura da presa são dependentes de adaptações estruturais. Todavia, os olhos de nototeniídeos não mostram nenhuma especialização estrutural extrema para a visualização em baixa intensidade luminosa, além disso, a função visual parece não ter sido substancialmente modificada em resposta às demandas específicas do ambiente antártico (MACDONALD e MONTGOMERY, 1991).

Devido aos baixos níveis sazonais de intensidade luminosa, a função visual em nototeniídeos é limitada, dessa maneira, existe uma tendência à dominância dos mecanismos mecanorreceptores (MONTGOMERY e MACDONALD, 1987; MACDONALD e MONTGOMERY, 1991; MONTGOMERY e COOMBS, 1992). A diversidade de especializações de linha lateral entre os nototeniídeos também sugere que essa estrutura sensorial seja de particular importância para esse grupo de peixes

(MACDONALD e MONTGOMERY, 1991). Por outro lado, observações comportamentais têm demonstrado claramente o uso da gustação na escolha do item alimentar (FOSTER et al., 1987; MEYER, 1996; MEYER e FANTA, 1998). Gustação e olfato são considerados modalidades da quimiorrecepção. Não existem muitos estudos funcionais de cada um desses sentidos em peixes antárticos, mas algumas informações estruturais são encontradas (MACDONALD e MONTGOMERY, 1991; MEYER, 1996; FANTA et al., 1994a; MEYER e FANTA, 1998).

No processo alimentar, as etapas de digestão do alimento e absorção dos nutrientes é função do sistema gastrintestinal. Em geral, aceita-se que a estrutura do trato gastrointestinal em uma dada espécie de peixe está relacionada com a sua dieta (OJEDA, 1986). Provavelmente, RADTKE (1824) apud MATALLANAS (1988) foi um dos primeiros a investigar a relação entre os diferentes regimes alimentares dos teleósteos e os tipos de tubos digestivos. Posteriormente vários outros trabalhos com esse enfoque foram publicados e, hoje a estrutura e ultraestrutura do trato gastrointestinal de teleósteos, assim como, a sua relação com os hábitos alimentares estão bem documentadas na literatura (AL-HUSSAINI, 1947, 1949; BERTIN, 1958; LAGLER, et al., 1962; GODINHO et al., 1970; VEGAS-VÉLEZ, 1972; NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1974, 1976, 1979; BRYAN, 1975; EASTMAN, 1975; FÄNGE e GROVE, 1979; STROBAND et al., 1979; STROBAND e VAN DER VEEN, 1981; ULIBARRIE, 1982; GEEVARGHESE, 1983; GEORGOPOULOU et al., 1985; KOROVINA, 1986; OJEDA, 1986; GEORGOPOULOU e VERNIER, 1986; KOROVINA e PRIRODINA, 1986; SARAQUESTE e CANALES, 1986; BUDDINGTON e DIAMOND, 1987; ELBAL, et al., 1988; BURKHARDT-HOLM et al., 1989; KOROVINA et al., 1991a/b; OLIVEIRA RIBEIRO, 1991; GRAU et al., 1992; KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994; TAGLIAFIERRO et al., 1995; FREIBERGER, 1996; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, 1996; EASTMAN e DeVRIES, 1997).

No entanto, a morfologia do sistema gastrintestinal de nototeniídeos tem sido pouco estudada em comparação com outros aspectos da sua biologia. Trabalhos sobre esse sistema incluem a descrição preliminar dos órgãos (LÖNNBERG, 1905 apud EASTMAN e DeVRIES, 1997); as observações histológicas do sistema digestivo de *Trematomus borchgrevinki* (EASTMAN, 1975); o estudo morfológico e morfométrico do canal alimentar de 22 espécies de peixes antárticos em relação à sua dieta (OJEDA, 1986); a caracterização anatômica e histológica do trato digestivo de representantes das famílias Bovichthyidae, Nototheniidae e Chaennichthyidae (KOROVINA, 1986;

KOROVINA e PRIRODINA, 1986; KOROVINA et al., 1991a, 1991b); o estudo morfológico e morfométrico do trato gastrointestinal de nototeniídeos do Canal de Beagle (MATALLANAS, 1988); a análise da distribuição de peptídeos regulatórios e serotonina no trato gastrointestinal de quatro espécies de nototeniídeos antárticos (TAGLIAFIERRO et al., 1995); o estudo dos processos de absorção de gordura e proteínas no intestino de *Notothenia neglecta* durante o verão austral (HERNANDEZ-BLAZQUEZ, 1996); a descrição anatômica, histológica e ultraestrutural do estômago de *N. neglecta* submetida experimentalmente a diferentes períodos de jejum (FREIBERGER, 1996) e; o estudo dos aspectos anatômicos e histológicos do sistema gastrointestinal de 25 espécies de nototeniídeos (EASTMAN e DeVRIES, 1997).

O trato gastrintestinal de peixes apresenta uma estrutura anatômica muito variada. Vários autores utilizam a classificação de BERTIN (1958), que divide o trato gastrointestinal em: 1) intestino anterior, que compreende o esôfago e o estômago; 2) intestino médio, que consiste dos cecos pilóricos, quando presentes, e do intestino propriamente dito e; 3) intestino posterior ou reto, região do intestino após a valva íleo-retal.

A estrutura histológica do trato gastrintestinal varia, mas basicamente ele é composto pelas seguintes camadas: 1) mucosa, constituída pelo epitélio mucoso, lâmina própria e muscular da mucosa 2) submucosa, tecido conjuntivo ricamente vascularizado; 3) muscular, composta por uma camada muscular circular e outra longitudinal e; 4) membrana serosa (LAGLER et al., 1977; HIBIYA, 1982). O epitélio mucoso é constituído por células colunares simples. As células epiteliais são de origem endotermal. Células caliciformes também são encontradas no epitélio. A lâmina própria é composta por tecido conjuntivo frouxo, ricamente vascularizado. A muscular da mucosa é uma delgada camada de músculo liso longitudinal, que nem sempre está presente. A submucosa é composta por tecido conjuntivo frouxo, irrigado por vasos sanguíneos e linfáticos. A camada muscular consiste de fibras musculares estriadas na porção anterior do esôfago e musculatura lisa nas outras porções. Nessa camada é possível distinguir fibras musculares circulares, mais internamente, e longitudinais, externamente. Adjacente à camada muscular existe a membrana serosa, constituída por uma camada simples de células epiteliais pavimentosas. Essa membrana é uma extensão do mesentério e recobre toda a extensão do trato gastrointestinal (HIBIYA, 1982)

A maioria dos nototeniídeos apresenta um esôfago curto (KOROVINA e

PRIODINA, 1986; MALLANAS, 1988) que, quando em repleção total forma um todo anatômico com o estômago. De acordo com a classificação de BERTIN (1958) o estômago de muitos nototeniídeos é do tipo cecal (MALLANAS, 1988; FREIBERGER, 1996) e, pode ser dividido em três regiões distintas: cárdica, fúndica e pilórica. A porção cárdica do estômago tem paredes finas, a fúndica, por sua vez, é muito desenvolvida e tem a forma de um saco. O braço pilórico é curto, com paredes espessadas e está ligado ao intestino médio, no qual abrem-se os cecos pilóricos do esfíncter pilórico (KOROVINA e PRIODINA, 1986; KOROVINA et al., 1991; FREIBERGER, 1996).

Muitos peixes possuem um variado número de divertículos de fundo cego localizados na porção proximal do intestino médio, adjacentes ao esfíncter pilórico. Esses divertículos são denominados cecos pilóricos (JOBBLING, 1995). Os cecos pilóricos são projeções digitiformes que se abrem no intestino médio e podem ser comparados a estruturas localizadas na junção íleo-cecal, entre os intestinos delgado e grosso de algumas aves e mamíferos. Esses cecos de vertebrados superiores possuem uma flora microbiana para fermentar fibras alimentares, sendo relativamente maiores em aves e mamíferos que se alimentam de uma dieta rica em fibras (herbívoros e frutívoros, como coelho, roedores e galináceos) do que em espécies com dieta pobre em fibras (carnívoros, como gatos, cães e aves de rapina) (BUDDINGTON e DIAMOND, 1987).

A relação entre o tamanho e número de cecos pilóricos e a dieta em peixes é oposta à de aves e mamíferos, pois tendem a ser melhor desenvolvidos em espécies carnívoras do que em peixes herbívoros, especialmente em carnívoros com intestino relativamente curto (BUDDINGTON e DIAMOND, 1987). Todavia, a presença ou ausência de cecos pilóricos em peixes não está claramente relacionada com a dieta ou com o comprimento do intestino.

O número de cecos pilóricos varia de 1 a mais de 1000, é espécie-específico e é frequentemente utilizado como um caráter taxonômico para a identificação de espécies de peixes (BUDDINGTON e DIAMOND, 1987; JOBBLING, 1995). Embora os cecos pilóricos, em algumas espécies de peixes, constituam uma porção significativa da área superficial do intestino, suas funções permanecem incertas. Segundo JOBBLING (1995) os cecos pilóricos têm, provavelmente, uma função digestiva e provêm um aumento na área superficial absorptiva. A importância dos cecos pilóricos como um fator de aumento da superfície intestinal absorptiva foi relatada também por BERGOT et al. (1975). O

grande número de cecos pilóricos, a existência de longas microvilosidades nos enterócitos e a presença de mucossubstâncias neutras podem estar relacionados com a função absorptiva dessa parte do intestino (GRAU et al., 1992). Mucossubstâncias ácidas também têm sido observadas no epitélio dos cecos pilóricos de algumas espécies de peixes, podendo indicar uma função secretória dessa porção do trato (ANDERSON, 1986; GRAU et al., 1992). Alguns autores propuseram como função dos cecos pilóricos, principalmente a reabsorção de gorduras (BENSON e LEE, 1975 apud OJEDA, 1986; FÄNGE e GROVE, 1979).

A quantidade de cecos pilóricos nas espécies de nototeniídeos estudadas é relativamente baixa, variando de 0 a 7, sendo constante dentro de uma mesma espécie e variando muito pouco entre as espécies (OJEDA, 1986; KOROVINA e PRIRODINA, 1986; MATALANNAS, 1988; KOROVINA et al., 1991; TAGLIAFIERRO, 1995). Os resultados de EASTMAN e DeVRIES (1997) mostram que a média do número de cecos pilóricos na maioria de nototeniídeos é de 6 a 7. De acordo com OJEDA (1986), o número de cecos pilóricos não está correlacionado com o comprimento do corpo, do estômago e do intestino. Várias tendências filéticas são evidentes com relação ao número de cecos pilóricos de nototeniídeos, cujas famílias de nível taxonômico mais alto têm menos cecos do que em níveis basais (EASTMAN e DeVRIES, 1997).

O intestino médio de muitos teleosteos inicia-se no esfíncter pilórico, no final da porção pilórica do estômago, sendo delimitado posteriormente pela valva íleo-retal, que separa o intestino médio do intestino posterior ou reto. O intestino posterior inicia-se nessa valva e termina no esfíncter anal (HIBIYA, 1982; GRAU, et al., 1992). A morfologia do intestino de peixes parece estar relacionada com o hábito alimentar, particularmente o comprimento relativo do intestino depende da natureza do alimento (ANDERSON, 1986). Assim, o intestino tende a ser curto em espécies carnívoras e longo em herbívoros (BRYAN, 1975; JOBLING, 1995). A relação entre comprimento intestinal e comprimento do corpo é usualmente menor do que um em espécies carnívoras, sendo menor ainda em piscívoros. Em onívoros essa relação fica entre 2 e 3, sendo mais alta em espécies herbívoras que consomem dietas ricas em fibras (JOBLING, 1995).

A mucosa intestinal é de grande importância nos processos digestivo, reabsortivo e metabólico em diferentes animais (KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994) e é composta pela camada epitelial e pela lâmina própria (HIBIYA, 1982; GRAU et al., 1992). O epitélio é composto por células epiteliais colunares altas, chamadas de células

absortivas ou enterócitos, entre os quais são encontradas células caliciformes (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976; HIBIYA, 1982; ULIBARRIE, 1982), as quais são morfológica e histologicamente comparáveis às encontradas nos mamíferos (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976). Além disso, tem sido demonstrada a presença de células endócrinas (READ e BURNSTOCK, 1968; ROMBOUT, 1977; NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1982; ELBAL, et al., 1988; TAGLIAFIERRO et al., 1995) e células com grânulos em bastonete (“rodlet cells”) (LEINO, 1974, 1982; MORRISON e ODENSE, 1978) no intestino de peixes teleósteos.

O enterócito é o tipo celular dominante no epitélio. O núcleo está localizado no centro ou na região basal da célula e sua estrutura é relativamente constante ao longo do comprimento do intestino (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976). Na superfície livre, voltada para o lúmen intestinal, são encontradas microvilosidades, as quais formam a chamada borda estriada dos enterócitos e, no citoplasma logo abaixo da borda estriada, pode ser observada a trama terminal (HIBIYA, 1982). Sabe-se que as microvilosidades aumentam a superfície digestiva e de transporte dos enterócitos e são a base estrutural dos processos da digestão de membrana (UGOLEV, 1972, 1985 apud KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994). Em alguns trabalhos foi demonstrado que a condição da borda em escova, em particular, o tamanho das microvilosidades do enterócito varia significativamente em peixes de diferentes espécies (KUZ'MINA, 1978 apud KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994; FERRARIS e AHEARN, 1984; KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994). Pode variar também em tamanho dependendo da região do intestino (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976; GRAU et al., 1992).

A ocorrência de células caliciformes é uma característica comum do trato digestivo de teleósteos (KAPOOR et al., 1975). Essas células, bem como seus produtos de secreção podem variar dependendo das influências ambientais (BURKHARDT-HOLM et al., 1989). Segundo SINHA (1975), as espécies exclusivamente herbívoras possuem mais células caliciformes que as espécies carnívoras. Além disso, é possível que não somente a quantidade, mas também a composição química do muco, possa refletir a natureza do alimento ingerido (BURKHARDT-HOLM et al., 1989).

O muco tem importantes funções no que se refere à digestão, sendo algumas delas: lubrificar as paredes do tubo digestivo facilitando a passagem do bolo alimentar e da matéria fecal, assim como, emulsionar o alimento, transformando-o em quimo (BUCKE, 1971). No intestino, ajuda na liberação de energia (ATP), essencial para uma efetiva absorção dos nutrientes e para a ação das enzimas. As mucossubstâncias ácidas,

particularmente as sulfatadas, são inibidoras das proteases pépticas no estômago e no intestino, previnem as infecções bacterianas e protegem as mucosas de ações mecânicas que possam sofrer (ULIBARRIE, 1982).

A presença de células endócrinas no trato gastrointestinal de peixes teleósteos tem sido histoquimicamente demonstrada (READ e BURNSTOCK, 1968, ROMBOUT, 1977; ELBAL et al., 1988), e as células têm sido classificadas de acordo com as características ultraestruturais de seus grânulos secretores (ROMBOUT, 1977; NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1982; ROMBOUT e TAVERNE-THIELE, 1982; ELBAL et al., 1988). O conteúdo hormonal dos seus grânulos secretores não é claramente estabelecido.

Células com grânulos em bastonete estão presentes no epitélio de numerosos órgãos, inclusive do intestino, de teleósteos marinhos e de água doce (LEINO, 1974, 1982; MORRISON e ODENSE, 1978). Esse tipo celular em teleósteos foi primeiro descrito por THÉLOHAN (1892) apud SMITH et al. (1995) como um parasita, e então chamado *Rhabdospora thélohani* por LAGUESSE (1895) apud SMITH et al. (1995). No presente, a natureza dessas células permanece controversa, porém, análises da sua ultraestrutura têm demonstrado que as células com grânulos em bastonete são secretoras (LEINO, 1974, 1982; BAKHTIN e FILUSHINA, 1974; DESSER e LESTER, 1975; MORRISON e ODENSE, 1978; ZAPATA et al., 1978; MATTEY et al., 1979; SMITH et al., 1995) antes de serem parasitas ou células com outras características (BARBER et al., 1979; MAYBERRY et al., 1979).

Embora a microscopia eletrônica tenha mostrado que as células com grânulos em bastonete têm a morfologia de células secretoras, pouco se sabe a respeito de sua função ou da composição de seus grânulos secretores.

Em algumas espécies de teleósteos é possível observar a presença de linfócitos entre as células epiteliais e na lâmina própria (GRAU et al., 1992).

Separado do intestino médio pela valva íleo-retal, o intestino posterior ou reto é a última porção do trato gastrointestinal. A mucosa do reto é profundamente pregueada e seu epitélio é composto pelos enterócitos e células caliciformes. Linfócitos também são encontrados entre os enterócitos (HIBIYA, 1982; GRAU et al., 1992). O epitélio colunar simples do reto é substituído no esfíncter anal por um epitélio estratificado que é contínuo com a epiderme da pele (HIBIYA, 1982; GRAU et al., 1992).

Os nototeniídeos do Canal de Beagle estudados por MATALLANAS (1988) se caracterizaram por terem um intestino relativamente curto, que varia de 53 a 67% de

seu comprimento padrão, o que corresponde aos dados obtidos por diversos autores para peixes carnívoros (AL-HUSSAINI, 1947; VEGAS-VÉLEZ, 1971 apud MALLANAS, 1988; KAPOOR et al., 1975). Esses valores também aos encontrados por OJEDA (1986) e KOROVIINA e PRIRODINA (1986) para nototeníóides antárticos. Todos os peixes antárticos examinados por OJEDA (1986) têm intestino relativamente curto, que varia entre 31 e 90,9% do comprimento padrão. Esses valores são similares àqueles encontrados por MATTHES (1963), que reportou valores de 70-85% para peixes que se alimentam de zooplâncton, estando também dentro ou abaixo dos valores descritos para outros peixes carnívoros (usualmente entre 60-150% do comprimento padrão).

Os valores médios relativos do comprimento do intestino das espécies de nototeníóides estudadas por OJEDA (1986) e MALLANAS (1988) são também muito similares. A única exceção observada por OJEDA (1986) foi *Notothenia gibberifrons*, que tem o intestino significativamente maior que o das outras espécies. Um intestino relativamente longo tem sido considerado uma adaptação para a digestão de tecidos vegetais ou para o processamento de quantidades de material indigerível (BRYAN, 1975). *N. gibberifrons* é considerado um peixe bentônico. Sua dieta consiste predominantemente de uma grande variedade de poliquetos sedentários, anfípodos e moluscos, sendo assim, uma alta proporção de material não digerível (lama e areia) ingerido junto com os itens alimentares (MORENO e OSORIO, 1977; TARVERDIYEVA e PINSKAYA, 1980; TARGETT, 1981; DANIELS, 1982). Portanto, um intestino relativamente longo pode ter sido selecionado para *N. gibberifrons* devido ao seu hábito alimentar particular. Similarmente, o longo intestino de *N. gibberifrons* pode também representar uma adaptação a um hábito alimentar mais ou menos algívoro (algas) observado em espécimens capturados em águas escuras. JACOBESHAGEN (1913) apud OJEDA (1986) encontrou que peixes que se alimentam de lodo têm intestino mais longo que aqueles com hábitos estritamente carnívoros.

EASTMAN e DeVRIES (1997) estudaram a morfologia do trato gastrointestinal de 25 espécies de nototeníóides e observaram que essas espécies têm o intestino relativamente curto, formado por duas alças simples, sendo que a alça proximal está à direita do esôfago. Dessa forma, segundo MOK (1980), nototeníóides possuem o intestino do tipo B. A valva íleo-retal marca a transição entre o intestino médio e o reto em nototeníóides.

Apenas dois nototeníóides estudados por EASTMAN e DeVRIES (1997) têm o padrão intestinal levemente diferente do padrão B: *Eleginops maclovinus*, que possui

uma alça extra e *Gobionotothen gibberifrons*, o qual tem uma porção de uma alça adicional. Ambas as espécies têm comprimento relativo do intestino longo. *E. maclovinus* é onívoro, com uma grande quantidade de algas bentônicas na sua dieta. *G. gibberifrons* é bentônico, consumindo consideráveis quantias de material não digerível junto com as presas (TARGETT, 1981). Dessa forma, EASTMAN e DeVRIES (1997) sugerem um aumento no comprimento do intestino em resposta à natureza da dieta.

Alguns trabalhos chamam a atenção para a similaridade entre a estrutura do intestino de peixes com a de outros vertebrados, até mesmo, com a estrutura do intestino de alguns mamíferos (GODINHO et al., 1970; NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976; GEORGOPOULOU et al., 1985; KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994; TAGLIAFIERRO et al., 1995). Comparações são feitas entre a função do intestino de algumas espécies de peixes em absorver proteínas íntegras com o de mamíferos recém-nascidos, onde as células proximais permitem a transferência de imunoglobulinas do colostro do leite para a circulação (WATANABE, 1981; GEORGOPOULOU et al., 1985).

O intestino de teleósteos apresenta várias funções, que incluem a digestão do alimento, o transporte absorptivo de nutrientes essenciais para o metabolismo e crescimento, o transporte ativo de sais e água, como parte da homeostase hidromineral (JOBBLING, 1995; LORETZ, 1995) e a imunidade, sendo que a função de barreira da parede intestinal é exercida pelas células linfóides, células secretoras de muco e células endócrinas (PABST, 1987).

Em peixes marinhos, a absorção de sais pelo intestino segue a ingestão de água do mar e conduz à absorção de água para repor a que foi perdida para o meio externo hiperosmótico. O excesso de sal é ativamente secretado através das brânquias e de outras superfícies epiteliais. Como a absorção de nutrientes do lúmen intestinal está acoplada ao transporte de Na^+ , pode-se dizer que esta absorção é dependente do transporte ativo de sais e água (LORETZ, 1995).

A função de absorção de nutrientes é diferente ao longo do intestino. Sendo assim, histofisiologicamente, o intestino médio de peixes pode ser dividido em três segmentos: o proximal, responsável pela absorção de gorduras; o médio, que absorve proteínas íntegras e; o distal, que transporta íons e água (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976, 1979, 1983; STROBAND e DEBETS, 1979; STROBAND et al., 1979; EZEASOR e STOKOE, 1981; SIRE e VERNIER, 1981; STROBAND e KROON, 1981; STROBAND e VAN DER VEEN, 1981; WATANABE, 1981; GEORGOPOULOU et

al., 1985; ANDERSON, 1986; GEORGOPOULOU e VERNIER, 1986; HERNANDEZ-BLAZQUEZ e NACHI, 1989).

Alguns autores consideram que lipídios, carboidratos e proteínas em larvas de teleósteos e em teleósteos adultos sem estômago são digeridos no lúmen intestinal e absorvidos no intestino médio e, até mesmo, no intestino posterior. Foi demonstrado por vários autores que o segundo segmento do intestino médio, assim como, o intestino posterior, de algumas espécies de teleósteos sem estômago pode absorver macromoléculas (GAUTHIER e LANDIS, 1972; NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1973, 1976; ROMBOUT, 1977; STROBAND e VAN DER VEEN, 1981). Essa capacidade pode ser estendida para teleósteos adultos com um estômago diferenciado (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1979, 1983; STROBAND e KROON, 1981; GEORGOPOULOU et al., 1985).

HERNANDEZ-BLAZQUEZ (1996) observou que no peixe antártico *Notothenia neglecta* a proporção do comprimento total do intestino que possui a capacidade de absorver lipídios é maior do que a verificada em teleósteos de clima temperado. Provavelmente, segundo esse mesmo autor, essa grande capacidade de absorver gordura observada em *N. neglecta*, seja decorrente de um processo de adaptação ao frio. Por outro lado, a proporção do comprimento total do intestino com capacidade de absorver proteínas inteiras é menor quando comparada com teleósteos de clima temperado, assim como, o processo de captação e transporte de proteínas macromoleculares no enterócito é mais lento e menos intenso.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Estudo morfológico comparativo do intestino dos peixes antárticos *Notothenia neglecta* e *Trematomus newnesi* e sua relação com os hábitos alimentares apresentados por essas espécies.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Descrever comparativamente a morfologia do intestino de *Notothenia neglecta* e *Trematomus newnesi*, identificando os tecidos e os tipos celulares que compõem esse órgão.
2. Verificar, através de estudos histológicos, histoquímicos e ultraestruturais, se ocorre diferenças na estrutura ao longo do intestino de uma mesma espécie e entre as duas espécies de peixes antárticos estudadas.
3. Examinar por meio de técnicas histoquímicas a natureza dos produtos de secreção produzidos pelas células caliciformes ao longo do intestino.
4. Analisar ultraestruturalmente os tipos celulares que compõem a mucosa intestinal e relacioná-los com as funções de digestão e absorção exercidas por esse órgão.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. ÁREA DE ESTUDO: Baía do Almirantado - Ilha Rei George

A costa da Península Antártica é flanqueada por numerosas ilhas (Fig. 1B), entre estas, existe um conjunto de 62 ilhas e 52 rochedos que constituem o Arquipélago das Ilhas Shetland do Sul (Fig. 1B). A Ilha Rei George, situada a oeste da Península Antártica entre 57° 35' - 59° 15' W e 62° S (Fig. 1B e 2A), é a maior ilha desse arquipélago, possuindo um território de 1.300km², sendo que 90% de sua superfície está revestida por gelo. A porcentagem de terra livre de gelo é pequena e está situada nas praias.

A Baía do Almirantado (Fig. 2B) é a maior da Ilha Rei George (RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1980). Tem a natureza de um fiorde, cuja área superficial é de 122,08km², volume de 24km³ de água e profundidade máxima de 530m. Suas águas estão em contato com o Estreito de Bransfield e com as águas vindas de oeste, derivadas do Mar de Bellingshausen (MADEJSKI e RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1990 apud RAKUSA-SUSZCZEWSKI, 1993). A temperatura da água varia de -1,7 a 2,0°C na superfície e -1,10 a 0,28°C a 400m de profundidade; a média anual da temperatura na coluna d'água é -0,4°C (KULESZ, 1994).

A linha costeira da Baía do Almirantado possui mais de 84km de comprimento. Nessa extensão existem 39km de glaciares, 26km de costões rochosos e 19km de praias. ZIELINSKI (1990) afirma que a dinâmica de mudanças das barreiras glaciares tem efeito nas condições hidrológicas e atmosféricas na zona costeira da baía e, dessa maneira, na sua flora e fauna, tanto de ambientes marinhos como terrestres.

Na porção sul, a Baía do Almirantado se abre no Estreito de Bransfield e na porção norte são observadas três enseadas: as Enseadas Ezcurra, Mackellar e Martel (Fig. 2B). Em corte transversal, a parte central da baía, tem forma de U (PRUSZAK, 1980) e nessa região encontra-se a profundidade máxima de 530m. O fundo é lodoso e inclinado, e é caracterizado pela presença de muitas morainas e cumes, que correspondem a períodos de máxima glaciação (RAKUSA-SUSZCZEWSKI et al., 1993). A bacia da Enseada Ezcurra é diferenciada em relação a sua geomorfologia e batimetria (MARSZ, 1983), sendo dividida por uma distinta projeção subaquática de 100-130m de altura. A leste dessa projeção, essa bacia é tipicamente o sulco irregular de um vale, com profundidade entre 150 e 270m. A oeste, parece que a profundidade

varia de 50 a mais de 100m. Já o fundo das Enseadas Mackellar e Martel é fortemente afetado pela erosão glacial e sua batimetria é muito diversificada. Na parte central da Enseada Mackellar a profundidade é pequena, variando entre 2 e 40m e o fundo da enseada é principalmente rochoso e pedregoso. A Enseada Martel é profunda e sua parte central tem de 70 a 270m de profundidade. Apresenta fundo principalmente lodoso, mas partes pedregosas e rochosas estão espalhadas ao longo das costas rochosas (ZIELINSKI, 1990).

Segundo LINKOWSKI et al. (1983), foi relatada a ocorrência de mais de 40 espécies de peixes na Baía do Almirantado. As famílias Nototheniidae e Channichthyidae foram representadas pela maior variedade de espécies. Além disso, os representantes da família Nototheniidae predominam também em relação ao número.

O Brasil possui instalações na Península Keller, Baía do Almirantado, onde se encontra a Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) localizada a 62°05'S e 58°23',5W, às margens da Enseada Martel, local de coleta dos exemplares utilizados nesse trabalho (Figs. 2B e 3A).

A EACF está equipada com um módulo com tanques para triagem e estocagem dos animais logo após a captura; dois módulos com temperatura controlada em torno de 0°C (Fig. 3B), onde existem tanques e locais para montagem de aquários para a realização dos bioensaios; e dois módulos de Biologia. As instalações desses dois módulos são utilizadas para o desenvolvimento de parte das técnicas histológicas e ultraestruturais. Além dessas instalações, a estação possui botes infláveis Zodiac (Fig. 4A) e a lancha oceanográfica Skua (Fig. 4C) para executar os trabalhos de campo.

A estação brasileira na Antártica, assim como os projetos desenvolvidos nessa região, recebem apoio logístico da SECIRM (Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar) e suporte financeiro do CNPq/PROANTAR.

4.2. MATERIAL BIOLÓGICO

A identificação dos exemplares de *N. neglecta* e *T. newnesi* usados nesse trabalho foi feita de acordo com FISHER e HUREAU (1985).

As duas espécies de peixes teleósteos estudadas pertencem à Ordem Perciforme, Sub-ordem Notothenioidei e Família Nototheniidae, que predomina nessa região.

Notothenia neglecta Nybelin, 1951, apresenta o corpo comprimido dorso-ventralmente na região anterior e lateralmente na região mediano-posterior. Possui

cabeça grande e ligeiramente comprimida. A boca é grande, com a maxila estendendo-se posteriormente até a metade posterior do olho e apresenta-se em posição terminal. O corpo apresenta-se revestido por escamas e possui duas linhas laterais. A coloração de espécimes adultos é em tons de marrom escuro com numerosas manchas esverdeadas, o abdômen apresenta-se amarelado e, na região das nadadeiras dorsal e anal existem faixas escuras (Fig. 5A e 5C). É uma espécie de peixe que alcança grandes dimensões, podendo medir até 60cm (FISHER e HUREAU, 1985).

Devido à considerável variação das características merísticas e morfométricas, Nybelin (1951) descreveu *N. neglecta* como uma nova espécie. Porém, segundo GON e HEEMSTRA (1990), Nybelin teria utilizado exemplares juvenis de *N. coriiceps* Richardson, 1844. Assim, GON e HEEMSTRA (1990) e KOCK (1992) consideram *N. neglecta* Nybelin, 1951 como um sinônimo de *N. coriiceps* Richardson, 1844. Como nesse trabalho a identificação dos espécimes foi feita segundo FISHER e HUREAU (1985), que adotam a classificação de Nybelin, a nomenclatura adota será *N. neglecta*.

A composição do alimento indica que essa espécie é bentófaga (LINKOWSKI et al., 1983). Pela grande variedade de itens alimentares, CASAUX et al. (1990) sugerem um comportamento eurífago para *N. neglecta*.

É uma espécie com distribuição circum polar (NORMAN, 1940 apud DANIELS, 1982; DeWITT, 1971; FISHER e HUREAU, 1985), sendo encontrada nas costas do Continente Antártico, da Península Antártica e das Ilhas Georgia do Sul, Sandwich do Sul, Shetland do Sul, Orkney do Sul, Bouvet e Peter (Fig. 5E). Sua presença é questionável nas costas do Continente Antártico voltadas para os oceanos Pacífico e Índico. É um peixe demersal e vive em águas rasas com 35m de profundidade em média, excepcionalmente pode ser encontrado a mais de 100m. Sabe-se que as formas juvenis dessa espécie são pelágicas durante alguns meses e podem ser encontradas a mais de 250m de profundidade (FISHER e HUREAU, 1985).

Observações *in loco* demonstraram que *N. neglecta* frequentemente é encontrada entre as algas ou em abrigos (MORENO e ZAMORANO, 1980; DANIELS, 1982; DANIELS e LIPPS, 1982; BURCHETT et al., 1983; BARRERA-ORO e CASAUX, 1990). Esse comportamento corresponde com sua constituição de massa muscular, característica de peixes sedentários (JOHNSTON, 1989).

Embora não seja explorada comercialmente, *N. neglecta* é considerada potencialmente importante para a pesca costeira (EVERSON, 1977; FISHER e HUREAU, 1985; BARRERA-ORO e CASAUX, 1990).

Trematomus newnesi Boulenger, 1902, tem o corpo moderadamente comprimido, sua altura é de 17 a 25% o comprimento standard. A cabeça é levemente comprimida dorso-ventralmente. A boca é oblíqua e em posição supraterrinal, a maxila estende-se posteriormente até a metade posterior do olho e a mandíbula é levemente projetada para frente. Apresenta o corpo recoberto por escamas e possui duas linhas laterais. Os indivíduos adultos têm coloração marrom clara, sendo mais escura no dorso, no qual existem manchas pretas, mais ou menos distintas. Seu tamanho máximo é de 20cm (Fig. 5B e 5D) (FISHER e HUREAU, 1985).

É uma espécie que realiza migrações verticais e alimenta-se de organismos pelágicos (LINKOWSKI et al., 1983; CASAUX et al., 1990). Não exibe grande diversidade dietética e sua principal presa são anfípodos gamarídeos. Planctívoria é também indicada para *T. newnesi* pela posição supraterrinal de sua boca (CASAUX et al., 1990).

Provavelmente, *T. newnesi* seja uma espécie circum-polar (NORMAN, 1940 apud DANIELS, 1982; DeWITT, 1971; FISHER e HUREAU, 1985). É encontrada a oeste da costa da Península Antártica e costa do Continente Antártico, assim como nas Ilhas Shetland do Sul e Orkney do Sul (Fig. 5F). Habita águas da costa até 160m de profundidade, porém é mais abundante na zona entre marés (FISHER e HUREAU, 1985).

Peixes dessa espécie não são explorados comercialmente, no entanto, *T. newnesi* desempenha importante papel na cadeia alimentar da região, pois faz parte da dieta de muitas aves marinhas e das focas de Weddell (FISHER e HUREAU, 1985; KOCK, 1992).

4.3. MÉTODO DE COLETA DOS ESPÉCIMES

Exemplares de *N. neglecta* e de *T. newnesi* foram coletados na Enseada Martel durante os verões austrais de 1994, 1995, 1996, 1997 e 1998. Alguns dos exemplares de *N. neglecta* foram coletados no outono e primavera austrais de 1997.

Foram utilizados nesse trabalho 19 exemplares de *N. neglecta* com comprimento padrão que variou de 14,5 a 37,9cm, e 18 *T. newnesi* com comprimento padrão entre 7,8 e 15,8cm.

Para a obtenção dos peixes fez-se uso de rede de espera trimalha, tipo feiticeira, lançada a profundidades de 40 a 100m, a partir do bote inflável Zodiac ou da lancha

oceanográfica Skua (Fig. 4B). O lançamento foi executado no sentido mar-terra, e a rede foi fixada em grandes pedras na praia, através de um cabo. O tempo de permanência da rede no mar foi de 12 a 24 horas na maioria dos lançamentos.

O recolhimento da rede foi feito no sentido oposto ao do lançamento, da praia para o mar. Após o cabo que fixava a rede à praia ser solto, a rede foi puxada na mão ou com auxílio do guincho da lancha oceanográfica. Os peixes capturados na rede foram cuidadosamente retirados e colocados nos tanques da lancha oceanográfica contendo água do mar ou, quando fazia-se o recolhimento com o Zodiac, em tambores plásticos de 50L, com a água sendo constantemente aerada em ambos os casos, sendo dessa forma transportados para os laboratórios da estação.

Outra técnica utilizada para a captura de exemplares de *N. neglecta* foi o uso de linha e anzol, lançados a partir da lancha oceanográfica Skua, a profundidades entre 20 e 50m, usando como iscas pedaços de carne vermelha (Fig. 4D). Os indivíduos coletados através dessa técnica ficavam mais machucados e estressados do que os capturados por meio de rede de espera.

Todos os indivíduos coletados passaram por um período de aclimação antes de serem sacrificados.

4.4. ACLIMATAÇÃO E MANUTENÇÃO DOS ESPÉCIMES

Após serem capturados, os exemplares de *N. neglecta* foram transferidos para tanques de 500L, e os exemplares de *T. newnesi* para aquários de 100L, sendo mantidos à temperatura controlada em torno de 0°C (Fig. 3B)

Para recuperação do estresse causado pela pesca e aclimação às condições de laboratório, os indivíduos de ambas as espécies passaram por um período de aclimação, que variou de 4 a 7 dias, aproximadamente. Durante esse período, os peixes foram mantidos à 0°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$), salinidade de 35‰, pH em torno de 7,5, fotoperíodo de 20 horas luz / 4 horas escuro, com aeração constante e alimentação diária com filé de peixe e anfípodos, no Módulo Aquário da EACF. Os aquários tiveram os seus fundos recobertos por pedras pequenas coletadas na região e as suas faces laterais e posterior revestidas com papel contact verde (FANTA, 1995). No fundo dos tanques também foram colocadas algumas pedras grandes.

Para manter a temperatura da água a 0°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$), o Módulo Aquário possui um sistema de refrigeração do ar. O suprimento de água do mar para os tanques e

aquários é feito através de uma bomba de sucção, com mangueira coletora do tipo “pescador” colocada a aproximadamente 10m da linha de maré, o que permitiu que a água dos tanques e aquários fosse renovada diariamente.

4.5. OBTENÇÃO DO MATERIAL PARA ANÁLISES MORFOLÓGICAS E ULTRAESTRUTURAIS

O roteiro de preparo das soluções e técnicas utilizadas estão descritos no Anexo.

4.5.1. Dissecção

Passadas 48 horas da última alimentação os exemplares de *N. neglecta* e *T. newnesi* foram sacrificados. Após secção medular, fez-se uma incisão, no sentido ântero-posterior, na região mediano-ventral para abertura da cavidade abdominal, expondo dessa forma o trato digestivo (Fig. 6A e 6B).

Após remover o trato digestivo da cavidade abdominal, o intestino foi separado do estômago e dividido em cecos pilóricos + intestino médio e intestino posterior (Fig. 6C e 6D). As extremidades dos cecos pilóricos foram cortadas e, com o auxílio de uma seringa essas duas peças (cecos pilóricos + intestino médio e intestino posterior) foram lavadas internamente com solução fisiológica de Cortland (WOELF, 1963 de acordo com G. M. HUGHES, comunicação pessoal), com o objetivo de retirar o excesso de muco secretado pelas células caliciformes intestinais e os restos alimentares presentes no tubo.

Os intestinos coletados para os estudos de microscopia eletrônica de varredura, estes foram lavados com solução fisiológica de Cortland + 0,1% do detergente Triton, para permitir uma melhor visualização da superfície das células intestinais, já que o muco foi lavado pelo detergente.

4.5.2. Fixação e Processamento Histológico para Microscopia de Luz

Imediatamente após a lavagem, as amostras de intestino foram fixadas por um período de 8 a 12 horas, dependendo do tamanho da amostra, em Líquido de Bouin (CULLING et al., 1985) ou durante 12 a 24 horas, conforme o tamanho, em Formalina Tamponada (CULLING et al., 1985). Passado o período de fixação, as amostras foram

transferidas para álcool 70%, sendo dessa forma transportadas para o Brasil e assim conservadas até o momento do processamento de inclusão.

No Laboratório de Estudos de Impacto Ambiental, Departamento de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná deu-se continuidade ao processamento.

As peças conservadas em álcool 70% foram separadas em cecos pilóricos, intestino médio proximal, intestino médio mediano, intestino médio distal, valva íleo-retal, intestino posterior proximal, intestino posterior distal e esfíncter anal (Fig. 6C e 6D); e lavadas mais algumas vezes, ainda com álcool 70%, para a retirada do excesso de fixador. Em seguida foram submetidas a uma gradual desidratação em série alcoólica, diafanizadas em xileno e incluídas em Paraplast Plus®.

Os blocos obtidos foram trimados e cortados em micrótomos para parafina das marcas Wetzlar e Leica. Os cortes seriados, transversais e longitudinais do intestino, variando entre 2 e 5µm de espessura, foram dispostos em lâminas histológicas contendo albumina de Mayer (CULLING et al., 1985) e água, distendidos em placa aquecedora, onde permaneceram até estarem bem secos.

Várias técnicas de coloração foram utilizadas para descrever e analisar as características dos tecidos e células que compõem o intestino.

Para descrever a morfologia geral do órgão, foi utilizada a coloração de rotina Hematoxilina-Eosina (HE) (BÜCHERL, 1962). Essa técnica permitiu reconhecer e definir as diferentes camadas de tecido que compõem o intestino.

A técnica do Picro-Sirus, utilizando o corante Sirius Red (JUNQUEIRA e JUNQUEIRA, 1983), foi empregada para a detecção da quantidade e distribuição de fibras colágenas nos tecidos do intestino. A observação do material e o registro fotográfico foi feita através de microscopia de luz polarizada.

Com a finalidade de identificar a natureza química dos compostos mucopolissacarídeos secretados pelas células caliciformes do intestino, fez-se uso das seguintes técnicas: Ácido Periódico-Reativo de Schiff (PAS) (CLARK, 1981), para a detecção de mucossubstâncias neutras; Alcian Blue pHs 2,5 e 0,5 (CULLING et al., 1985), com o objetivo de detectar as mucossubstâncias ácidas e ácidas ricas em grupamentos sulfatados, respectivamente. Num primeiro momento, essas técnicas foram empregadas isoladamente, depois utilizou-se a conjugação de PAS com Alcian Blue pH 2,5 (CULLING et al., 1985), para a detecção simultânea de secreções neutras e ácidas. Os cortes corados por essas técnicas foram contrastados com Verde-luz ou Orange G (BEÇAK e VANRELL, 1970; CLARK, 1981).

As lâminas histológicas confeccionadas foram analisadas e documentadas em Fotomicroscópio Olympus PM 10AD do Laboratório de Estudos de Impacto Ambiental da UFPR. O registro fotográfico foi feito em filmes Kodak color®, 35mm, asa 100.

4.5.3. Fixação e Processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras coletadas para as análises da ultraestrutura superficial da mucosa intestinal, foram fixadas a 4°C em Karnovsky modificado, logo após terem sido coletadas como descrito no item 4.5.1. As peças permaneceram, sob refrigeração, na solução fixadora, por aproximadamente 2 meses, até o momento do processamento. Antes de dar continuidade ao processamento de microscopia eletrônica de varredura, as peças foram separadas como descrito para o processamento histológico, item 4.5.2.

No Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de São Paulo (CEME - UNIFESP), as peças foram pós-fixadas de acordo com o método GOTO (MURPHY, 1984; INOUÉ, 1985), e então desidratadas em série alcoólica. A secagem foi alcançada com gás carbônico no aparelho de ponto crítico Balzers CDP 030®. As amostras foram metalizadas no aparelho Balzers SCD 050®, com uma camada de 25nm de ouro.

As análises e documentação do material foram feitas no microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM-5300® do CEME - UNIFESP.

4.5.4. Fixação e Processamento para Microscopia Eletrônica de Transmissão

Logo após a coleta e lavagem, as amostras destinadas para o estudo ultraestrutural através de técnicas de microscopia eletrônica de transmissão, foram fixadas a 4°C em Karnovsky modificado, onde permaneceram por aproximadamente 2 meses, até o momento do processamento.

A continuidade do processamento foi realizada no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de São Paulo (CEME - UNIFESP), onde o material, após ter sido separado como descrito no item 4.5.2, foi pós-fixado em tetróxido de ósmio 2% em tampão cacodilato 0,2M pH 7,2, contrastado em uma solução aquosa de uranila 0,5% + sacarose e desidratado em série alcoólica. As peças foram completamente desidratadas em óxido de propileno e incluídas em resina Araldite, na

estufa a 58°C, por 72 horas para a polimerização da resina.

Os blocos confeccionados foram trimados sob microscópio estereoscópico e, primeiramente, foram obtidos cortes semifinos ($\pm 0,40\mu\text{m}$) em ultramicrótomo da marca. Leica. Esses cortes foram corados com Azul de Toluidina e usados tanto para delimitar a área que foi trimada para os cortes ultrafinos, como também, para estudo e análise do material, fornecendo informações bastante valiosas.

Os cortes ultrafinos (65-90nm), obtidos utilizando-se o mesmo ultramicrótomo, foram dispostos em telas de níquel e contrastados com citrato de chumbo (REYNOLDS, 1963) e acetato de uranila 2% (GLAUERT, 1986). A observação e análises, bem como a documentação fotográfica, desses cortes foram realizadas em microscópio eletrônico de transmissão Jeol JEM 1200 EXII® do CEME - UNIFESP.

5. RESULTADOS

Notothenia neglecta e *Trematomus newnesi* possuem estômago bem desenvolvido (Fig. 6C e 6D), terminando no esfíncter pilórico, a partir do qual se abrem de 5 a 7 cecos pilóricos. Após os cecos pilóricos estende-se o intestino médio, constituído por 3 alças intestinais. Este termina na valva íleo-retal, que separa o intestino médio do posterior, que se estende até o ânus (Fig. 6C e 6D).

Ao longo de toda a extensão do intestino de ambas as espécies foram observadas quatro camadas distintas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (Fig. 7A). As camadas submucosa e muscular apresentaram diferenças na sua espessura ao longo do intestino.

A mucosa intestinal de *N. neglecta* e *T. newnesi* é constituída pelo epitélio e pela lâmina própria. Esta última é uma delgada camada de tecido conjuntivo frouxo, constituído por células e poucas fibras colágenas, que se projeta junto com o epitélio e com a submucosa para formar as vilosidades intestinais (Fig. 7A e 7B).

No epitélio intestinal das duas espécies de nototenídeos foram identificados, histológica e histoquimicamente, quatro tipos celulares: enterócitos, células caliciformes, células com grânulos em bastonete (“rodlet cells”) e linfócitos (Fig. 7B, 8C, 8D, 8E e 9). Através da microscopia eletrônica de transmissão (M.E.T.) foi possível identificar um quinto tipo celular no epitélio intestinal de *N. neglecta* e *T. newnesi*, as células endócrinas (Fig. 8A e 8B). Essas células encontram-se entre as células epiteliais e são caracterizadas pela presença de grânulos secretores redondos, alguns possuindo um centro denso e outros contendo um material granular fracamente eletrodense (Fig. 8A e 8B).

As células com grânulos em bastonete são caracterizadas por possuírem envoltório celular aparentemente espessado, presença de grânulos no citoplasma e núcleo basal (Fig. 8C e 8E). Esses grânulos, quando corados pela técnica do Ácido Periódico - Reativo de Schiff (PAS) apresentam reação positiva (Fig. 8D). Ultraestruturalmente, as células com grânulos em bastonete consistem de uma “cápsula”, formada pelo citoplasma periférico onde não foi observada a presença de organelas. Essa “cápsula” envolve grânulos que têm a forma ovalada com uma região externa amorfa e uma região interna densa e fusiforme. Entre os grânulos pode-se observar a presença de retículo endoplasmático bem desenvolvido (Fig. 8E). Esse tipo celular foi observado tanto na porção luminal do epitélio (Fig. 8C, 8D e 8E), como na

porção mais basal. A frequência dessas células no epitélio intestinal de ambas as espécies não foi constante e variou significativamente nos diferentes exemplares estudados.

Os enterócitos são células poliédricas (Fig. 9A) que em corte longitudinal se caracterizam por serem cilíndricas altas, com o núcleo eucromático em posição basal. Contêm numerosas microvilosidades na superfície apical, formando a borda em escova da microscopia de luz (Fig. 9B). Na região apical dessas células é possível observar a trama terminal, constituída pelos filamentos de actina que formam as microvilosidades (Fig. 22A, 22C, 22E, 31B, 33A e 33B) e complexos juncionais os quais são responsáveis pela coesão entre células vizinhas (Fig. 9C, 9D, 15A, 22A, 22C e 22E). Além disso, no citoplasma são encontradas numerosas mitocôndrias, aparelho de Golgi e retículo endoplasmático granular bem desenvolvidos (Fig. 9C, 9D, 15C, 32A, 32B e 33A).

Entre os enterócitos foram encontradas células secretoras de muco (Fig. 10). As células caliciformes secretam mucossubstâncias ácidas e neutras, detectadas pela reação positiva ao Alcian blue pH 2,5 e ao PAS, respectivamente (Fig. 10C e 10D). Em M.E.T., a célula caliciforme é caracterizada pela grande quantidade de grânulos secretores de muco na superfície apical, em contato com a luz do tubo, e por uma pequena região basal de citoplasma onde se encontra o núcleo, mitocôndrias, retículo endoplasmático granular e aparelho de Golgi bem desenvolvidos (Fig. 10E).

A membrana basal, sobre a qual as células epiteliais estão assentadas ao longo do intestino, apresentou reação positiva ao PAS (Fig. 11A), sendo visualizada em microscopia eletrônica de transmissão (M.E.T.) como uma banda eletrodensa, que corresponde à lâmina basal, abaixo da qual é possível visualizar delgadas fibras colágenas reticulares, a lâmina reticular (Fig. 11B). Essas duas lâminas, basal e reticular, visualizadas na M.E.T. correspondem à membrana basal da microscopia de luz.

Logo abaixo da mucosa intestinal encontra-se a submucosa, que é constituída por tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado (Fig. 11C e 11D). O limite entre a lâmina própria e a submucosa não é evidente, sendo que essa última é caracterizada por conter numerosos vasos sanguíneos calibrosos, maior quantidade de fibras colágenas e de glicoproteínas neutras e ácidas (Fig. 11C). Não foi detectada a presença de nenhuma glândula na submucosa ao longo de toda a extensão do intestino das duas espécies estudadas.

A muscular é formada por duas camadas de músculo liso: a circular interna e a longitudinal externa (Fig. 7A e 7C). Entre as duas camadas de músculo liso existe tecido conjuntivo, onde são observados gânglios entéricos (Fig. 7C).

A serosa, é uma membrana constituída por uma só camada de células epiteliais pavimentosas, o mesotélio, e por uma pequena quantidade de tecido conjuntivo adjacente (Fig. 7C), o qual apresentou reação positiva ao PAS (Fig. 11C).

Foram observadas variações no padrão geral, descrito acima, nas diferentes regiões do intestino das espécies de peixes estudadas.

5.1. CECOS PILÓRICOS

Os cecos pilóricos estão localizados na porção proximal do intestino médio, adjacentes ao esfíncter pilórico (Fig. 6). Quando observados em microscopia de luz, os cecos pilóricos de *N. neglecta* caracterizaram-se por possuir um grande número de longas vilosidades primárias, que se projetam para o lúmen. Essas vilosidades ramificam-se intensamente formando as vilosidades secundárias (Fig. 12A). Nos cecos pilóricos de *T. newnesi* observou-se uma alternância entre vilosidades mais longas e mais curtas, não sendo observadas ramificações em nenhuma delas (Fig. 12B).

Em microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.), observou-se que as vilosidades dos cecos pilóricos de *N. neglecta* apresentaram um padrão digitiforme alargado, possuindo subdivisões superficiais que equivalem às ramificações observadas na microscopia de luz (Fig. 12C). As vilosidades dos cecos pilóricos de *T. newnesi* apresentaram um padrão foliáceo, as quais se dobram intensamente (Fig. 12D).

As camadas submucosa e muscular são bastante delgadas nas duas espécies (Fig. 12A e 12B).

Os enterócitos dos cecos pilóricos de *N. neglecta* e *T. newnesi* são células cilíndricas altas que possuem numerosas microvilosidades, demonstráveis na microscopia de luz, pela borda estriada bem visível (Fig. 13A e 13B). Através da M.E.T. confirmou-se o grande número de microvilosidades longas e retilíneas (Fig. 14A, 14B, 15A e 15B).

O citoplasma apical dos enterócitos de ambas as espécies, em microscopia de luz, apresentou basofilia. Além disso, puderam ser observados linfócitos em diversas alturas do epitélio intestinal (Fig. 13A e 13B).

Nos cortes semifinos dos cecos pilóricos de *N. neglecta*, corados com azul de toluidina, os enterócitos apresentaram grânulos escuros, principalmente nas porções apical e basal do citoplasma (Fig. 13C), assim como também, no citoplasma dos enterócitos dos cecos pilóricos de *T. newnesi* (Fig. 13D). Foi observado um grande número de linfócitos no epitélio dos cecos pilóricos de *N. neglecta* (Fig. 13C).

Através da M.E.T., observou-se que os grânulos visualizados no citoplasma apical e basal dos enterócitos dos cecos pilóricos de ambas as espécies correspondem a mitocôndrias (Fig. 14 e 15), as quais são mais abundantes no citoplasma das células de *N. neglecta* (Fig. 14). Além do grande número de mitocôndrias, essa espécie apresentou corpúsculos multivesiculares no citoplasma apical (Fig. 14B) e grânulos na região supranuclear (Fig. 14A) dos enterócitos dessa porção intestinal, algumas com substâncias eletrodensas em seu interior e outras com material granular amorfo (Fig. 14A e 14B). Na região baso-lateral do epitélio dos cecos pilóricos de *N. neglecta* foram observados linfócitos em grande quantidade (Fig. 14A) e grandes espaços intercelulares (Fig. 14C).

Em *T. newnesi* observou-se, através da M.E.T., que o citoplasma abaixo da região submicrovilar apresenta mitocôndrias e numerosas vesículas do retículo endoplasmático granular (REG) (Fig. 15A e 15B). Na região supranuclear pode ser observado o aparelho de Golgi, formado por sáculos e vesículas, que algumas vezes se encontravam dilatados (Fig. 15B). O citoplasma basal também apresentou mitocôndrias e vesículas do REG (Fig. 15C). Nos cecos pilóricos de *T. newnesi* não foram observados espaços entre as células na região baso-lateral (Fig. 15C), como descrito para *N. neglecta*.

As células caliciformes foram encontradas nas duas espécies, porém em maior número na mucosa dos cecos pilóricos de *T. newnesi* (Fig. 16A e 16B). Em ambas as espécies as mucossubstâncias secretadas são de natureza ácida e neutra, porém, em *N. neglecta* foi observada reação positiva mais intensa para o PAS (Fig. 16C) e em *T. newnesi* observou-se reação mais intensa para o Alcian blue pH 2,5 (Fig. 16D). Foi também detectada a presença de mucossubstâncias ácidas sulfatadas sendo secretadas das células caliciformes dos cecos pilóricos de *T. newnesi* (Fig. 16E). As diferentes categorias de mucossubstâncias secretadas, provavelmente, encontram-se em vesículas de secreção separadas (Fig. 16C e 16D).

5.2. INTESTINO MÉDIO

As vilosidades do intestino médio de *N. neglecta* apresentaram-se longas e ramificadas na porção proximal, as quais diminuíram de tamanho em direção à porção distal desse órgão, onde são menos ramificadas (Fig. 17A e 18A). Em *T. newnesi* as projeções do tecido conjuntivo frouxo e da mucosa para a luz do tubo, além de se tornarem mais curtas em direção à porção distal do intestino médio, tornaram-se encurvadas, não sendo observadas ramificações (Fig. 17B e 18B).

Através da M.E.V. ficou evidente a diferença de tamanho entre as vilosidades das porções proximal e distal do intestino médio de *N. neglecta*, sendo que na porção distal as vilosidades são mais numerosas (Fig. 17C e 18C). Além disso, observou-se que a superfície das vilosidades de *N. neglecta* é bastante irregular, principalmente na porção proximal do intestino médio (Fig. 17C e 18C). As vilosidades do intestino de *T. newnesi* também mostraram essa diminuição de tamanho na M.E.V., porém é menos evidente, sendo que, também foi possível observar um aumento no número de vilosidades intestinais na porção distal do intestino médio dessa espécie (Fig. 17D e 18D).

A submucosa do intestino médio de *T. newnesi* mostrou-se bastante delgada e não foram observadas variações significativas na sua espessura ao longo da extensão dessa porção do intestino (Fig. 17B e 18B). *N. neglecta* apresentou um leve espessamento dessa camada em direção à porção distal do intestino médio (Fig. 17A e 18A).

Na camada muscular do intestino médio de *N. neglecta* foi observado um espessamento, especialmente da camada circular interna, quando comparada com a muscular dos cecos pilóricos (Fig. 12A, 17A e 18A). A camada muscular em *T. newnesi* não apresentou variação na sua espessura ao longo do intestino médio (Fig. 12B, 17B e 18B).

Na microscopia de luz não foi possível observar basofilia do citoplasma apical e da região perinuclear das células epiteliais da mucosa do intestino médio de ambas as espécies (Fig. 19A e 19B). Os enterócitos do intestino médio de *N. neglecta* apresentaram menor basofilia na região subapical (Fig. 19A). Foram observados linfócitos em diferentes alturas da camada epitelial das duas espécies estudadas (Fig. 19A e 19B).

Na porção proximal do intestino médio de *N. neglecta* foi observada, nos cortes

semifinos, a presença de vacúolos do citoplasma apical dos enterócitos (Fig. 19C), assim como também, as regiões apical e basal dessas células apresentaram granulações mais escuras, especialmente nas células do ápice das vilosidades (Fig. 19C). Entre os enterócitos, próximo à membrana basal, foram observadas células com o citoplasma mais claro e com núcleo grande, possivelmente sejam linfócitos (Fig. 19C). Nos enterócitos das porções mediana e distal do intestino médio dessa espécie, não foi detectada a presença de vacúolos no citoplasma apical (Fig. 19E).

Os cortes semifinos do intestino médio de *T. newnesi* revelaram a presença de grandes vacúolos, contendo um material amorfo, no citoplasma dos enterócitos da porção distal desse segmento intestinal (Fig. 19F). Por outro lado, os enterócitos das porções proximal e mediana do intestino médio apresentaram granulações no citoplasma apical e basal (Fig. 19D), não sendo detectada a presença de vacúolos, como descrito para a porção proximal do intestino médio de *N. neglecta* e distal de *T. newnesi* (Fig. 19C e 19F).

Como descrito para os cecos pilóricos, as microvilosidades do intestino médio de *N. neglecta* e *T. newnesi* são longas e muito numerosas (Fig. 22A, 22C, 22E, 23A, 23C e 23E).

No intestino médio de *N. neglecta* observou-se um aumento no número de células caliciformes, que se tornaram mais numerosas na porção distal desse segmento (Fig. 20A e 20C). Esse aumento também foi observado no intestino médio de *T. newnesi* (Fig. 20B e 20D).

Através dos testes histoquímicos verificou-se que as células caliciformes da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta* secretam mucossustâncias neutras e ácidas, que parecem estar em vesículas de secreção separadas; na periferia encontram-se as vesículas com mucossustâncias ácidas e no centro as vesículas com as neutras (Fig. 21A). Em direção à porção distal do intestino médio de *N. neglecta* as células caliciformes apresentam uma mistura dessas duas categorias de mucossustâncias (Fig. 21C). Na porção mediana do intestino médio dessa espécie foi detectada reação positiva ao PAS no citoplasma dos enterócitos, especialmente na porção apical da célula (Fig. 21C).

Em *T. newnesi* observou-se que as células caliciformes secretam mucossustâncias neutras e ácidas na mesma proporção ao longo de todo o intestino médio (Fig. 21B e 21D). Além disso, foi detectada reação positiva ao PAS e ao Alcian blue pH 2,5 no citoplasma apical dos enterócitos da porção distal do intestino médio

dessa espécie (Fig. 21B e 21D). As mucossubstâncias com grupamentos ácidos sulfatados foram detectadas no intestino médio de ambas as espécies (Fig. 21E e 21F).

Os enterócitos da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta* apresentaram estruturas semelhantes a gotículas e partículas lipídicas no seu citoplasma. As partículas lipídicas foram também observadas no espaço entre duas células e no tecido conjuntivo adjacente. Além disso, foi observada a presença de mitocôndrias, as quais foram mais abundantes no citoplasma basal (Fig. 22A e 22B). No entanto, as regiões mediana e distal do intestino médio dessa espécie de peixe não apresentaram essas características, não sendo mais visualizadas gotículas ou partículas lipídicas. Os enterócitos dessas regiões continham em seu citoplasma REG e grande número de mitocôndrias, as quais apresentaram grânulos escuros na matriz, principalmente na porção mediana do intestino médio. Esses grânulos provavelmente sejam sítios de acúmulo de cátions divalentes em uma forma não ionizada (Fig. 22C, 22D, 22E e 22F). A membrana baso-lateral dessas células apresentaram numerosas invaginações, as quais estão associadas às mitocôndrias (Fig. 22D e 22F).

Foi possível detectar diferenças entre os enterócitos das porções proximal, mediana e distal do intestino médio de *T. newnesi*, quando estas foram observadas em M.E.T. Como descrito para os cecos pilóricos, os enterócitos das porções proximal e mediana do intestino médio de *T. newnesi* possuem mitocôndrias no citoplasma apical e basal, sendo um pouco mais numerosas do que nos cecos pilóricos. Puderam ser observadas algumas invaginações micropinocíticas na membrana plasmática entre as microvilosidades. No citoplasma ao longo de todo o enterócito puderam ser observadas algumas vesículas com material granular eletrodense no seu interior, semelhante a partículas lipídicas, especialmente na porção mediana (Fig. 23A e 23C). Nas porções proximal e mediana do intestino médio de *T. newnesi* foram observadas invaginações da membrana plasmática baso-lateral, onde existem mitocôndrias alojadas (Fig. 23B e 23D). As prováveis partículas lipídicas podem ser visualizadas também em espaços inter-celulares baso-laterais e no tecido conjuntivo subjacente (Fig. 23B e 23D).

Nos enterócitos da porção distal do intestino médio de *T. newnesi* foi observado um menor número de mitocôndrias e a presença de numerosas vesículas com grânulos eletrodensos no seu interior, possivelmente partículas lipídicas, assim como, gotículas lipídicas (Fig. 23E e 10E). Essas gotículas e partículas lipídicas são vistas dentro das células, apenas até a região supranuclear, sendo as partículas observadas no espaço intercelular, que é bastante dilatado e, então são vistas atravessando a lâmina basal e no

tecido conjuntivo subjacente (Fig. 23E e 10E).

O intestino médio é limitado posteriormente pela valva íleo-retal em ambas as espécies. Essa valva é formada por uma projeção da camada muscular interna, acompanhada pela submucosa e mucosa. A prega, formada em direção aboral, não é muito espessa e marca o início do intestino posterior ou reto (Fig. 24A e 24B). Em M.E.V. pode-se notar que a valva íleo-retal tem a forma de um funil, com a extremidade mais estreita voltada para o intestino posterior (Fig. 24C e 24D).

5.3. INTESTINO POSTERIOR

Em *N. neglecta* o intestino posterior apresentou vilosidades primárias que se ramificam intensamente, aumentando muito a área superficial. Observou-se que essas vilosidades são maiores em direção à porção distal, onde chegam a fechar a luz do tubo (Fig. 25A e 25B). No entanto, na proximidade do esfíncter anal as vilosidades tornam-se menores e menos ramificadas (Fig. 25C). Já em *T. newnesi* foi observado um padrão de vilosidades diferente. Na porção proximal do intestino posterior dessa espécie as vilosidades são curtas e apresentam-se pouco ramificadas (Fig. 26A). Na porção mediana, as vilosidades são maiores e apresentam-se contorcidas (Fig. 28D), porém não fecham a luz do tubo, como acontece com *N. neglecta*. A porção distal do intestino posterior de *T. newnesi* apresenta menor número de vilosidades, as quais não são ramificadas e têm orientação definida (Fig. 26B).

Em M.E.V. as vilosidades da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*, são mais numerosas e não seguem um padrão definido (Fig. 26C), além disso, sua superfície não se apresenta enrugada como descrito para o intestino médio. A porção distal desse segmento intestinal de *N. neglecta* apresentou vilosidades um pouco maiores e contorcidas (Fig. 26E). Em *T. newnesi* pode-se observar um aumento do tamanho das vilosidades em direção à porção distal do intestino posterior (Fig. 26D e 26F).

Logo após a valva íleo-retal, a camada muscular do intestino posterior de *N. neglecta* sofre um espessamento, assim como, acontece com a submucosa (Fig. 25A). Em *T. newnesi*, o espessamento das camadas muscular e submucosa somente foi observado a partir da porção mediana do intestino posterior (Fig. 28D), apresentando o maior espessamento na porção distal (Fig. 26B). *N. neglecta* apresentou a camada

muscular da mucosa na porção distal do intestino posterior (Fig. 25C).

Os enterócitos do intestino posterior de *N. neglecta* e *T. newnesi* são células cilíndricas altas com núcleo basal, como descrito para os cecos pilóricos e intestino médio. Porém, o citoplasma apical dos enterócitos do intestino posterior de *N. neglecta* corou fracamente pela técnica do HE (Fig. 27A), mas apresentou reação positiva ao PAS (Fig. 29A). No citoplasma perinuclear e basal foi detectada a presença de substâncias basofílicas (Fig. 27A). Nos cortes semifinos da mucosa da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*, foi possível observar que o citoplasma apical possui alguns vacúolos e que logo abaixo destes existem grânulos escuros, que também estão presentes no citoplasma basal, especialmente nos enterócitos do ápice das vilosidades (Fig. 27C). Esses vacúolos não foram visualizados no citoplasma dos enterócitos das porções mediana e distal desse segmento intestinal de *N. neglecta* (Fig. 27E).

O citoplasma apical dos enterócitos do intestino posterior de *T. newnesi* apresentou estruturas semelhantes a vacúolos, que não se coram pelo HE e, na região supranuclear dessas células, foi observada basofilia (Fig. 27B). Esse vacúolos apresentaram reação positiva ao PAS e ao Alcian blue pH 2,5 (Fig. 29B e 29D).

A observação dos cortes semifinos da porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi*, revelou a presença de numerosas vesículas no citoplasma apical dos enterócitos. Essas vesículas aumentam de volume e o seu conteúdo torna-se mais escuro em direção ao núcleo (Fig. 27D). Nos enterócitos da porção distal do intestino posterior dessa espécie, foi detectada a presença de pequena quantidade de vesículas no citoplasma perinuclear (Fig. 27F). Nessa mesma região observou-se que a membrana basal é bastante espessa e evidente (Fig. 27F).

Através da M.E.T. foi possível observar numerosas invaginações na membrana plasmática da base das microvilosidades dos enterócitos da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*. Essas invaginações penetram fundo na zona submicrovilosa e formam vacúolos contendo material pouco eletrodense e amorfo (Fig. 30A e 30B). Os vacúolos aumentam de volume na região subapical, muito provavelmente como resultado da convergência de pequenos vacúolos, porém, em direção ao núcleo eles tornam-se menores (Fig. 30A e 30B). Na porção proximal do intestino médio de *T. newnesi* também observou-se enterócitos com esse aspecto, no entanto, além de aumentarem de tamanho em direção ao núcleo, pode-se visualizar que esses vacúolos contêm grânulos grosseiros e bastante eletrodensos no seu interior (Fig.

31A e 31B). As organelas são escassas nessa região do enterócito, podendo ser observadas algumas mitocôndrias, que são mais numerosas no citoplasma supranuclear e basal das células, onde os vacúolos não foram mais vistos, e vesículas do REg (Fig. 30 e 31).

Nas duas espécies estudadas, os vacúolos foram observados em menor número em direção à porção distal do intestino posterior (Fig. 32, 33A e 33B). Nessa região do intestino de *N. neglecta* e *T. newnesi* os enterócitos apresentaram menor número de microvilosidades, que também são mais curtas, assim como, foi observado um aumento no número de mitocôndrias, principalmente no citoplasma apical das células do epitélio intestinal (Fig. 32B, 32C, 33A e 33B). A coesão entre as células epiteliais dessa porção do intestino posterior de *T. newnesi* é assegurada pelo complexo juncional, como nas outras regiões do intestino, e também por alguns desmossomos isolados e interdigitações das membranas plasmáticas de células vizinhas (Fig. 33B). Por outro lado, em *N. neglecta* observou-se que a coesão entre as células é realizada somente pelo complexo juncional, havendo espaços relativamente grandes entre as células epiteliais logo abaixo das junções (Fig. 32B e 32C). Foi observada a presença de algumas invaginações micropinocíticas da membrana plasmática entre as microvilosidades, assim como a presença de vesículas com material amorfo no citoplasma apical das células epiteliais intestinais de *N. neglecta* (Fig. 32A e 32C). No citoplasma perinuclear foram observadas numerosos sáculos e vesículas do aparelho de Golgi (Fig. 32B e 33A). A lâmina basal, sobre a qual os enterócitos estão assentados, apresentou-se fortemente eletrodensa (Fig. 33C).

As células caliciformes foram encontradas em grande quantidade no intestino posterior de ambas as espécies. Em *N. neglecta* essas células mantêm-se numerosas ao longo de todo o intestino posterior (Fig. 28A e 28C), sendo que apresentam reação positiva fraca ao PAS e Alcian blue pH 2,5 na porção proximal (Fig. 28A), a qual aumenta de intensidade em direção à porção distal do intestino posterior (Fig. 28C). Em *T. newnesi* foi observado um aumento no número de células caliciformes na porção proximal (Fig. 28B), sendo ainda maior na porção mediana do intestino posterior (Fig. 28D), as quais tornaram-se menos numerosas na porção distal desse segmento intestinal (Fig. 26B). As células caliciformes apresentaram baixa reatividade ao PAS e ao Alcian pHs 2,5 e 1,0 (Fig. 29B, 29D e 29F). A afinidade das mucossubstâncias produzidas e secretadas pelas células caliciformes do intestino posterior de *N. neglecta* pelo Reativo de Schiff e pelo Alcian blue pH 2,5 é maior quando comparada com o resultado

encontrado para as células caliciformes dessa mesma porção do intestino de *T. newnesi* (Fig 29A, 29B, 29C e 29D), sendo semelhante somente para a afinidade pelo Alcian blue pH 1,0 (Fig. 29E e 29F).

Nas duas espécies estudadas, o final do intestino posterior é marcado pelo esfíncter anal, que é caracterizado por projeções, simétricas em *T. newnesi* e assimétricas em *N. neglecta*, em direção ao lúmen intestinal (Fig. 34). Nessa região, o epitélio colunar simples do intestino é substituído por um epitélio estratificado, que é contínuo com a epiderme da pele (Fig. 35 e 36). Em M.E.V. observou-se que a superfície do epitélio anal de ambas as espécies é bastante enrugada (Fig. 35A e 35B) e que as células possuem microssaliências (“microridges”), na sua superfície (Fig. 35A, 35B, 35C e 35D). Essas microssaliências são espessas e abundantes e não apresentam uma orientação definida no ânus de *N. neglecta* (Fig 35A e 35C). As microssaliências das células epiteliais do ânus de *T. newnesi* apresentaram-se mais delgadas e orientadas como impressões digitais (Fig. 35B e 35D).

Em *N. neglecta* as células apicais do epitélio estratificado apresentaram reação positiva ao PAS e ao Alcian blue pH 2,5 (Fig. 36A e 36C). Também foram observadas células semelhantes às claviformes e às células de cloreto entre as células epiteliais do ânus de *N. neglecta* (Fig. 35E).

As células da camada apical do epitélio estratificado do ânus de *T. newnesi* apresentaram fraca reação positiva ao Alcian blue pH 2,5 (Fig. 36D e 36E). Não foram observadas células claviformes no epitélio do ânus de *T. newnesi*, no entanto, foi possível identificar um tipo celular alongado, que se estende da membrana basal até a superfície epitelial (Fig. 36D e 36E). Através da M.E.T. foi possível observar que entre as células do epitélio estratificado existe um tipo celular alongado, contendo grande quantidade de mitocôndrias e uma rede vesículo-tubular no seu citoplasma (Fig. 38B). Essa célula poderia corresponder àquelas células alongadas observadas na microscopia de luz (Fig. 36E), e de acordo com suas características ultraestruturais, poderiam ser células de cloreto.

Nos cortes semifinos do epitélio anal de *T. newnesi*, observou-se que as células da camada apical são maiores e apresentam-se mais claras (Fig. 37B). Esse aspecto não foi observado no epitélio do ânus de *N. neglecta* (Fig. 37A). Além disso, pode-se notar que a membrana basal do epitélio anal de ambas as espécies é bastante espessa (Fig. 37A e 37B).

Em M.E.T., as células da camada apical do epitélio estratificado do ânus de *N.*

neglecta e *T. newnesi*, apresentaram microssaliências superficiais e muitos vacúolos no citoplasma (Fig. 37C, 37D e 38A). O citoplasma dessas células é pobre em organelas, contendo algumas vesículas dilatadas do REG e mitocôndrias, aparentemente em processo de degeneração (Fig. 37C e 37D), podendo ser visualizados diferentes estágios de degeneração celular (Fig. 37C, 37D e 38A), processo normal da renovação celular do epitélio estratificado. A coesão entre as células epiteliais é feita por complexos juncionais e interdigitações das membranas plasmáticas de células vizinhas (Fig. 37C, 37D e 38A).

A lâmina basal em ambas as espécies é espessa e fortemente eletrodensa, no entanto, no epitélio do ânus de *T. newnesi* observou-se uma rede de numerosas fibras colágenas transversais e longitudinais logo abaixo da lâmina basal (Fig. 38D), sendo que abaixo da lâmina basal do epitélio anal de *N. neglecta* a quantidade de fibras colágenas foi muito menor (Fig. 38C).

FIGURA 1

MAPAS DO LOCAL DE ESTUDO I

A) Mapa do Continente Antártico. Notar a proximidade entre a região da Península Antártica e a América do Sul.

Fonte: Revistas de Difusión del Departamento de Relaciones Públicas de la Fuerza Aérea de Chile.

B) Mapa da Península Antártica. Notar a localização geográfica da Ilha Rei George, a qual pertence ao Arquipélago das Shetland do Sul.

Fonte: DANIELS, 1982

FIGURA 2

MAPAS DO LOCAL DE ESTUDO II

A) Mapa da Ilha Rei George, as bandeiras indicam a nacionalidade e a posição das estações de pesquisa existentes nessa ilha. A Estação Antártica Brasileira Comandante Ferraz localiza-se na Baía do Almirantado.

Fonte: Revistas de Difusión del Departamento de Relaciones Públicas de la Fuerza Aérea de Chile.

B) Mapa mostrando um detalhe da Baía do Almirantado e a localização da Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) na Península Keller (*), às margens da Enseada Martel (►).

FIGURA 2

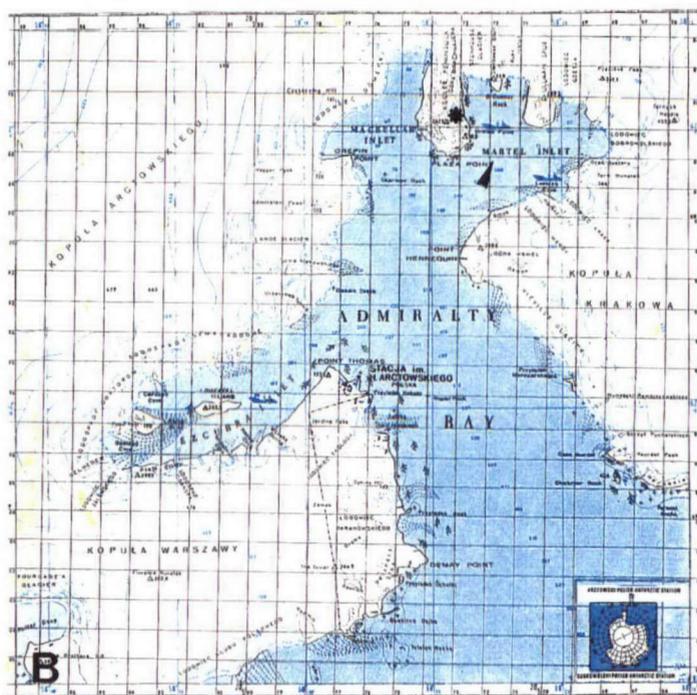
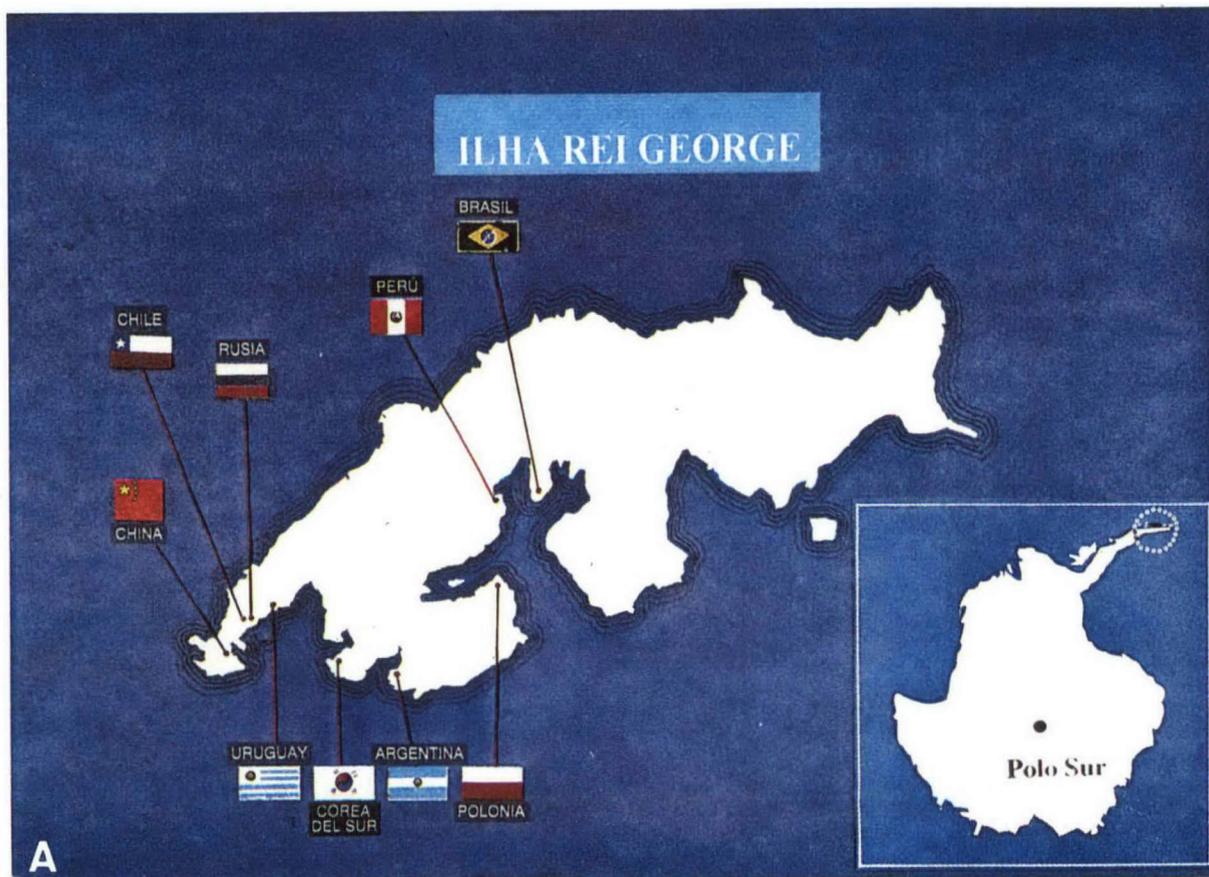


FIGURA 3

LOCAL DE CAPTURA E LABORATÓRIO FRIO

- A) Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) (→). As coletas foram realizadas na Enseada Martel (▲) durante os períodos de primavera, verão e outono.
- B) Laboratório Frio, mantido a 0°C, com tanques de 500L (★), onde foram mantidos os exemplares de *N. neglecta*, e aquários de 70L, atrás de anteparos (✱) para os exemplares de *T. newnesi*.

FIGURA 3

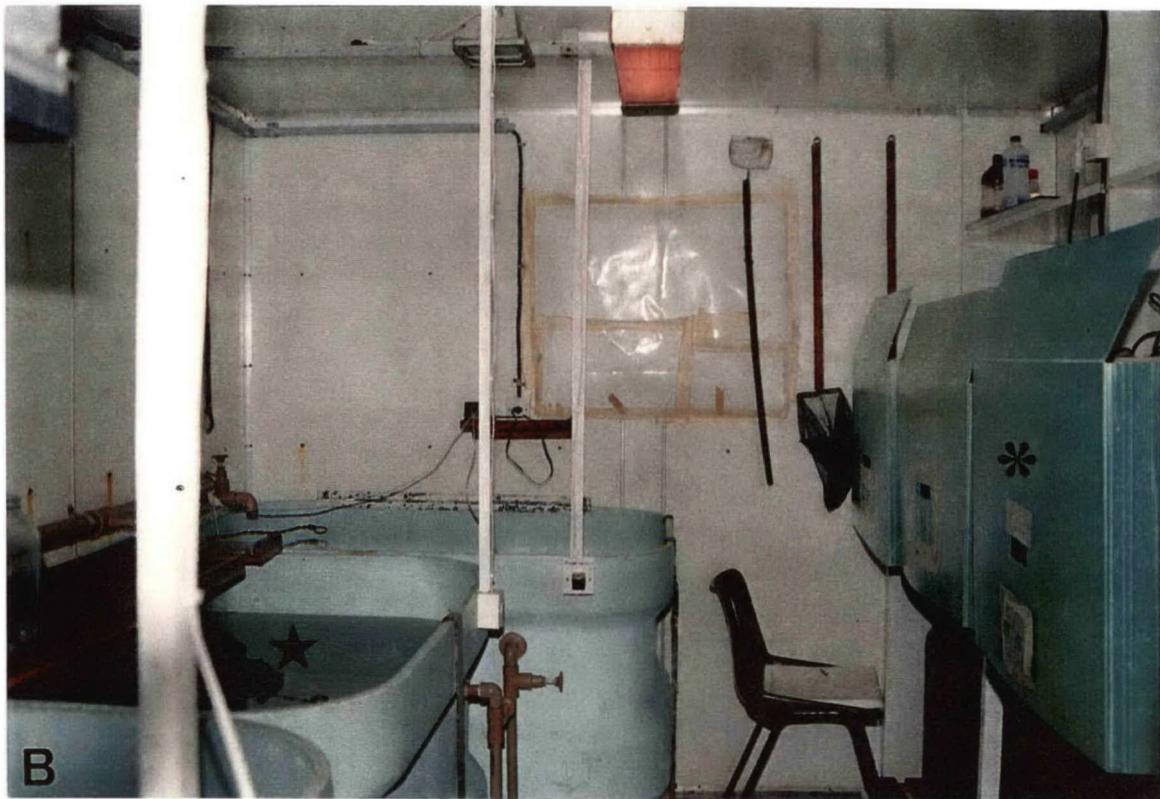


FIGURA 4

CAPTURA DOS PEIXES

- A) Bote inflável Zodiac, embarcação utilizada para o lançamento e recolhimento da rede de espera tipo feiticeira para a captura dos espécimes.
- B) Detalhe do lançamento da rede de espera, realizado no bote inflável Zodiac. O lançamento da rede era realizado no sentido mar-terra e o seu recolhimento no sentido oposto, terra-mar.
- C) Lancha oceanográfica “Skua” no berço de encalhe na praia. Essa embarcação também é utilizada para realizar a captura dos exemplares, sendo equipada com dois tanques, onde a renovação da água é constante.
- D) Pesca de peixes da espécie *N. neglecta* com vara e molinete, à bordo da Lancha oceanográfica “Skua”. Os peixes foram pescados com iscas de carne vermelha.

FIGURA 4

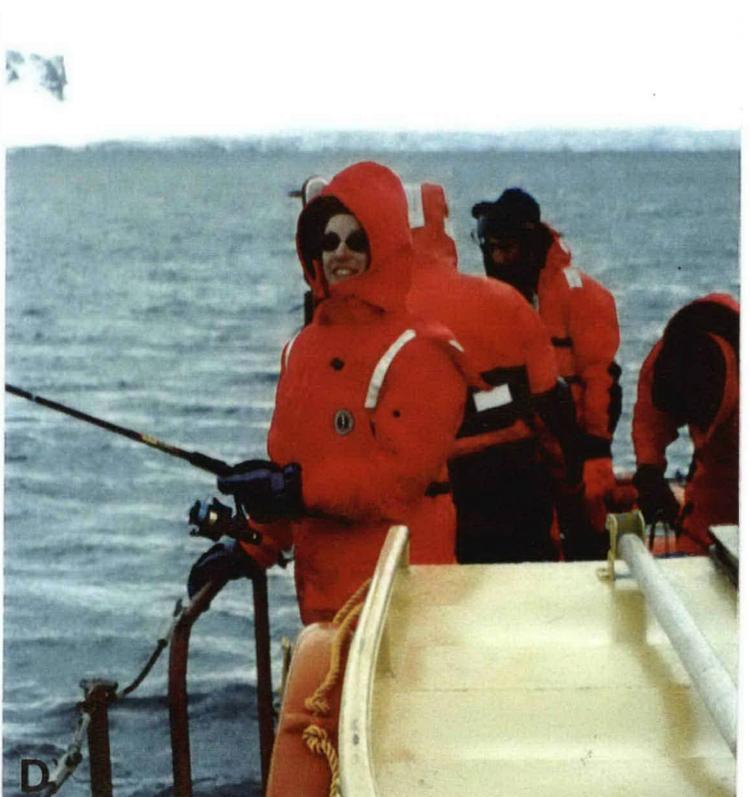
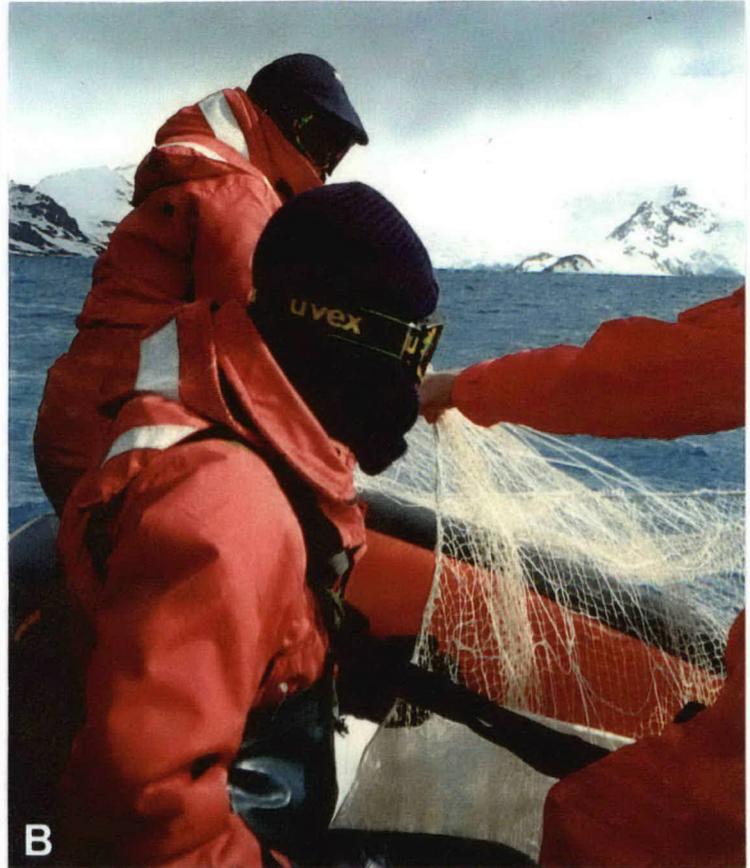
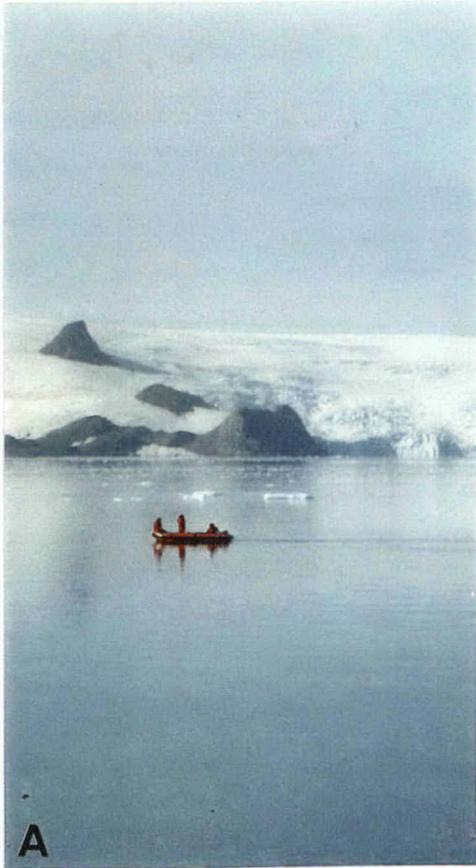
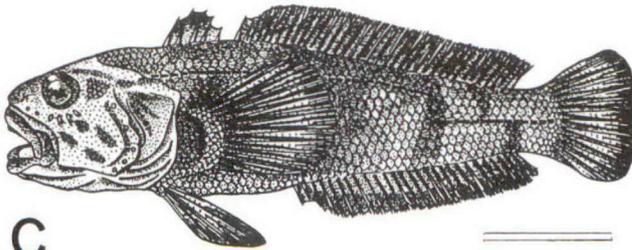
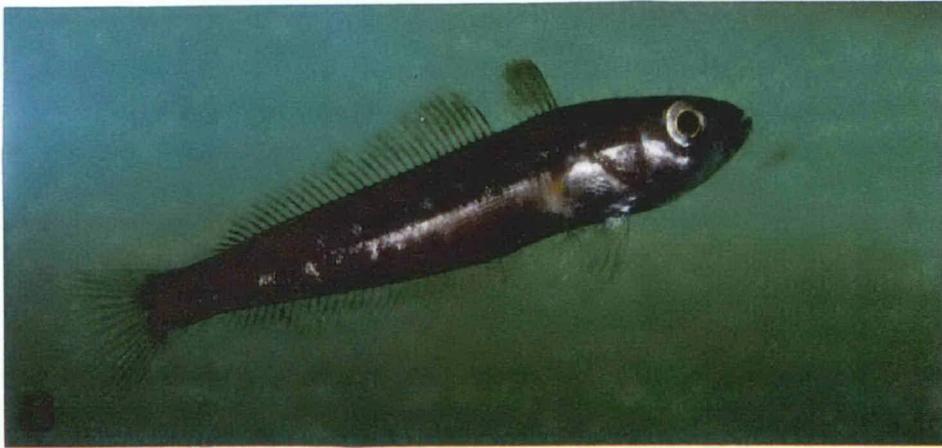


FIGURA 5

MATERIAL BIOLÓGICO

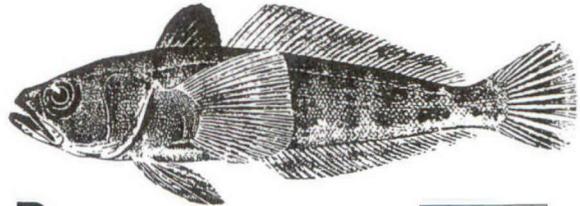
- A) Foto de um exemplar de *Notothenia neglecta* no aquário do Laboratório frio da Estação Antártica Comandante Ferraz.
Foto: Sonia Grotzner
- B) Exemplar de *Trematomus newnesi* nadando no aquário do Laboratório frio da Estação Antártica Comandante Ferraz.
Foto: Sonia Grotzner
- C) Desenho esquemático de *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951.
Fonte: FISHER et al., 1985
- D) Desenho esquemático de *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902.
Fonte: FISHER et al., 1985
- E) Mapa do Continente Antártico mostrando as áreas de distribuição da espécie *N. neglecta* (regiões sombreadas) e os locais onde sua presença é questionável (?).
Fonte: FISHER et al., 1985
- F) Mapa do Continente Antártico mostrando a distribuição geográfica de *T. newnesi* (regiões sombreadas).
Fonte: FISHER et al., 1985

FIGURA 5



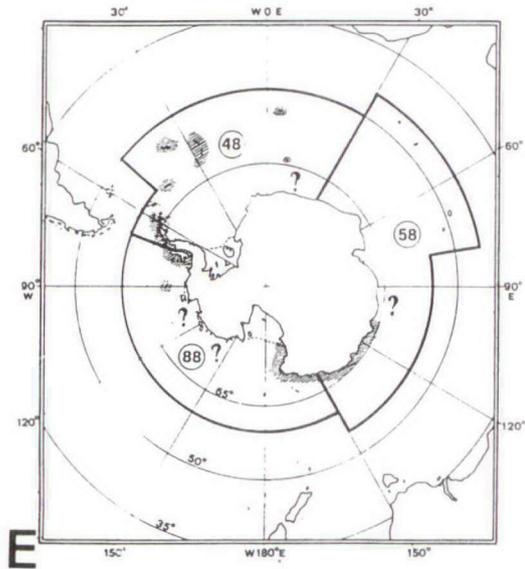
C

0 6 cm

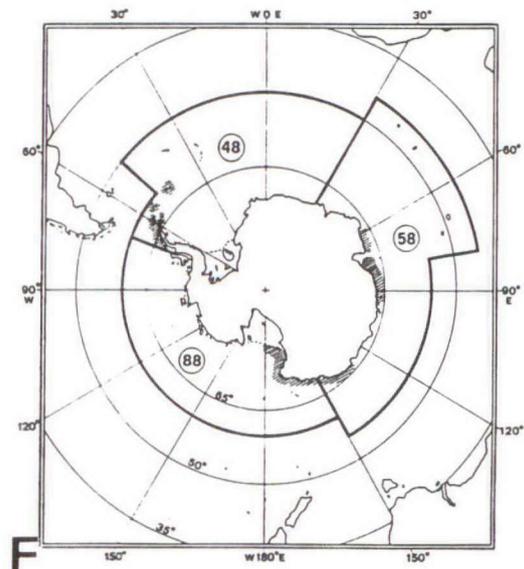


D

0 3 cm



E



F

FIGURA 6

TRATO DIGESTIVO

- A) Exemplar de *N. neglecta* com as vísceras abdominais expostas: fígado (Fi), cecos pilóricos (CP) e intestino (In).
Foto: Sandra Freiberger
- B) Exemplar de *T. newnesi* com as vísceras abdominais expostas: cecos pilóricos (CP) e intestino (In).
Foto: Sonia Grotzner
- C) Intestino de *N. neglecta*, evidenciando os segmentos coletados para os estudos histológicos e ultraestruturais: cecos pilóricos (CP), porção proximal do intestino médio (★), porção mediana do intestino médio (✱), porção distal do intestino médio (■), valva íleo-retal (➡), porção proximal do intestino posterior (ou reto), (☆) porção mediana do intestino posterior (✱), porção distal do intestino posterior (Δ) e ânus (▲).
Foto: Sonia Grotzner
- D) Intestino de *T. newnesi*, evidenciando os segmentos coletados para os estudos histológicos e ultraestruturais: cecos pilóricos (CP), porção proximal do intestino médio (★), porção mediana do intestino médio (✱), porção distal do intestino médio (■), valva íleo-retal (➡), porção proximal do intestino posterior (ou reto) (☆), porção mediana do intestino posterior e (✱) porção distal do intestino posterior (Δ).
Foto: Sonia Grotzner

FIGURA 6

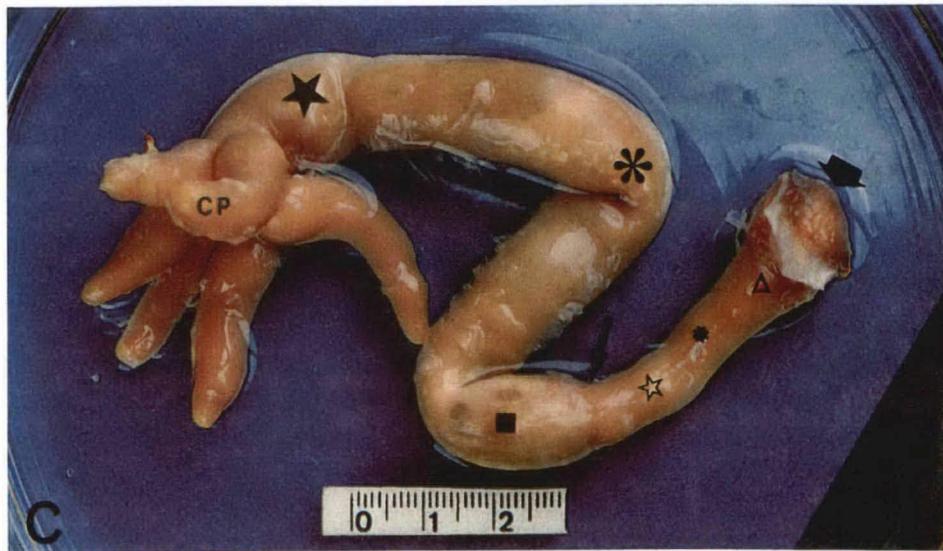
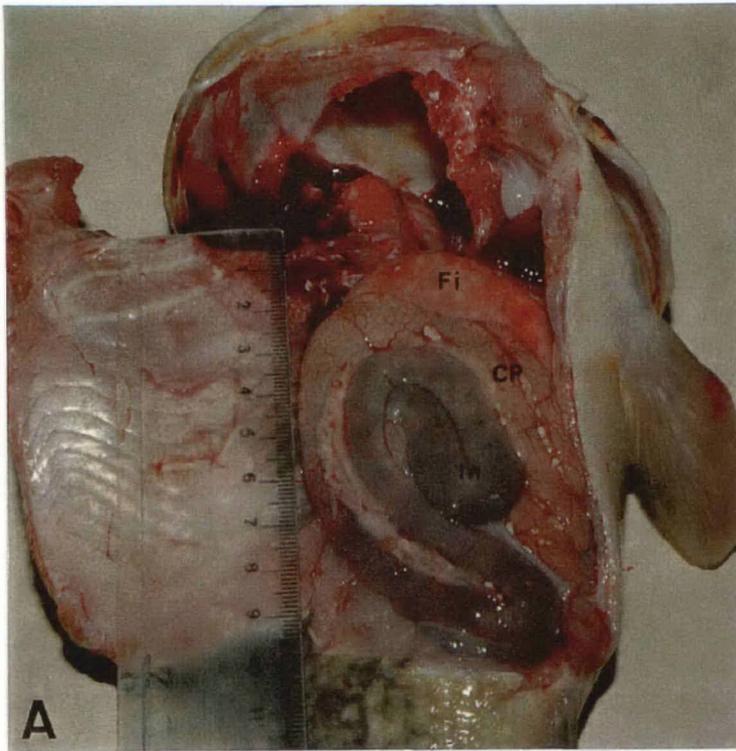


FIGURA 7

ASPECTOS HISTOLÓGICOS GERAIS DO INTESTINO

- A) Corte transversal da porção mediana do intestino médio de *N. neglecta*, mostrando as camadas que compõem esse órgão em ambas as espécies: mucosa (MC), submucosa (SM), muscular (M) e serosa (S).

Coloração: HE

Escala: 100µm

- B) Corte longitudinal de uma vilosidade intestinal da porção proximal do intestino médio de *T. newnesi*, evidenciando os tipos celulares encontrados na mucosa intestinal das duas espécies estudadas: enterócito (e), células caliciformes (c) e linfócitos (→).

Coloração: HE

Escala: 20µm

- C) Detalhe das duas camadas de músculo liso: camada circular interna (★) e camada longitudinal externa (✱). Observar a presença de gânglios do parassimpático entre essas duas camadas (⬆). Corte transversal dos cecos pilóricos de *N. neglecta*.

Coloração: HE

Escala: 20µm

FIGURA 7

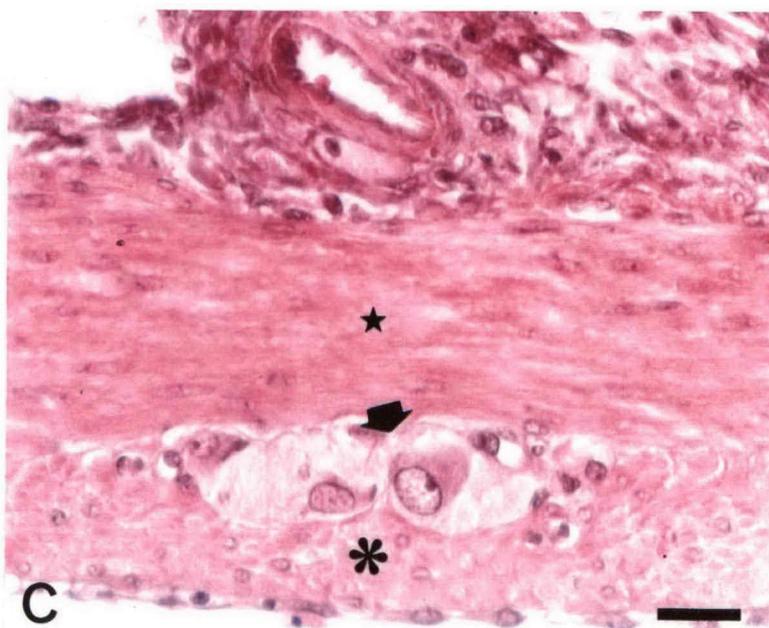
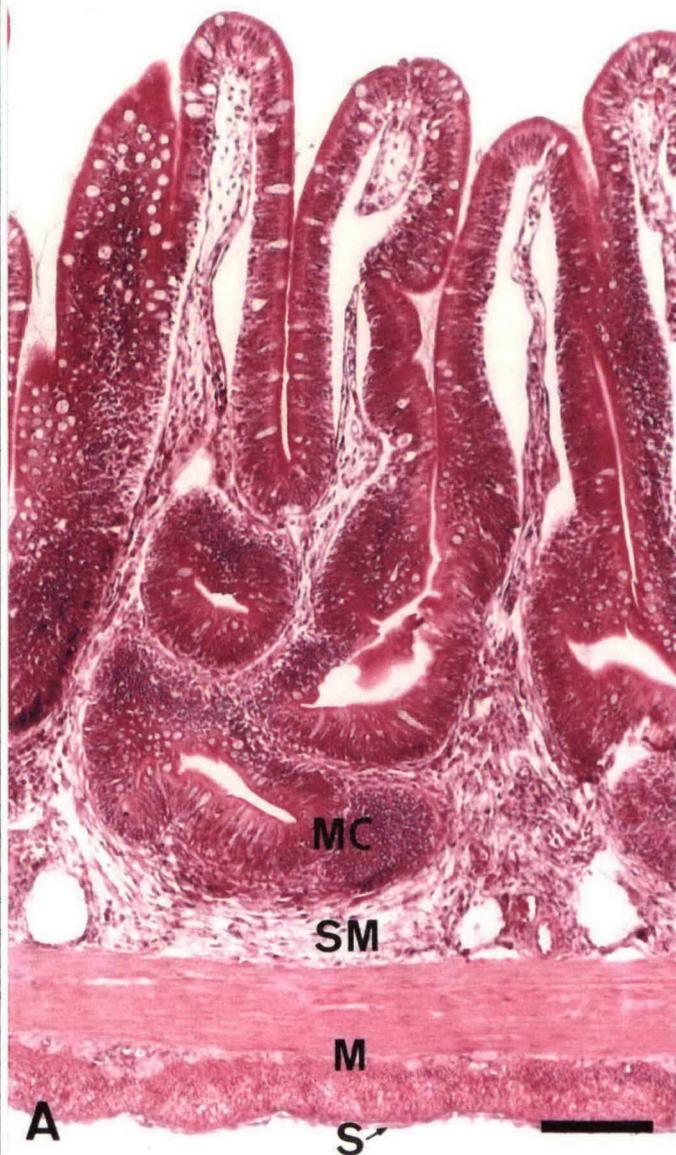


FIGURA 8

TIPOS CELULARES DA MUCOSA INTESTINAL

- A) Eletromicrografia de uma célula endócrina, notar a grande quantidade de grânulos secretores redondos, alguns com um centro fortemente eletrodenso (►) e outros com um material granular fracamente eletrodenso (▷). Intestino médio de *N. neglecta*.
Escala: 15µm
- B) Célula endócrina, evidenciando os grânulos secretores com o centro fortemente eletrodenso (►). Intestino médio de *N. neglecta*.
(N) núcleo.
Escala: 10µm
- C) Epitélio dos cecos pilóricos de *N. neglecta*, mostrando a presença de linfócitos (→) em vários níveis da camada epitelial e, célula com grânulos em bastonete (gb). Notar que essa última célula possui o núcleo basal e substâncias basófilas no seu citoplasma.
Coloração : HE
Escala: 10µm
- D) Células com grânulos em bastonete (gb), evidenciando a afinidade dos seus grânulos pelo PAS (➡). Corte transversal da mucosa dos cecos pilóricos de *N. neglecta*.
Coloração: PAS/Orange G
Escala: 10µm
- E) Eletromicrografia das células com grânulos em bastonete, onde pode ser observada a ausência de organelas no citoplasma periférico, que forma um tipo de uma “cápsula” (⬛); os grânulos têm a forma ovalada, com a região externa amorfa (*) e a região interna densa e fusiforme (►). Notar que uma das células está se abrindo na luz intestinal (➡). Cecos pilóricos de *N. neglecta*.
(N) núcleo.
Escala: 2µm

FIGURA 8

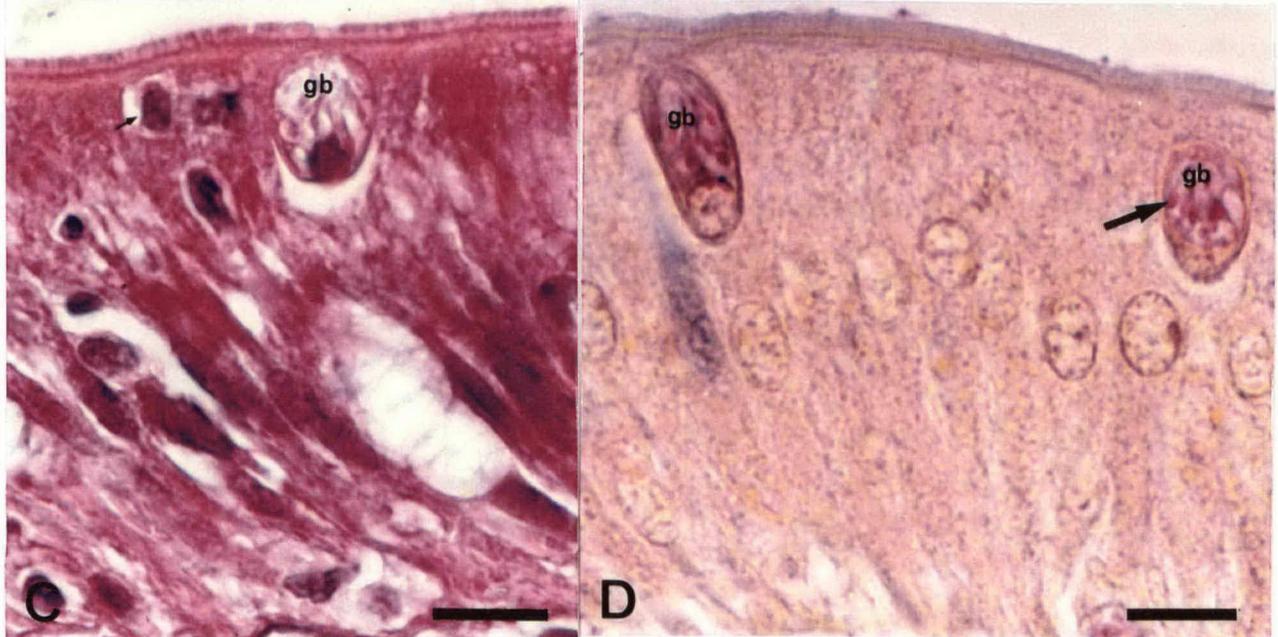
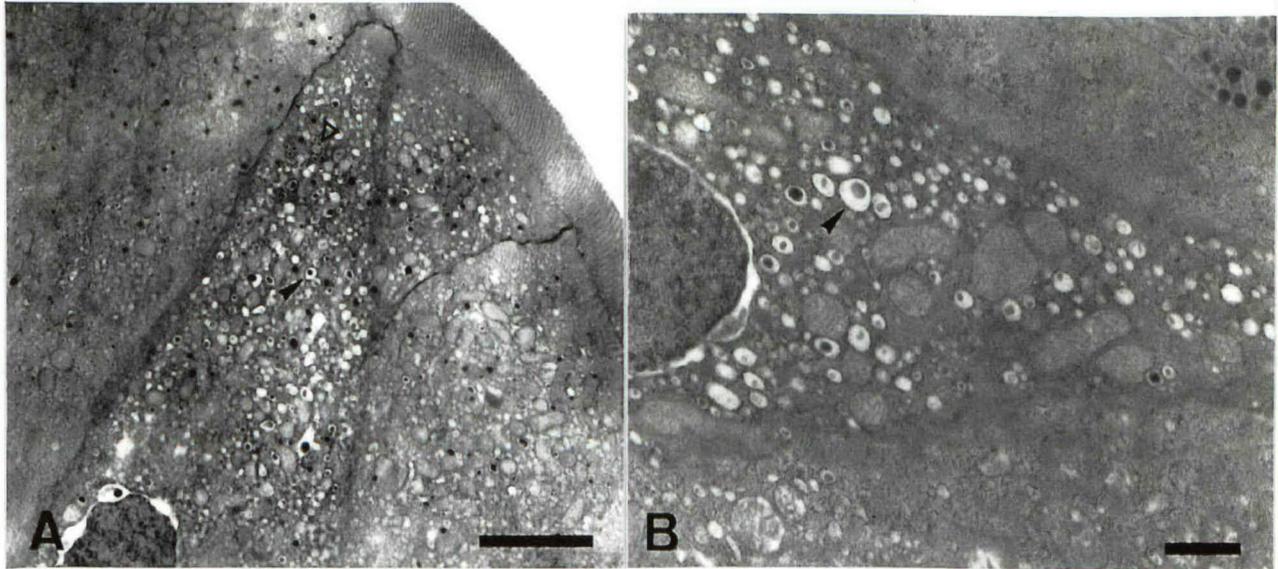


FIGURA 9

ENTERÓCITO

- A) Vista da superfície da mucosa intestinal, mostrando que os enterócitos são células poliédricas. Porção distal do intestino médio de *N. neglecta*.
- B) Corte longitudinal dos enterócitos (e) da porção distal do intestino médio de *N. neglecta*. Observar que os enterócitos são células cilíndricas altas, com o núcleo em posição basal (N) e borda em escova bem evidente (\longrightarrow). Notar a presença de linfócitos (\rightarrow) no epitélio intestinal.
Coloração: HE
Escala: 10 μ m
- C) Eletromicrografia do epitélio intestinal podendo ser observada a posição basal do núcleo (N); mitocôndrias no citoplasma (\triangleright); complexo juncional na porção apical das células (\blacktriangleright) e; grande quantidade de longas microvilosidades (\longrightarrow). Porção mediana do intestino médio de *T. newnesi*.
Escala: 4 μ m
- D) Detalhe do citoplasma apical dos enterócitos dos cecos pilóricos de *T. newnesi*.
(e) enterócitos, (\triangleright) mitocôndrias, (\longrightarrow) vesículas do retículo endoplasmático granular, (\longrightarrow) microvilosidades e (\blacktriangleright) complexo juncional.
Escala: 2 μ m

FIGURA 9

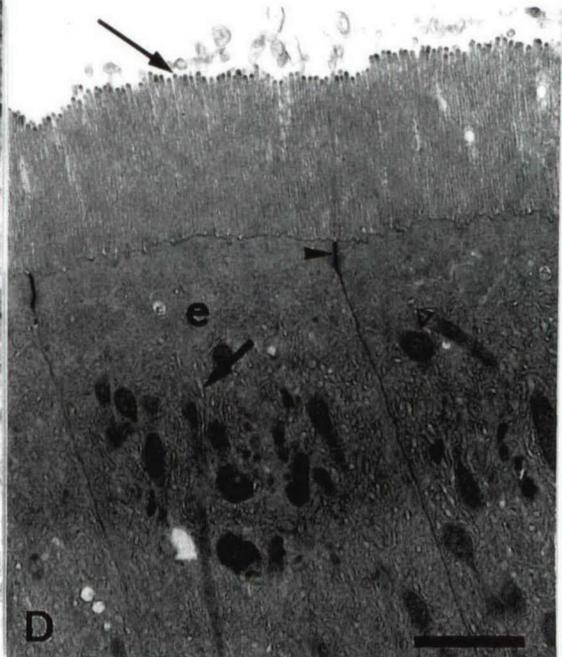
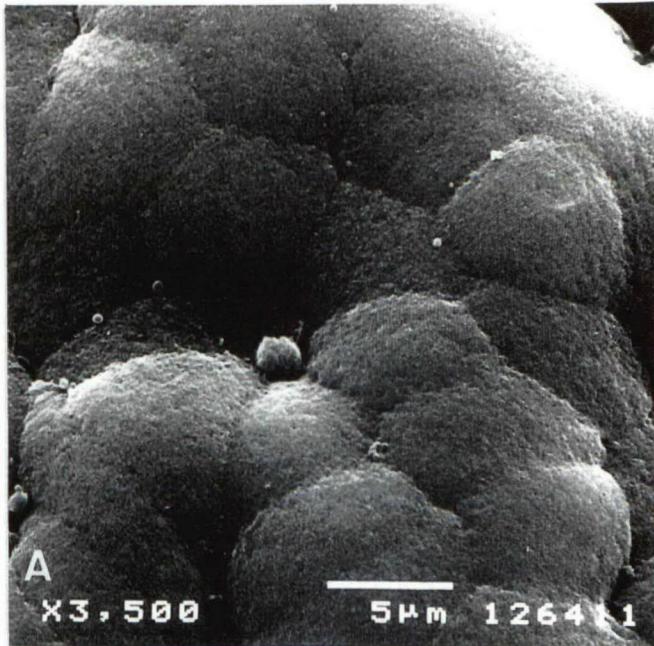


FIGURA 10

CÉLULA CALICIFORME

- A) Vista superficial de uma vilosidade da porção mediana do intestino médio de *T. newnesi*, mostrando a abertura das células caliciformes no lúmen intestinal (▷).
Escala: 10µm
- B) Detalhe da abertura de uma célula caliciforme liberando sua secreção no lúmen intestinal. Porção mediana do intestino médio de *N. neglecta*.
Escala: 1µm
- C) Célula caliciforme produzindo e secretando mucossubstâncias ácidas, evidenciadas pela sua afinidade pelo Alcian blue pH 2,5. Porção proximal do intestino médio de *T. newnesi*.
Coloração: Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 10µm
- D) Célula caliciforme cujo o produto de secreção apresenta afinidade pelo PAS, detectando a presença de mucossubstâncias neutras. Porção distal do intestino médio de *N. neglecta*.
Coloração: PAS/Verde-luz
Escala: 10µm
- E) Eletromicrografia de uma célula caliciforme, onde pode ser observada a grande quantidade de grânulos secretores de muco na superfície apical e a pequena região basal de citoplasma, onde é possível visualizar o núcleo (N), (▷) mitocôndrias, retículo endoplasmático granular (→) e aparelho de Golgi (☆) bem desenvolvidos. Notar a presença de partículas lipídicas nos espaços intercelulares (▲) e no tecido conjuntivo subjacente (▲). Porção distal do intestino médio de *T. newnesi*.
Escala: 3µm

FIGURA 10

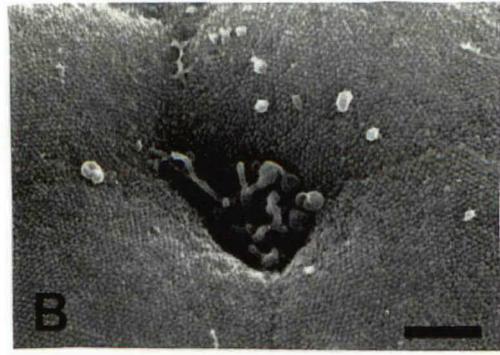
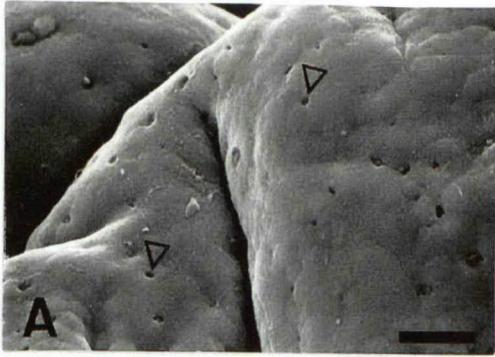


FIGURA 11

MEMBRANA BASAL E SUBMUCOSA

- A)** Membrana basal apresentando reação positiva ao PAS (▷). Porção distal do intestino médio de *N. neglecta*.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 10µm
- B)** Em M.E.T. é possível visualizar uma banda eletrodensa, que corresponde à lâmina basal (▷), abaixo da qual existem delgadas fibras colágenas reticulares, a lâmina reticular (*). Porção proximal do intestino médio de *T. newnesi*.
Escala: 1µm
- C)** Camada submucosa (SM) da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta*, evidenciando a presença de glicosaminoglicanas neutras, detectadas pela afinidade pelo PAS, e a rica vascularização (V).
Coloração: PAS/Verde-luz
Escala: 50µm
- D)** Camada submucosa do intestino posterior de *T. newnesi*, mostrando vasos sanguíneos contendo hemácias (V).

FIGURA 11

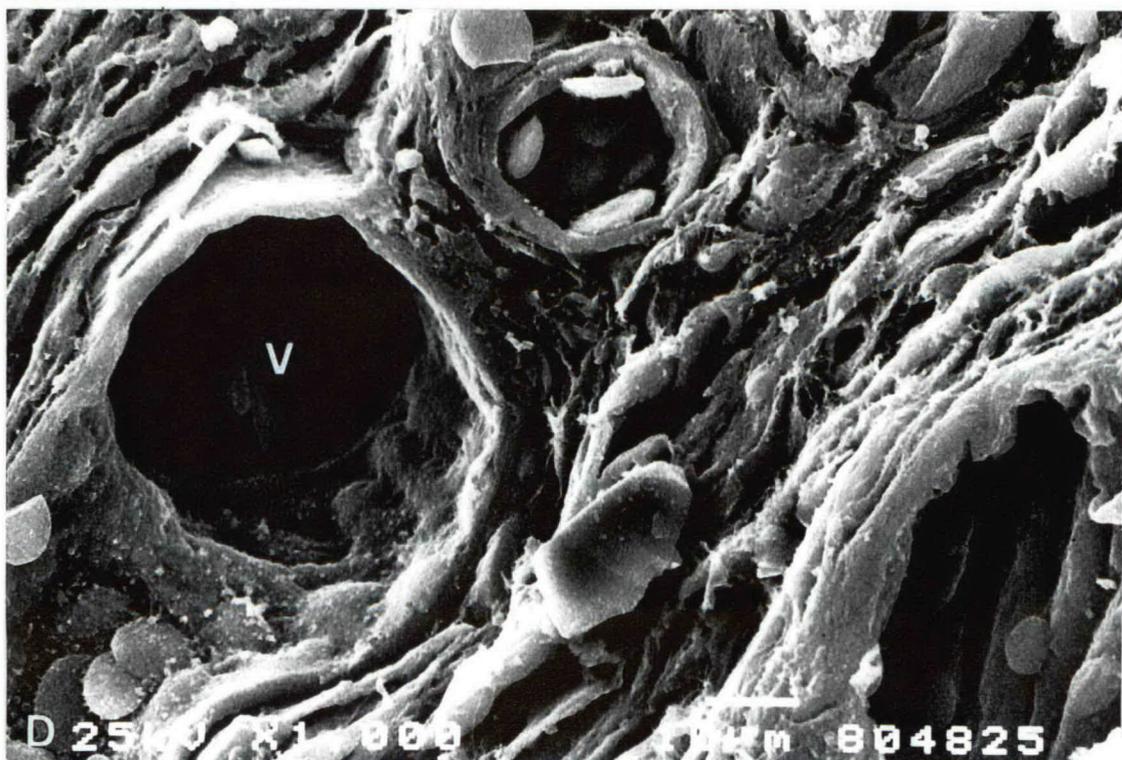
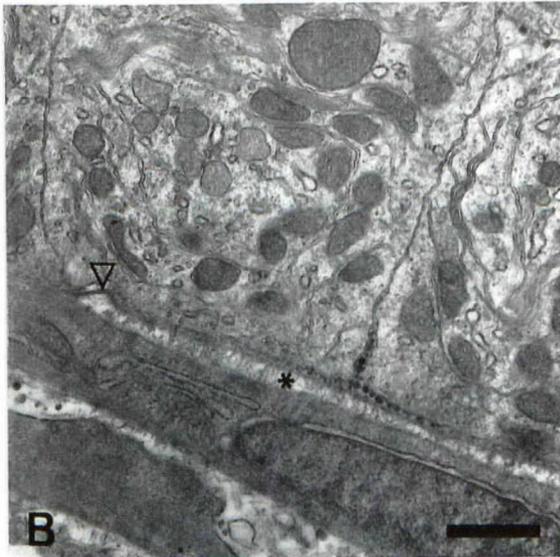
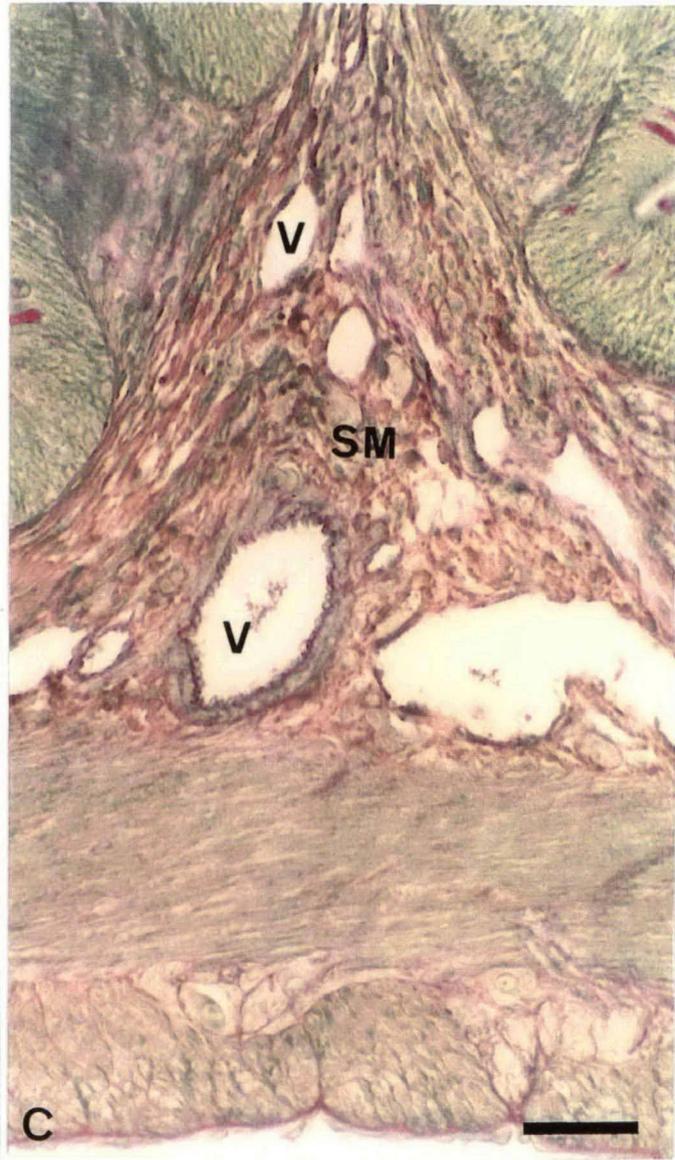


FIGURA 12

TOPOGRAFIA DOS CECOS PILÓRICOS

- A) Corte transvesal de um ceco pilórico de *N. neglecta*, onde podem ser observadas as quatro camadas que compõem a parede intestinal: mucosa (MC), submucosa (SM), muscular (M) e serosa (S). Notar que as vilosidades são longas e ramificam-se intensamente.
Coloração: HE
Escala: 100µm
- B) Ceco pilórico de *T. newnesi*, evidenciando as camadas mucosa (MC), submucosa (SM), muscular (M) e serosa (S). Observar que nessa espécie existe uma alternância entre vilosidades longas e curtas, que não sofrem ramificações.
Coloração: HE
Escala: 100µm
- C) Vilosidade dos cecos pilóricos de *N. neglecta* em microscopia eletrônica de varredura. Observar o padrão digitiforme alargado da vilosidade, que apresenta subdivisões superficiais (▲).
- D) Vilosidades dos cecos pilóricos de *T. newnesi*, as quais apresentam um padrão foliáceo e se dobram intensamente.

FIGURA 12

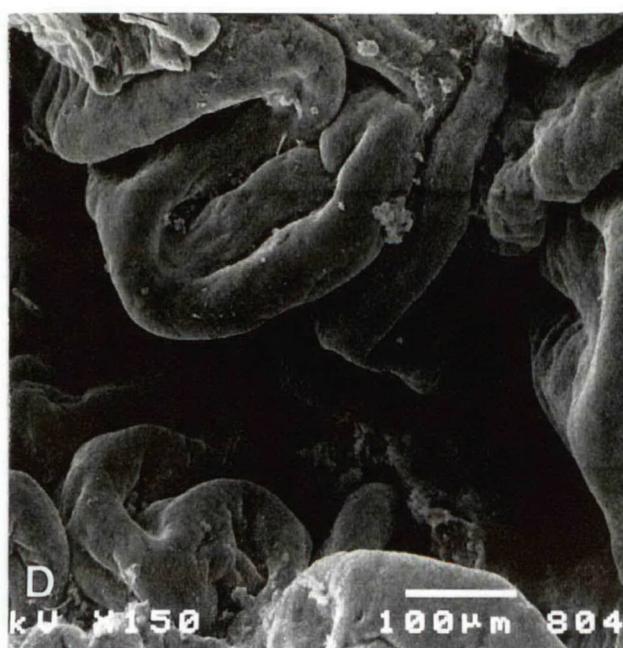
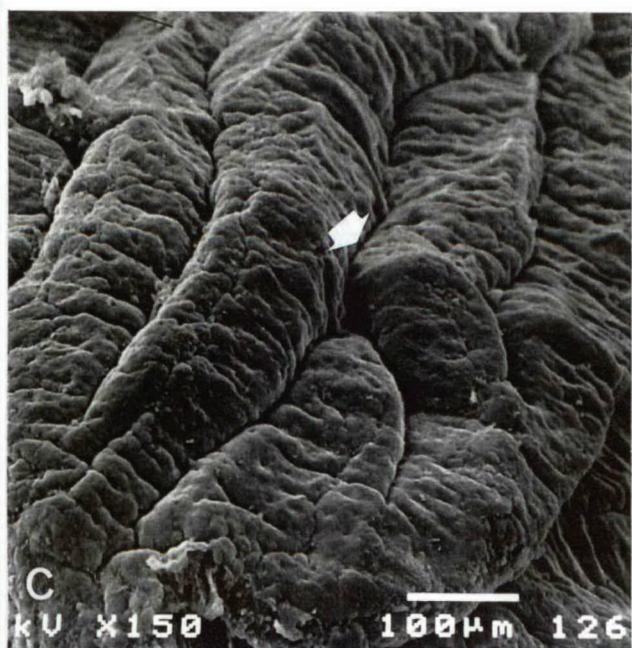
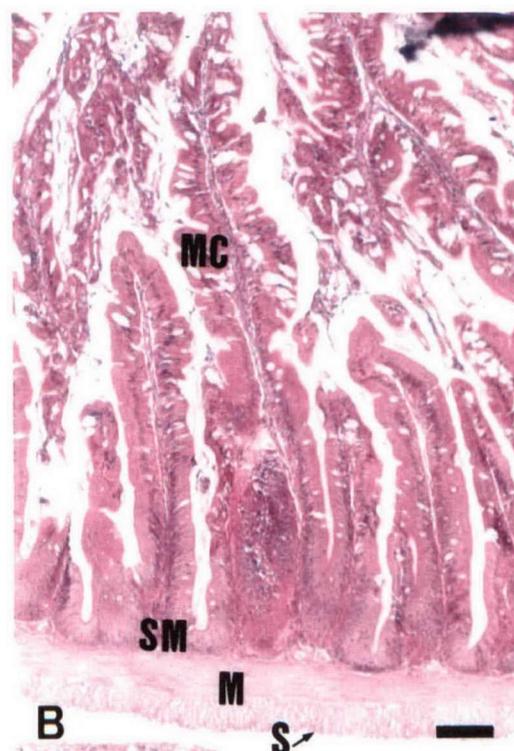


FIGURA 13

MUCOSA DOS CECOS PILÓRICOS I

- A)** Detalhe dos enterócitos dos cecos pilóricos de *N. neglecta*: (e) enterócito, (→) borda em escova, (N) núcleo do enterócito, (c) célula caliciforme, (→) linfócitos e (gb) célula com grânulos em bastonete.
Coloração: HE
Escala: 10µm
- B)** Detalhe dos enterócitos dos cecos pilóricos de *T. newnesi*: (e) enterócito, (→) borda em escova, (N) núcleo do enterócito, (c) célula caliciforme e (→) linfócitos.
Coloração: HE
Escala: 10µm
- C)** Mucosa dos cecos pilóricos de *N. neglecta* em corte semifino (0,40µm). Observar a presença de numerosos grânulos no citoplasma apical e basal dos enterócitos.
(e) enterócito, (→) borda em escova, (N) núcleo e (→) linfócitos.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 10µm
- D)** Corte semifino (0,40µm) da mucosa dos cecos pilóricos de *T. newnesi*. Notar que os enterócitos dessa região apresentam grânulos no citoplasma apical e basal.
(e) enterócito, (→) borda em escova, (N) núcleo e (→) linfócitos.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 10µm

FIGURA 13

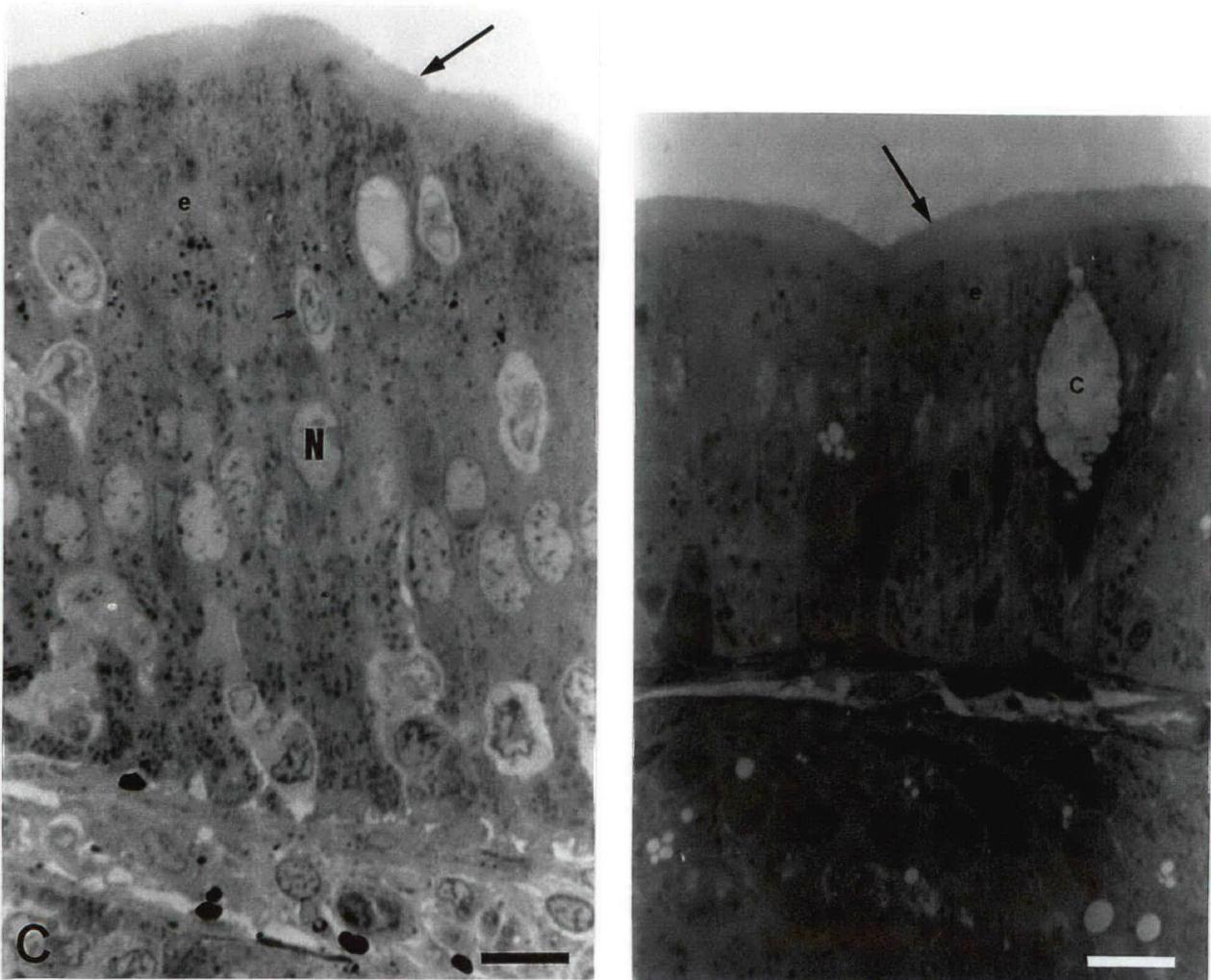
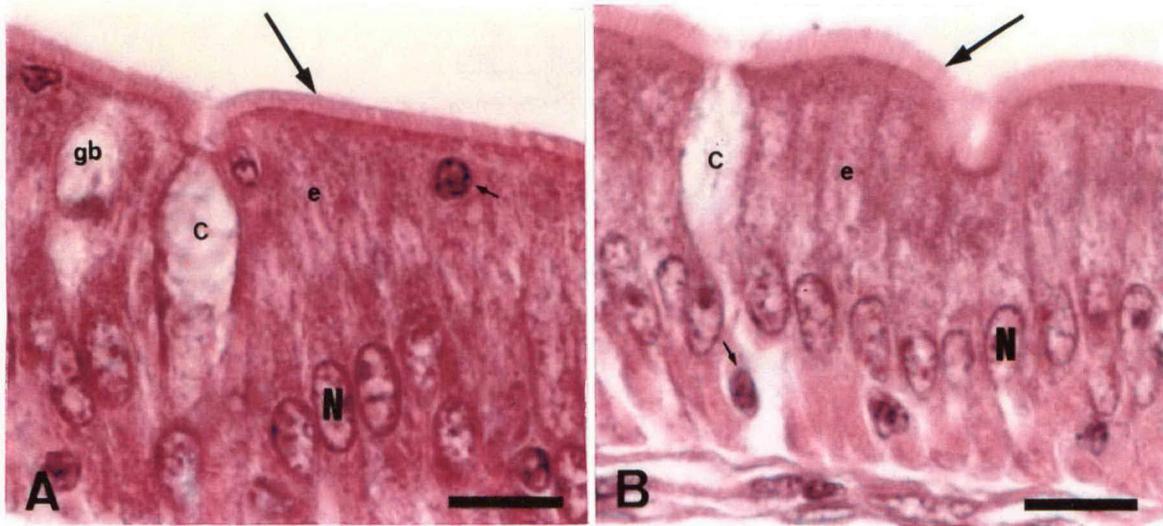


FIGURA 14

MUCOSA DOS CECOS PILÓRICOS II

A) Mucosa dos cecos pilóricos de *N. neglecta*. Notar a grande quantidade de mitocôndrias (▷) no citoplasma apical e basal dos enterócitos, assim como, a presença de grânulos eletrodensos (◁) no citoplasma supranuclear dessas células. Observar também, a existência de espaços intercelulares (★) na região baso-lateral dos enterócitos.

(e) enterócitos, (N) núcleo, (→) microvilosidades, (→) linfócitos e (gb) célula com grânulos em bastonete.

Escala: 5µm

B) Detalhe do citoplasma apical dos enterócitos da mucosa dos cecos pilóricos de *N. neglecta*. Observar a presença de mitocôndrias alongadas (▷) e de numerosas vesículas contendo material eletrodenso no seu interior (◁).

(e) enterócito, (→) microvilosidades, (☆) trama terminal e (▶) complexo juncional.

Escala: 2µm

C) Detalhe da região basal do epitélio dos cecos pilóricos de *N. neglecta*, onde pode ser observada a presença de mitocôndrias (▷) e de grandes espaços intercelulares (★). Notar a presença de partículas escuras no espaço intercelular (▲), as quais também podem ser visualizadas no tecido conjuntivo subjacente (▲).

(▷) lâmina basal.

Escala: 2µm

FIGURA 14

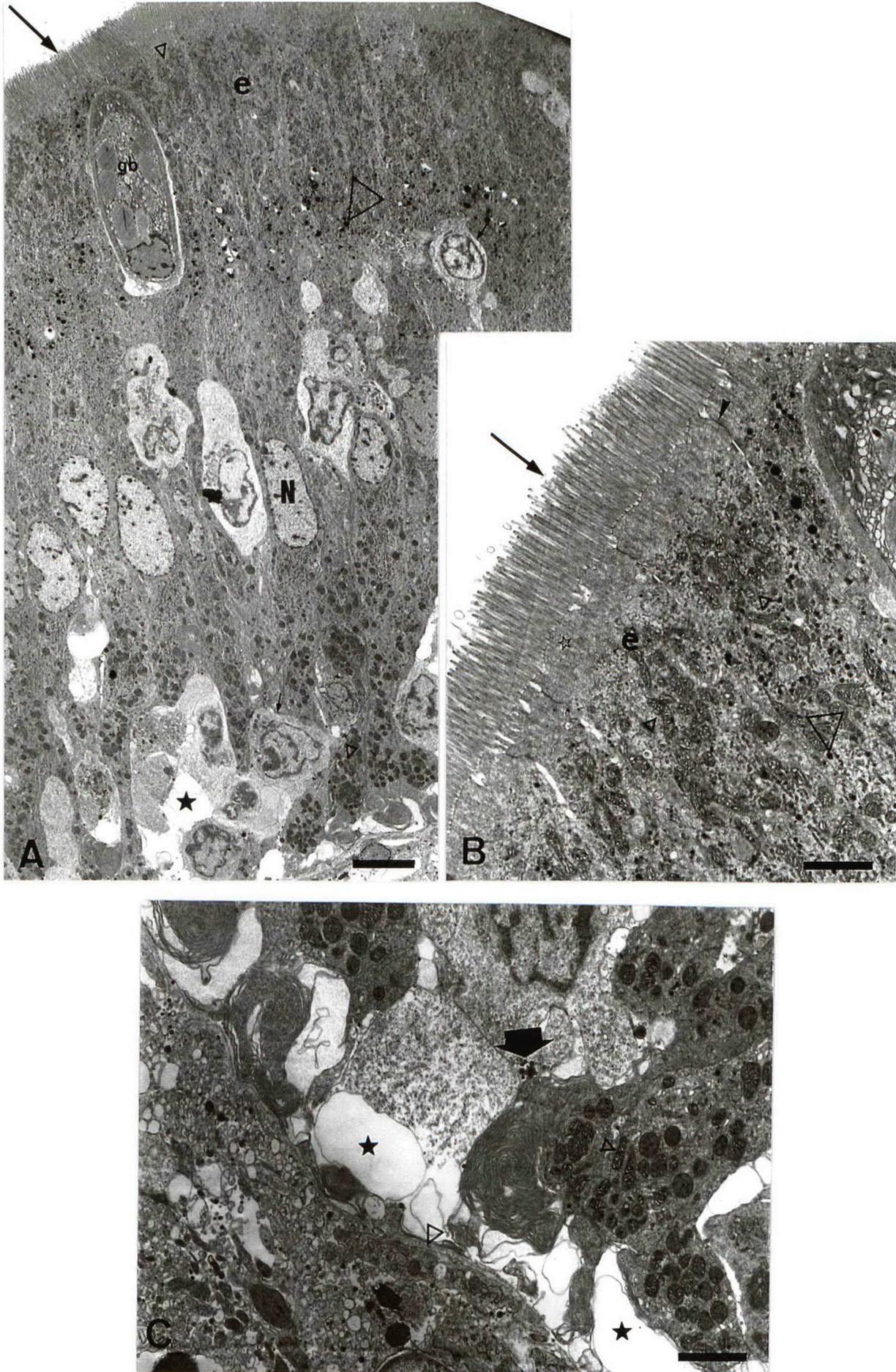


FIGURA 15

MUCOSA DOS CECOS PILÓRICOS III

A) Mucosa dos cecos pilóricos de *T. newnesi*.

(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (N) núcleo, (n) nucléolo, (→) microvilosidades e (►) complexo juncional.

Escala: 3µm

B) Detalhe do citoplasma apical dos enterócitos dos cecos pilóricos de *T. newnesi*, evidenciando o grande número de vesículas do retículo endoplasmático granular (→).

(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (▲) aparelho de Golgi, (→) microvilosidades e (►) complexo juncional.

Escala: 2µm

C) Detalhe do citoplasma basal dos enterócitos dos cecos pilóricos de *T. newnesi*. Notar a presença de mitocôndrias alongadas (▷) e vesículas do retículo endoplasmático granular dilatadas.

(e) enterócitos, (▷) lâmina basal e (→) vesículas do Retículo endoplasmático granular.

Escala: 2µm

FIGURA 15

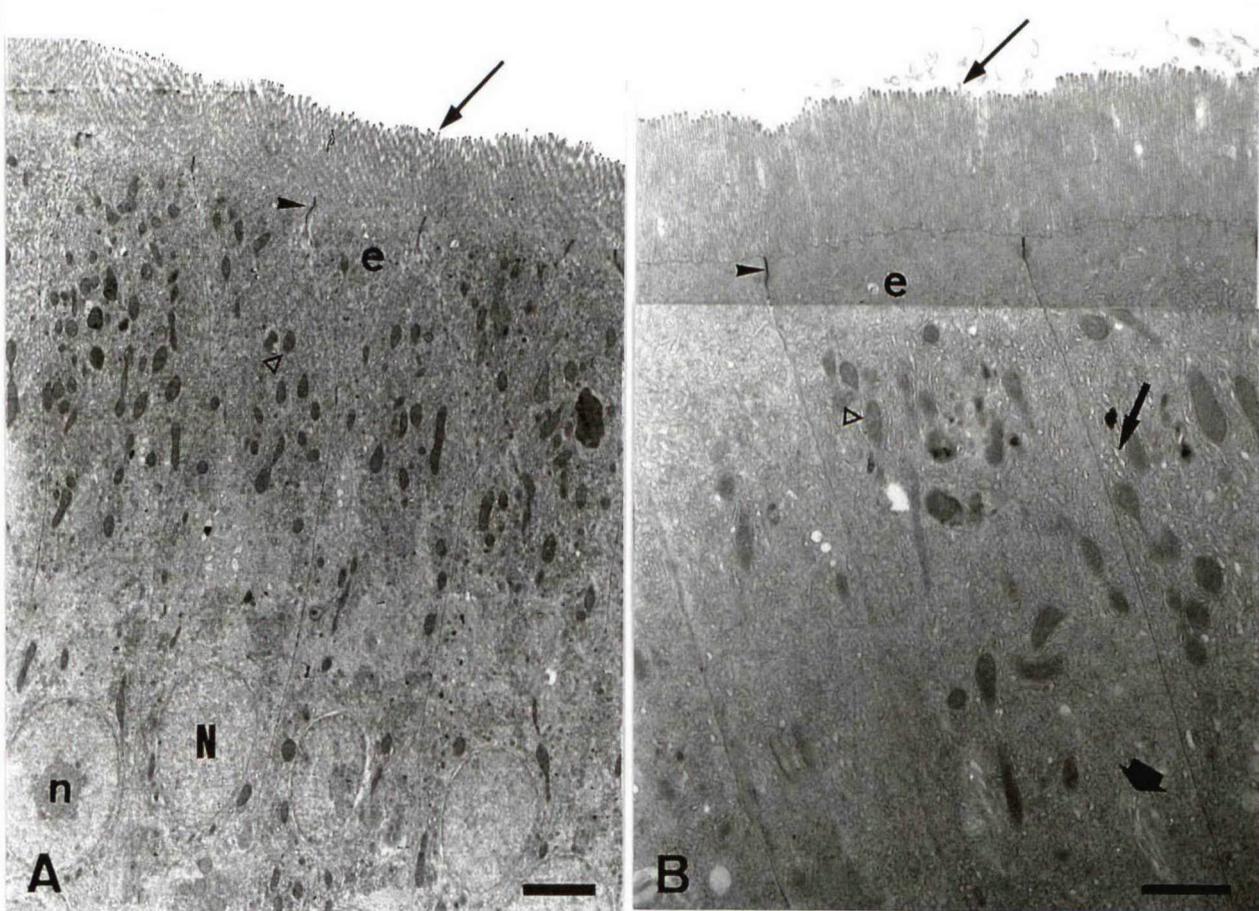


FIGURA 16

DISTRIBUIÇÃO E HISTOQUÍMICA DAS CÉLULAS CALICIFORMES NOS CECOS PILÓRICOS

- A)** Distribuição das células caliciformes no epitélio dos cecos pilóricos de *N. neglecta*. Observar também, a presença de glicosaminoglicanas neutras, reativas ao PAS, no tecido conjuntivo da camada submucosa.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa, (c) células caliciformes e () gânglios do parassimpático.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm
- B)** Distribuição das células caliciformes no epitélio dos cecos pilóricos de *T. newnesi*. Observar que a afinidade pelo Alcian blue pH 2,5 é maior.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm
- C)** Células caliciformes (c) dos cecos pilóricos de *N. neglecta*, evidenciando a presença de mucossubstâncias ácidas (*) e neutras (★) em vesículas de secreção separadas.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 10µm
- D)** Célula caliciforme (c) dos cecos pilóricos de *T. newnesi*. Notar que a afinidade pelo Alcian blue pH 2,5 é mais intensa.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 10µm
- E)** Célula caliciforme (c) dos cecos pilóricos de *T. newnesi*, mostrando a presença de mucossubstâncias ácidas ricas em grupamentos sulfatados, detectadas pela reação positiva ao Alcian blue pH 1,0.
Coloração: Alcian blue pH 1,0/Verde-luz
Escala: 10µm

FIGURA 16

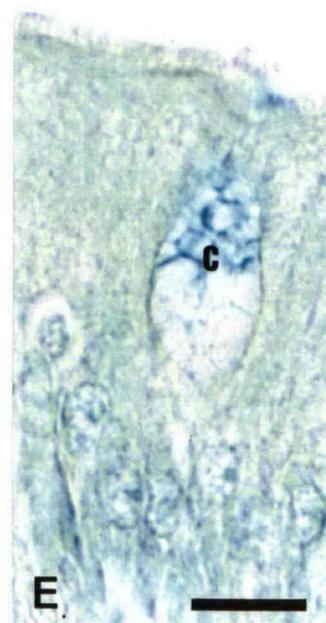
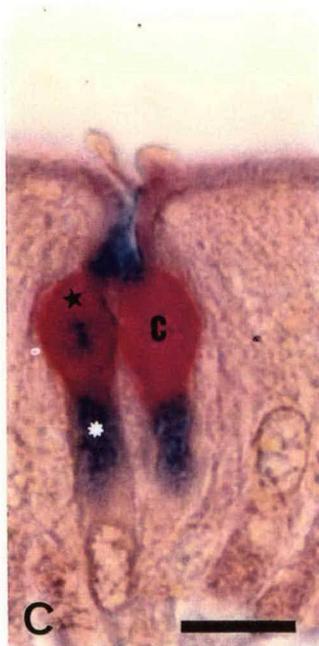
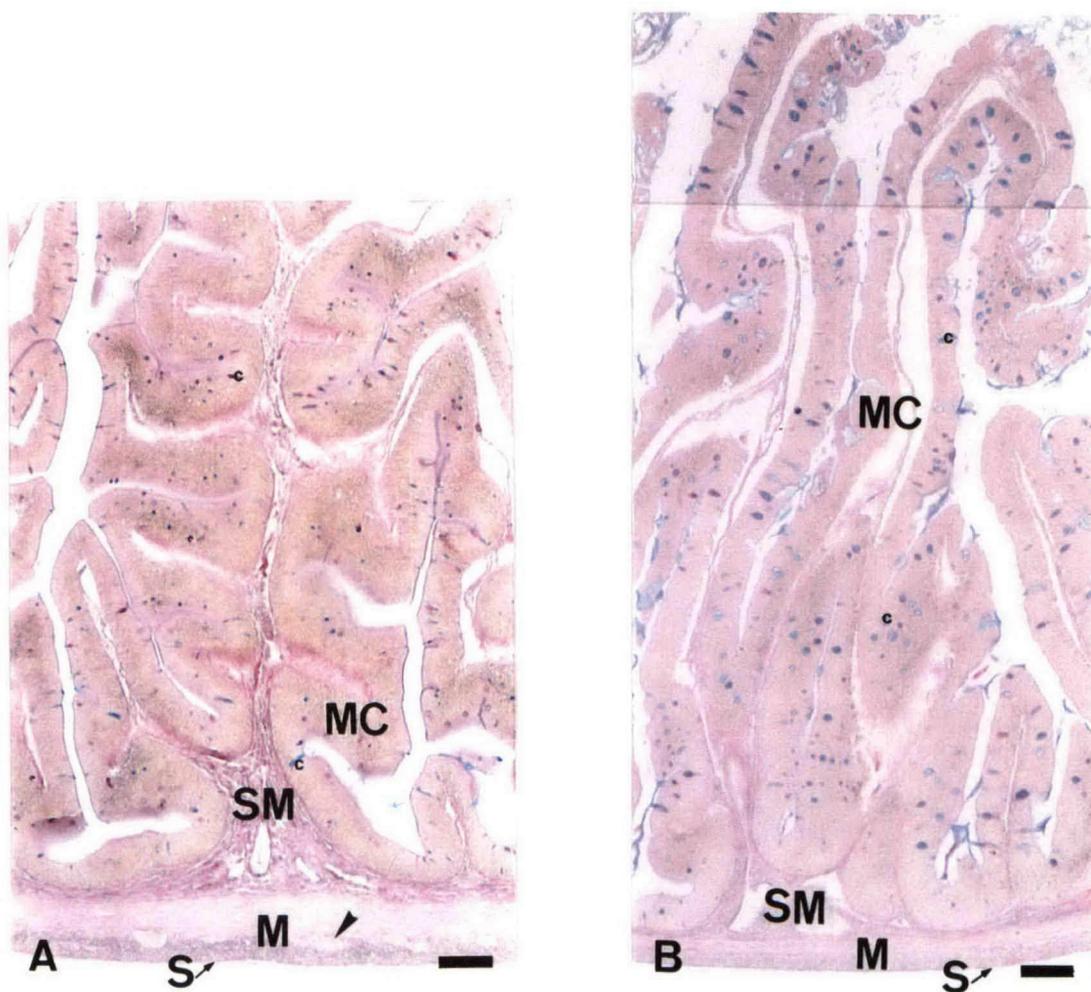


FIGURA 17

TOPOGRAFIA DO INTESTINO MÉDIO I

- A) Porção proximal do intestino médio de *N. neglecta* em corte transversal. Observar as vilosidades bastante longas (\longrightarrow) e intensamente ramificadas ($\longleftarrow\longrightarrow$).
(**MC**) mucosa, (**SM**) submucosa, (**M**) muscular e (**S**) serosa.
Coloração: HE
Escala: 100 μ m
- B) Corte transversal da porção proximal do intestino médio de *T. newnesi*, evidenciando a presença de vilosidades longas (\longrightarrow), não ramificadas.
(**MC**) mucosa, (**SM**) submucosa, (**M**) muscular e (**S**) serosa.
Coloração: HE
Escala: 100 μ m
- C) Detalhe da superfície das vilosidades da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta*. Notar como a sua superfície é bastante irregular.
- D) Porção proximal do intestino médio de *T. newnesi*, evidenciando o padrão das vilosidades dessa região do intestino. Observar a diferença de tamanho entre estas e àquelas encontrados nessa mesma porção do intestino médio de *N. neglecta*.

FIGURA 17

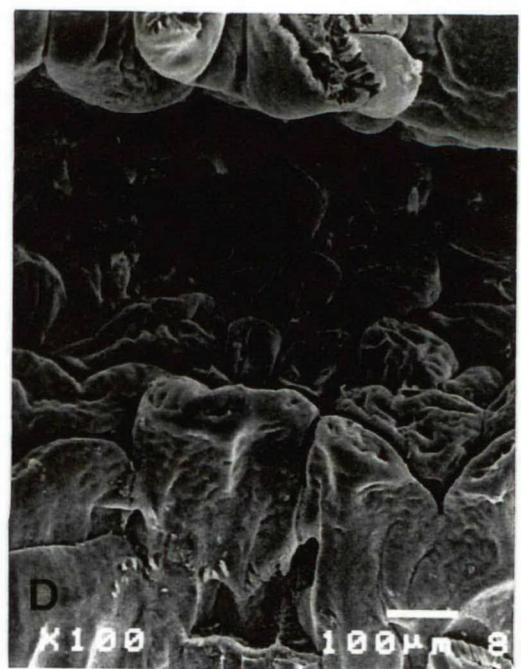
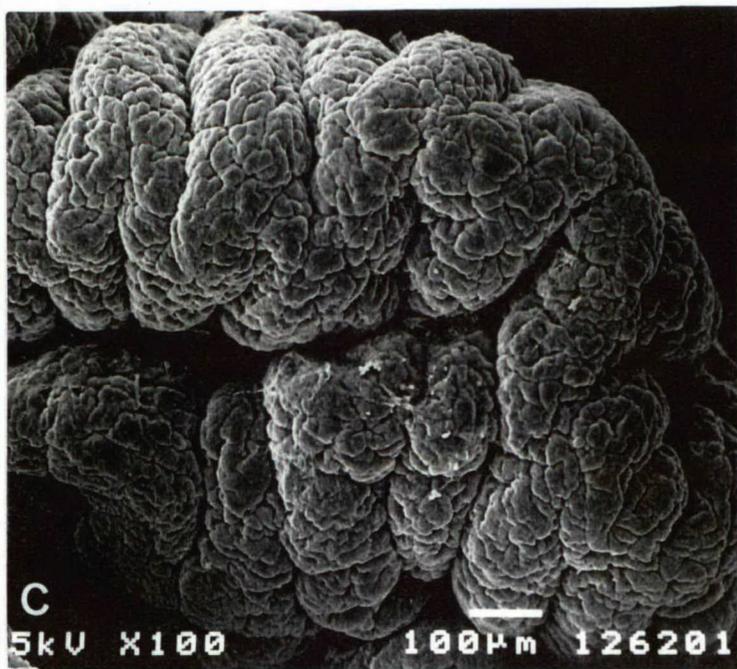
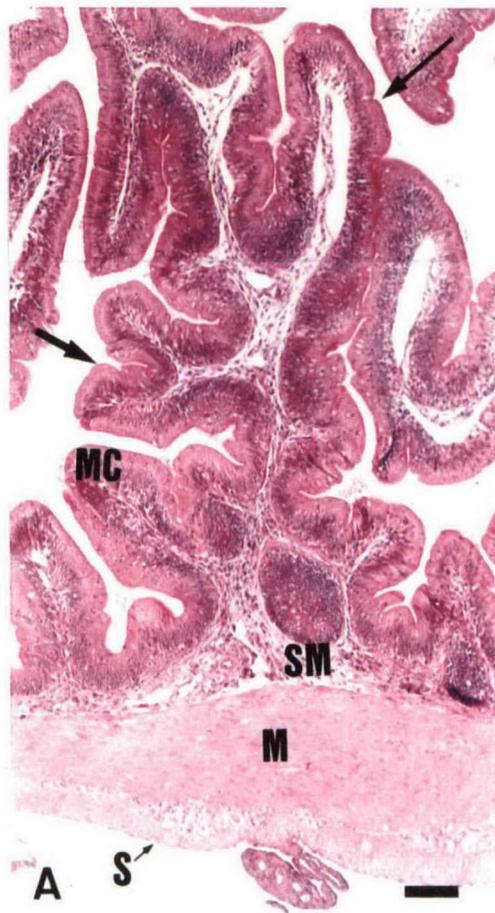


FIGURA 18

TOPOGRAFIA DO INTESTINO MÉDIO II

- A)** Porção distal do intestino médio de *N. neglecta*, em corte transversal. Notar a diminuição no tamanho e no número de ramificações das vilosidades dessa região em relação à porção proximal do intestino médio dessa mesma espécie.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular e (S) serosa.
Coloração: HE
Escala: 100µm
- B)** Porção distal do intestino médio de *T. newnesi* em corte transversal, evidenciando a presença de vilosidades mais curtas e encurvadas.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular e (S) serosa.
Coloração: HE
Escala: 100µm
- C)** Vilosidades da porção distal do intestino médio de *N. neglecta* em microscopia eletrônica de varredura. Notar a diminuição no tamanho das vilosidades, com consequente aumento do número, quando comparadas com as vilosidades da porção proximal.
- D)** Vista do padrão superficial das vilosidades da porção distal do intestino médio de *T. newnesi*.

FIGURA 18

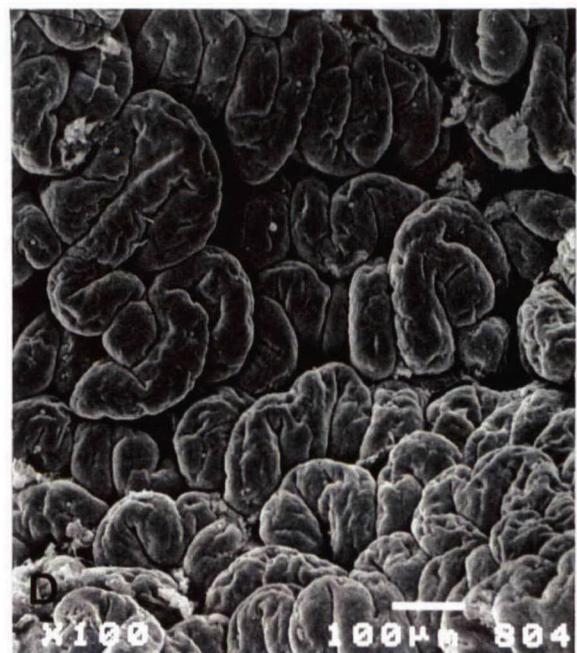
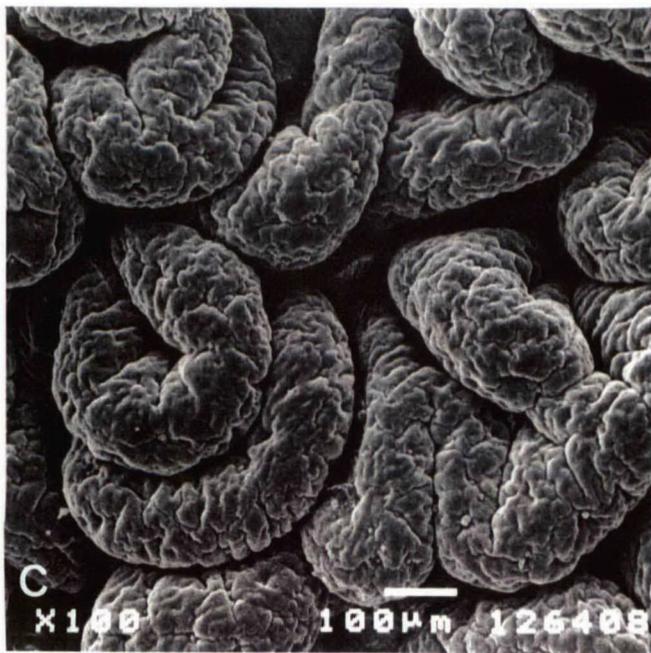
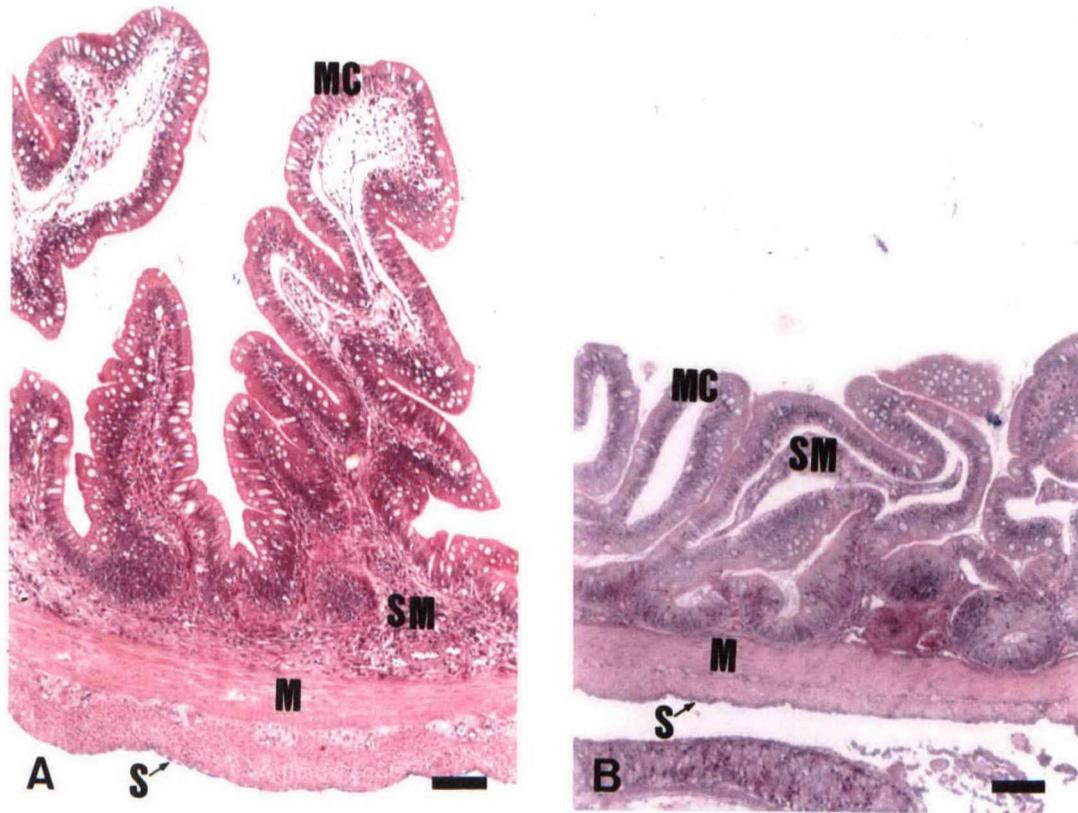


FIGURA 19

MUCOSA DO INTESTINO MÉDIO I

- A) Detalhe dos enterócitos do intestino médio de *N. neglecta*. Notar que o citoplasma subapical apresenta -se menos basófilo (*).
(e) enterócito, (—→) borda em escova, (N) núcleo do enterócito, (n) nucléolo e (→) linfócitos.
Coloração: HE
Escala: 10µm
- B) Detalhe dos enterócitos do intestino médio de *T. newnesi*.
(e) enterócito, (—→) borda em escova, (N) núcleo do enterócito, (n) nucléolo, (c) célula caliciforme e (→) linfócitos.
Coloração: HE
Escala: 10µm
- C) Corte semifino da mucosa da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta*. Observar a presença de vacúolos com conteúdo amorfo (*) no citoplasma subapical dos enterócitos.
(e) enterócito, (—→) borda em escova, (N) núcleo do enterócito, (→) linfócitos e (gb) célula com grânulos em bastonete.
Coloração: Azul toluidina
Escala: 10µm
- D) Detalhe da mucosa da porção mediana do intestino médio de *T. newnesi*, em corte semifino. Observar a presença de granulações no citoplasma apical e basal dos enterócitos.
(e) enterócito; (—→) borda em escova, (N) núcleo do enterócito, (c) célula caliciforme, (★) mastócito e (V) vaso sanguíneo.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 10µm
- E) Mucosa da porção mediana do intestino médio de *N. neglecta* em corte semifino, onde não são mais observados vacúolos no citoplasma dos enterócitos.
(e) enterócito, (—→) borda em escova, (N) núcleo do enterócito, (c) célula caliciforme e (→) linfócitos.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 10µm
- F) Corte semifino da mucosa da porção distal do intestino médio de *T. newnesi*. Notar a presença de grande vacúolos contendo material amorfo (*) no citoplasma dos enterócitos.
(e) enterócito, (—→) borda em escova e (c) célula caliciforme.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 10µm

FIGURA 19

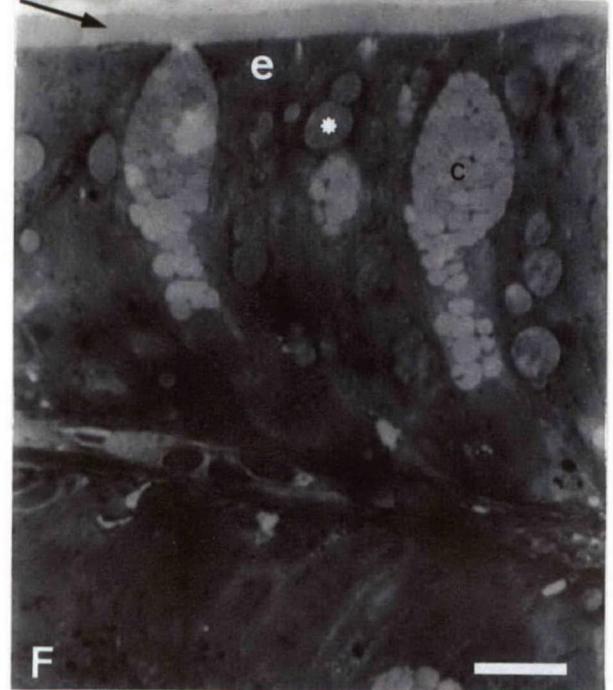
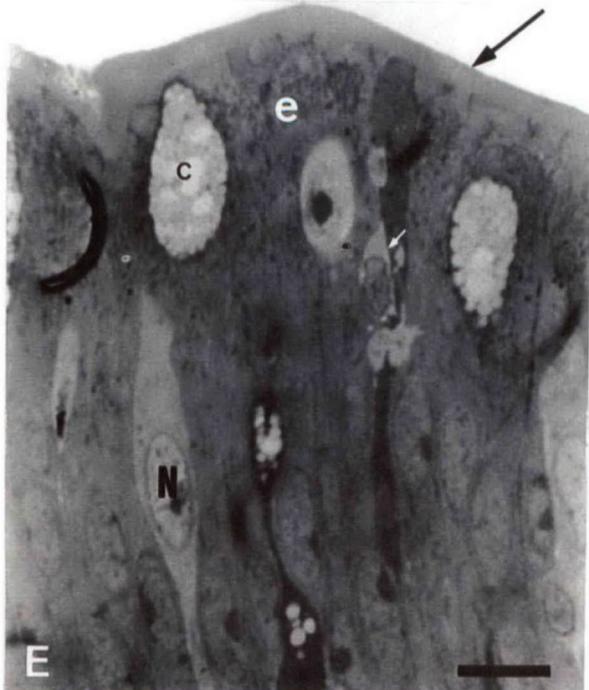
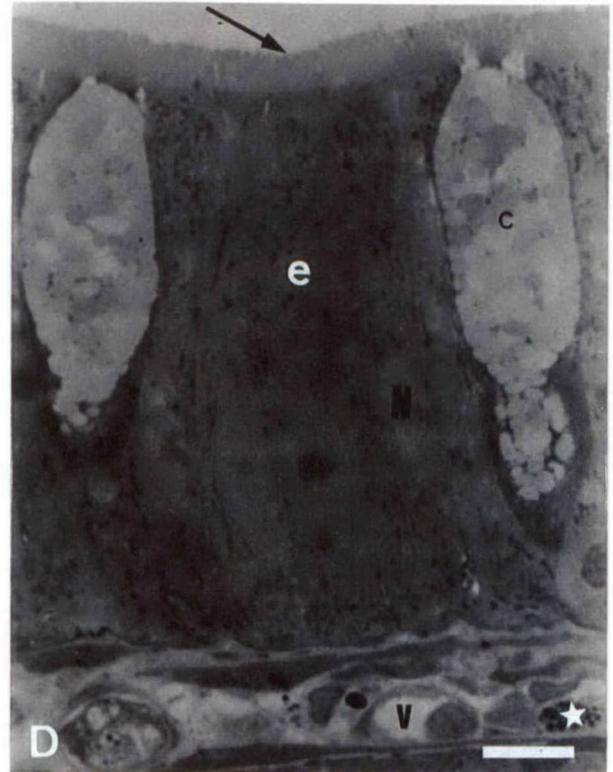
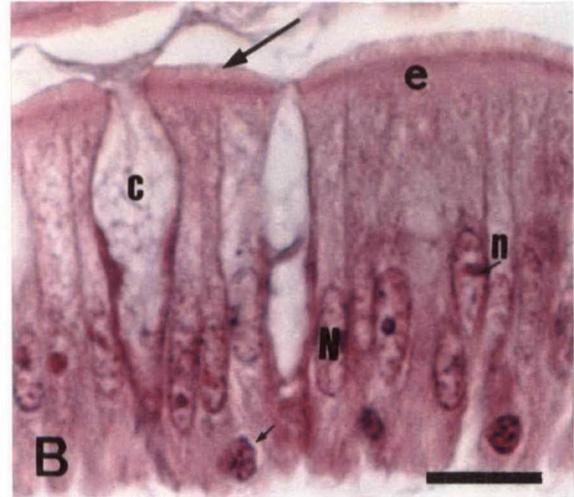


FIGURA 20

DISTRIBUIÇÃO DAS CÉLULAS CALICIFORMES NO INTESTINO MÉDIO

- A)** Distribuição das células caliciformes no epitélio da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta*.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm
- B)** Distribuição das células caliciformes no epitélio da porção proximal do intestino médio de *T. newnesi*. Observar que a afinidade pelo Alcian blue pH 2,5 é maior.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm
- C)** Porção distal do intestino médio de *N. neglecta*, evidenciando a distribuição das células caliciformes na mucosa intestinal. Notar que a afinidade pelos corantes foi maior quando comparada com a observada na porção proximal.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm
- D)** Porção distal do intestino médio de *T. newnesi*, onde observa-se um aumento no número das células secretoras em relação à porção proximal do intestino médio dessa espécie.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm

FIGURA 20

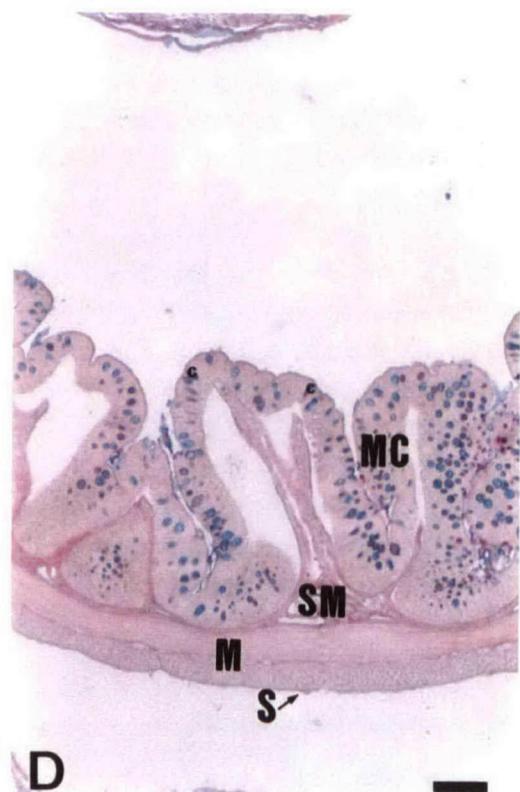
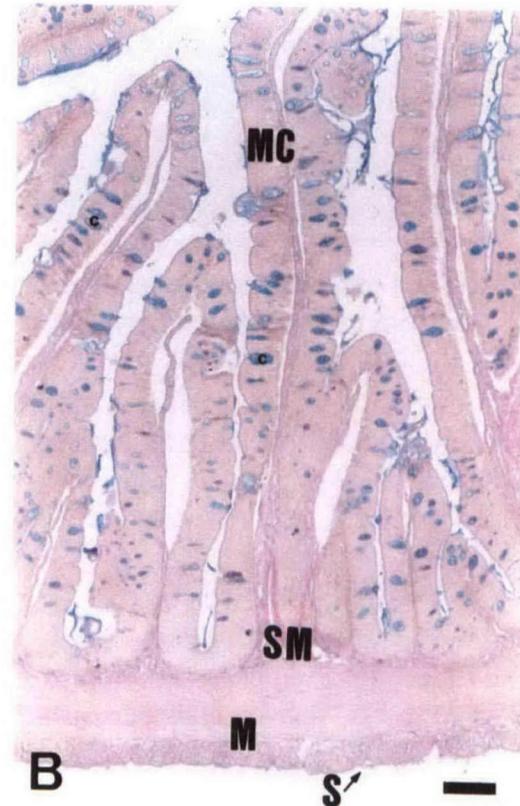
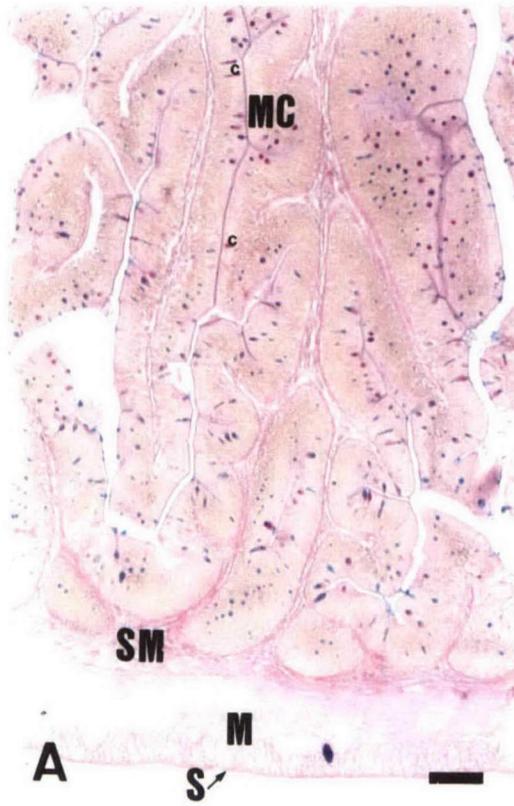


FIGURA 21

HISTOQUÍMICA DAS CÉLULAS CALICIFORMES DO INTESTINO MÉDIO

- A)** Células caliciformes (c) da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta*, evidenciando a presença de mucossustâncias ácidas (*) e neutras (★) aparentemente em vesículas de secreção separadas.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 10µm
- B)** Células caliciformes (c) da porção distal do intestino médio de *T. newnesi*. Notar a afinidade do citoplasma, especialmente apical, dos enterócitos pelo PAS (★).
Coloração: PAS/Verde-luz
Escala: 10µm
- C)** Porção mediana do intestino médio de *N. neglecta*, evidenciando a presença de uma célula caliciforme (c), com afinidade tanto pelo PAS como pelo Alcian blue pH 2,5. Observar a reatividade do citoplasma apical dos enterócitos pelo PAS (★).
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 10µm
- D)** Células caliciformes (c) da mucosa da porção distal do intestino médio de *T. newnesi*, mostrando a presença de mucossustâncias ácidas, detectadas pela sua reatividade ao Alcian blue pH 2,5. Observar também, a afinidade do citoplasma apical dos enterócitos pelo corante Alcian blue pH 2,5 (*)
Coloração: Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 10µm
- E)** Porção mediana do intestino médio de *N. neglecta*, mostrando a presença de mucossustâncias ácidas, ricas em grupamentos sulfatados, sendo produzidas e secretadas pelas células caliciformes (c).
Coloração: Alcian blue pH 1,0/Verde-luz
Escala: 10µm
- F)** Célula caliciforme (c) do intestino médio de *T. newnesi*, mostrando a presença de mucossustâncias ácidas ricas em grupamentos sulfatados, detectadas pela reação positiva ao Alcian blue pH 1,0.
Coloração: Alcian blue pH 1,0/Verde-luz
Escala: 10µm

FIGURA 21

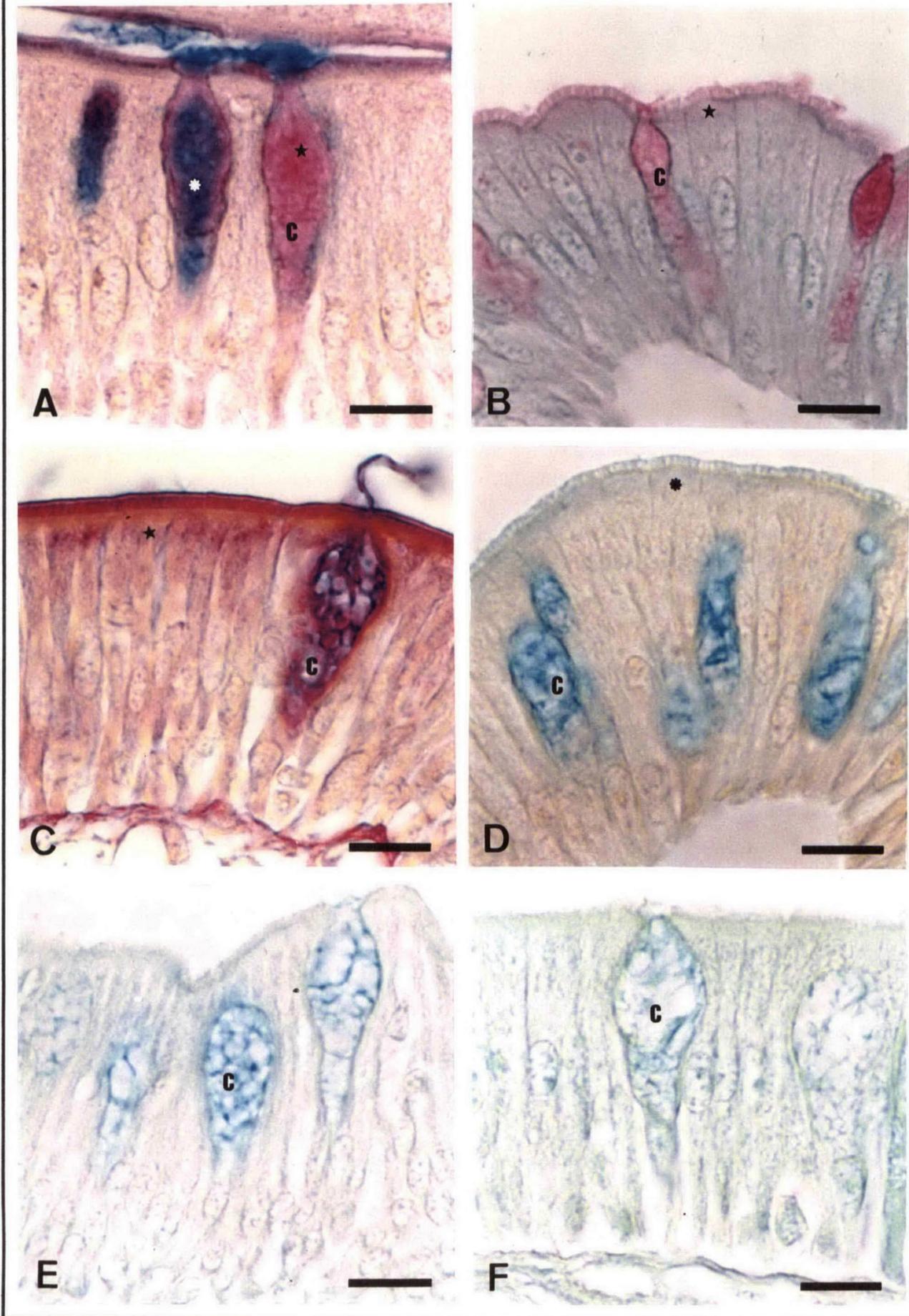


FIGURA 22

MUCOSA DO INTESTINO MÉDIO II

- A)** Enterócitos da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta*, evidenciando a presença de gotículas (*) e partículas (▷) lipídicas no citoplasma apical.
(e) enterócitos, (→) microvilosidades, (▷) mitocôndrias, (►) complexo juncional e (☆) trama terminal.
Escala: 2µm
- B)** Detalhe da região basal do epitélio da porção proximal do intestino médio e *N. neglecta*. Observar a presença de partículas lipídicas nos espaços intercelulares (◼) e no tecido conjuntivo subjacente (◼).
(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (→) linfócitos, (▷) lâmina basal e (TC) tecido conjuntivo.
Escala: 2µm
- C)** Porção mediana do intestino médio de *N. neglecta*, onde gotículas ou partículas lipídicas não são mais visualizadas. Notar a presença de grânulos escuros (▷) na matriz mitocondrial.
(e) enterócitos, (→) microvilosidades, (▷) mitocôndrias, (☆) trama terminal, (►) complexo juncional e (c) célula caliciforme.
Escala: 2µm
- D)** Porção mediana do intestino médio de *N. neglecta*, evidenciando a região basal do epitélio intestinal. Observar a presença de numerosas invaginações das membranas baso-laterais dos enterócitos e a sua associação com as mitocôndrias (▷). Notar a presença de grânulos escuros na matriz mitocondrial.
(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (→) linfócito, (▷) lâmina basal e (TC) tecido conjuntivo.
Escala: 2µm
- E)** Enterócitos da porção distal do intestino médio de *N. neglecta*.
(e) enterócitos, (→) microvilosidades, (▷) mitocôndrias, (☆) trama terminal, (►) complexo juncional e (c) célula caliciforme.
Escala: 1µm
- F)** Região basal do epitélio da porção distal do intestino médio de *N. neglecta*. Observar as numerosas invaginações da membrana baso-lateral dos enterócitos (▷), às quais mitocôndrias alongadas estão associadas (▷).
(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (▷) lâmina basal, (TC) tecido conjuntivo.
Escala: 2µm

FIGURA 22

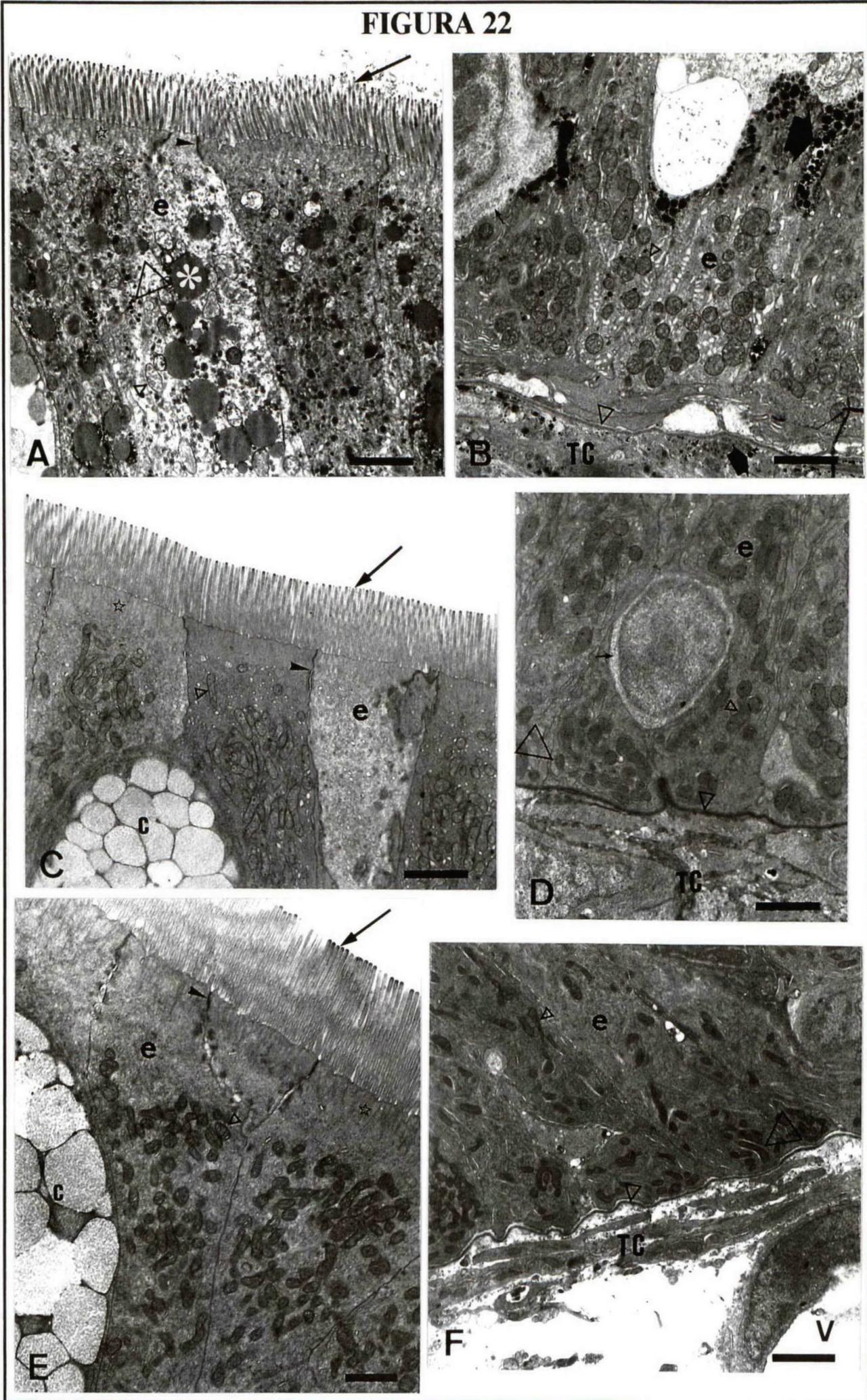


FIGURA 23

MUCOSA DO INTESTINO MÉDIO III

- A)** Epitélio da porção proximal do intestino médio de *T. newnesi*. Observar a presença de mitocôndrias alongadas (▷).
(e) enterócitos, (→) microvilosidades e (✱) inclusões citoplasmáticas.
Escala: 3µm
- B)** Detalhe da região do epitélio da porção proximal do intestino médio de *T. newnesi*, onde pode ser observada a presença de numerosas invaginações da membrana basolateral dos enterócitos (▷), mitocôndrias (▷) e partículas, provavelmente lipídicas, no citoplasma basal dos enterócitos, envoltas por membrana (▶) e, livres no espaço intercelular (▲) e no tecido conjuntivo subjacente (▲).
(e) enterócitos, (▷) lâmina basal e (TC) tecido conjuntivo.
Escala: 2µm
- C)** Enterócitos da porção mediana do intestino médio de *T. newnesi*, evidenciando a presença de gotículas (✱) e partículas (▶) lipídicas no citoplasma.
(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (→) microvilosidades e (▶) complexo juncional.
Escala: 2µm
- D)** Porção mediana do intestino médio de *T. newnesi*. Detalhe da região basal do epitélio, mostrando a presença de espaços intercelulares (★), nos quais podem ser visualizadas partículas lipídicas (▲), que também são encontradas no tecido conjuntivo adjacente (▲). Observar a presença de invaginações da membrana basolateral dos enterócitos (▷) e de mitocôndrias alongadas (▷).
(e) enterócitos, (▷) lâmina basal e (TC) tecido conjuntivo.
Escala: 2µm
- E)** Porção distal do intestino médio de *T. newnesi*. Observar a presença de gotículas (✱) e partículas (▶) lipídicas no citoplasma apical dos enterócitos.
(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (→) microvilosidades e (c) célula caliciforme.
Escala: 2µm
- F)** Região basal do epitélio da porção distal do intestino médio de *T. newnesi*, mostrando a presença de partículas lipídicas no espaço intercelular (▲) e no tecido conjuntivo subjacente (▲), assim como, no citoplasma dos enterócitos, dentro de vesículas (▶).
(e) enterócitos, (N) núcleo do enterócito, (▷) mitocôndrias, (▷) lâmina basal e (TC) tecido conjuntivo.
Escala: 1µm

FIGURA 23

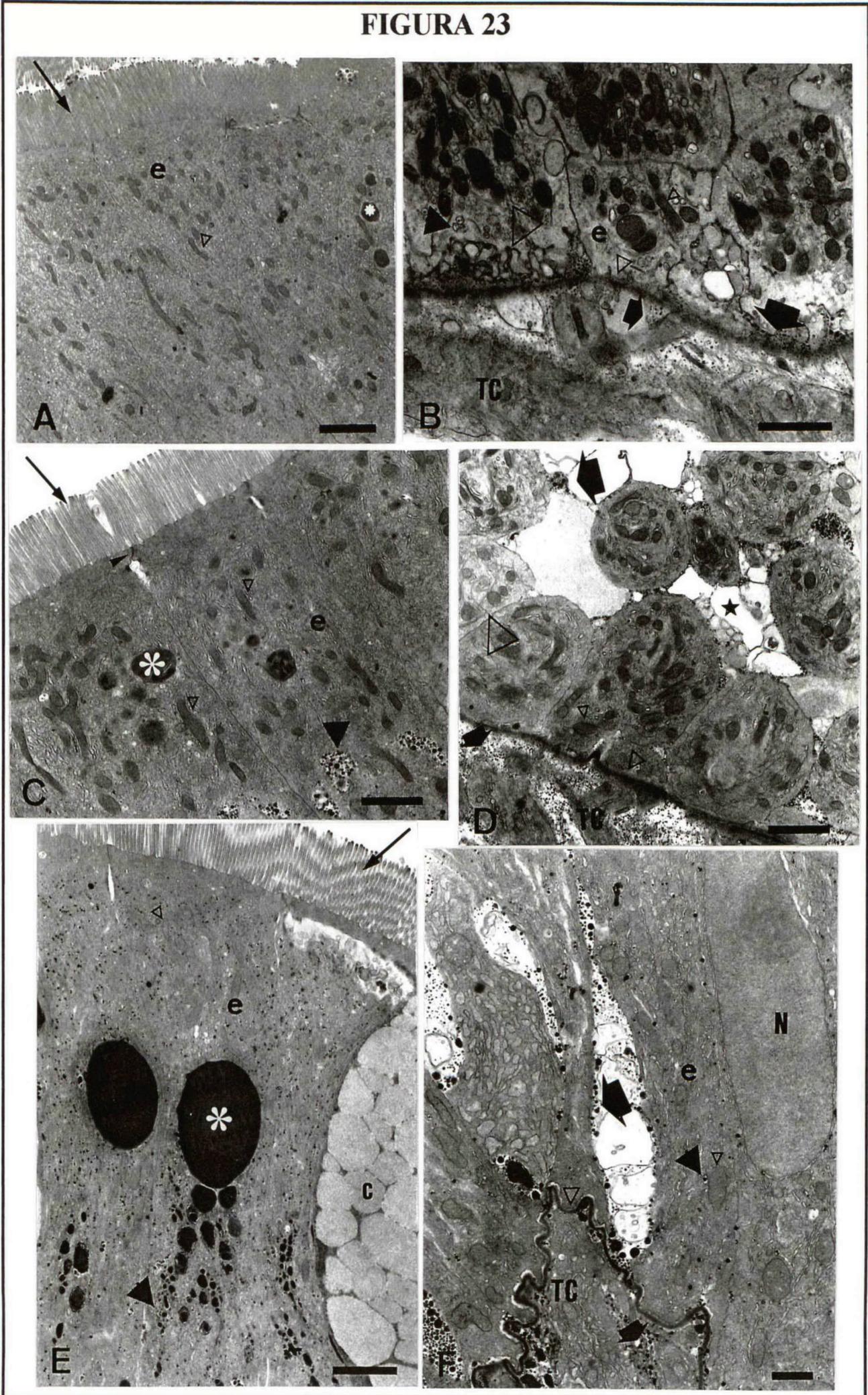


FIGURA 24

VALVA ÍLEO-RETAL

- A)** Valva íleo-retal do intestino de *N. neglecta* em corte longitudinal. Formada por uma projeção das camadas muscular interna, submucosa e mucosa (➡).
(**IM**) intestino médio e (**IP**) intestino posterior.
Coloração: HE
Escala: 200µm
- B)** Corte longitudinal da valva íleo-retal do intestino de *T. newnesi*, a qual é formada por uma projeção das camadas muscular interna, submucosa e mucosa (➡).
(**IM**) intestino médio e (**IP**) intestino posterior.
Coloração: HE
Escala: 200µm
- C)** Valva íleo-retal do intestino de *N. neglecta* em microscopia eletrônica de varredura, mostrando a projeção formada (★).
(**IM**) intestino médio e (**IP**) intestino posterior.
- D)** Valva íleo-retal do intestino de *T. newnesi* em microscopia eletrônica de varredura. Observar que a projeção formada tem a forma de um funil (★).
(**IM**) intestino médio e (**IP**) intestino posterior.

FIGURA 24

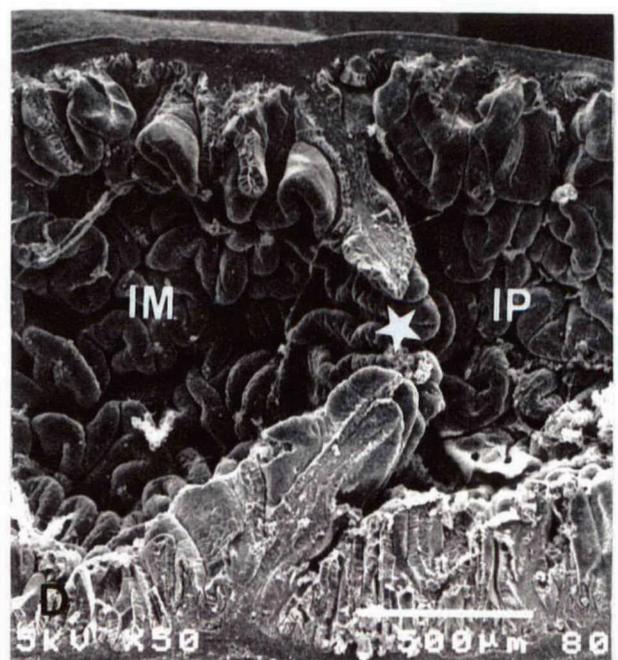
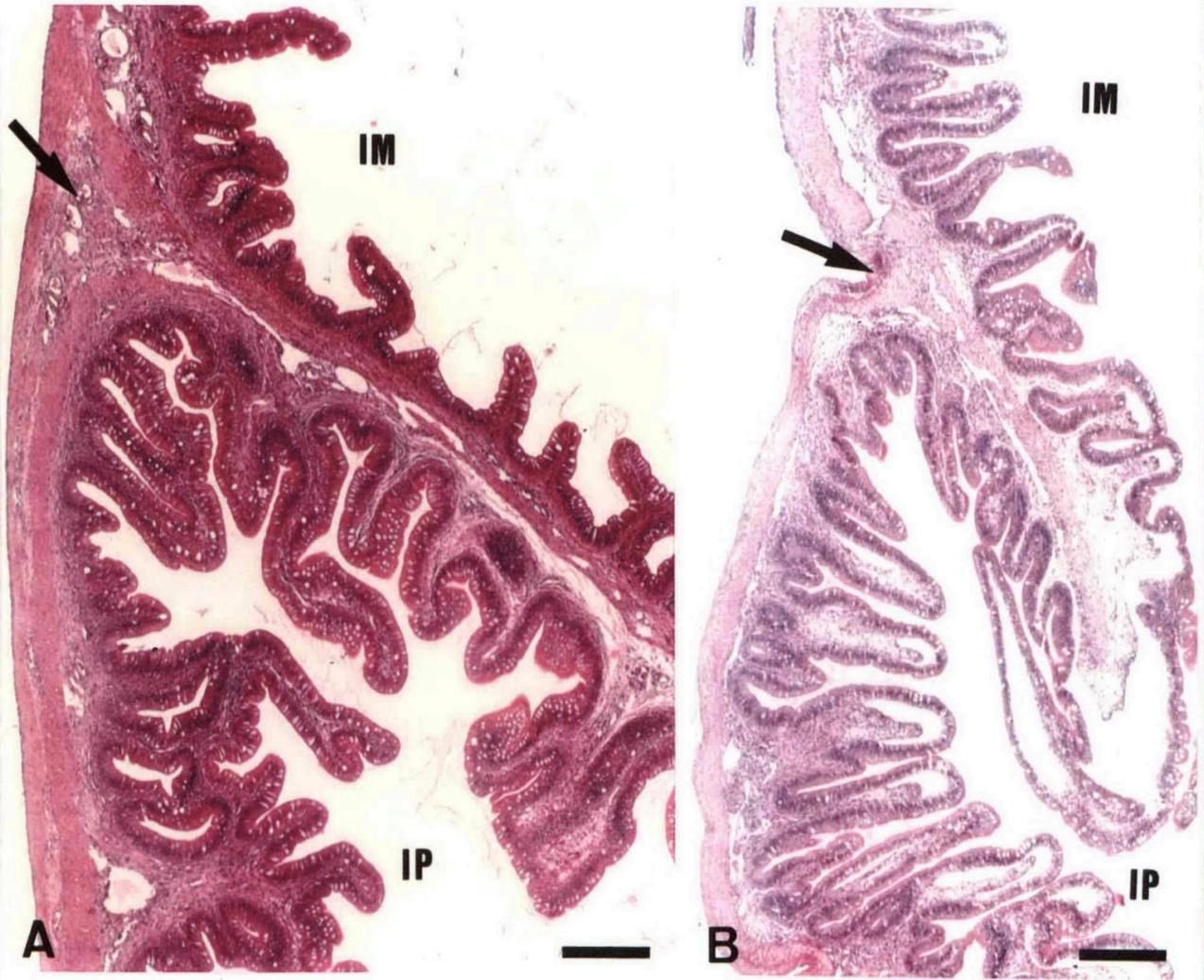


FIGURA 25

TOPOGRAFIA DO INTESTINO POSTERIOR I

- A) Porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta* em corte transversal, evidenciando o espessamento das camadas muscular e submucosa, assim como, a presença de vilosidades ramificadas (➡).
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular e (S) serosa.
Coloração: HE
Escala: 100µm
- B) Corte transversal da porção mediana do intestino posterior de *N. neglecta*, mostrando a intensa ramificação das vilosidades (➡), as quais chegam até o centro do lúmen intestinal (L).
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular e (S) serosa.
Coloração: HE
Escala: 100µm
- C) Corte transversal da porção distal do intestino posterior de *N. neglecta*. Notar a presença da camada muscular da mucosa (MM) e a diminuição no tamanho das vilosidades, assim como, das suas ramificações.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular e (S) serosa.
Coloração: HE
Escala: 100µm

FIGURA 25

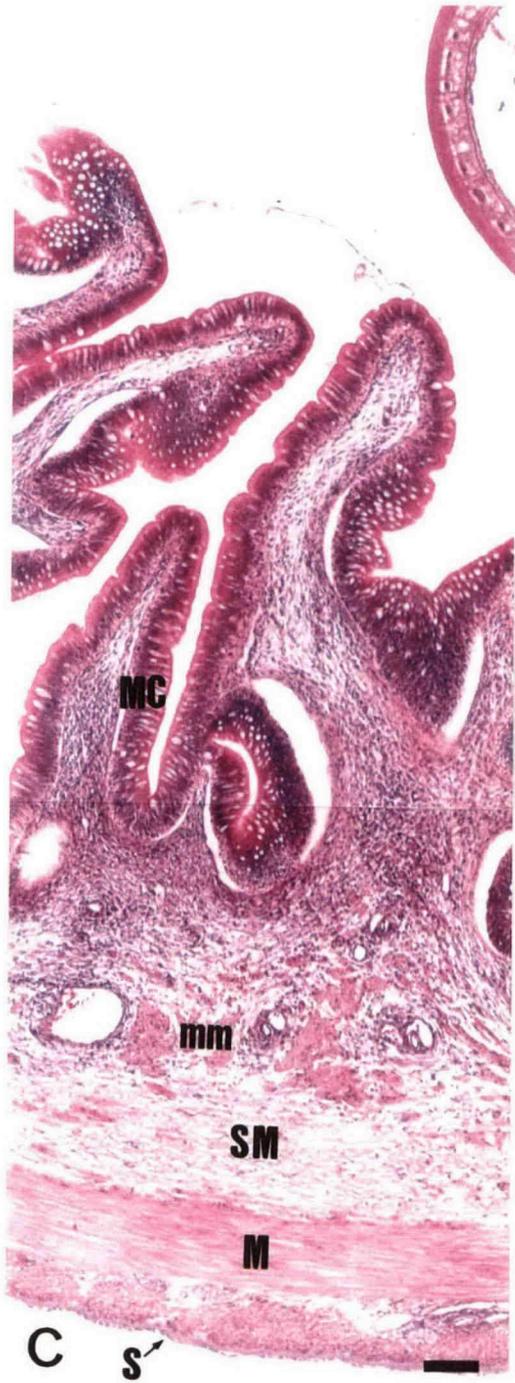
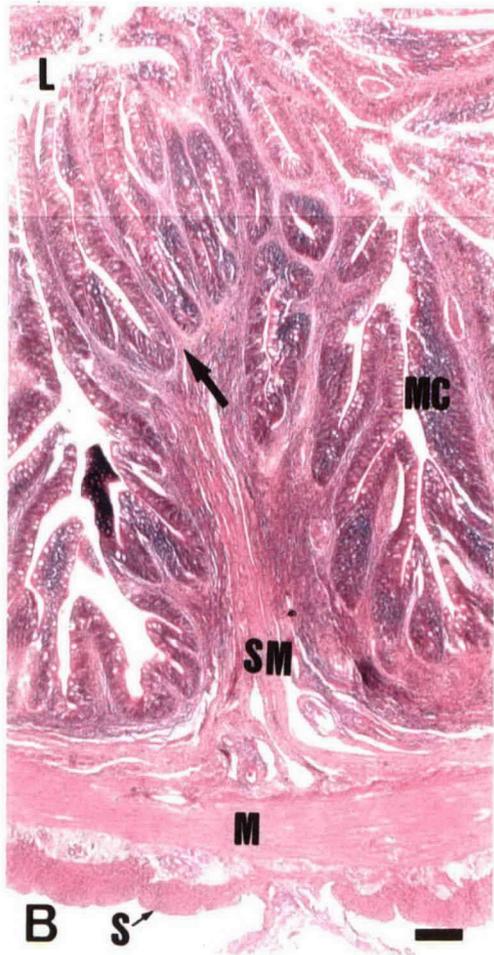
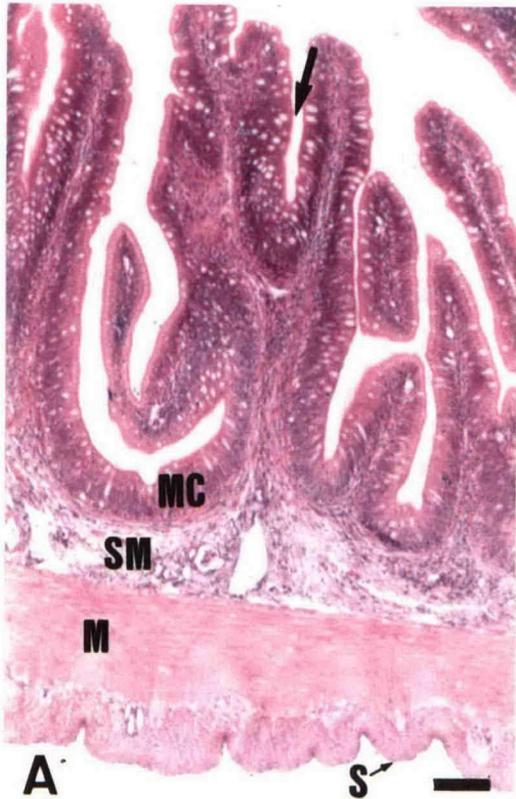


FIGURA 26

TOPOGRAFIA DO INTESTINO POSTERIOR II

- A)** Porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi*, em corte transversal. Observar que as vilosidades são curtas e não há espessamento significativo da camada muscular.
(**MC**) mucosa, (**SM**) submucosa, (**M**) muscular e (**S**) serosa.
Coloração: HE
Escala: 100µm
- B)** Corte longitudinal da porção distal do intestino posterior de *T. newnesi*, no qual é possível notar um espessamento das camadas muscular e submucosa, assim como, um aumento no tamanho das vilosidades intestinais.
(**MC**) mucosa, (**SM**) submucosa e (**M**) muscular.
Coloração: PAS/Verde-luz
Escala: 100µm
- C)** Porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta* em microscopia eletrônica de varredura. Notar que a superfície das vilosidades não se apresenta enrugada como descrito para o intestino médio dessa espécie.
- D)** Porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi* em microscopia eletrônica de varredura, mostrando as vilosidade encurvadas ().
- E)** Vilosidades da porção distal do intestino posterior de *N. neglecta*, em microscopia eletrônica de varredura. Notar que nessa porção do intestino as vilosidades são mais espessas do que na porção proximal.
- F)** Microscopia eletrônica de varredura da porção distal do intestino posterior de *T. newnesi*. Observar que as vilosidades dessa porção intestinal são mais espessadas do que àquelas da porção proximal do intestino posterior dessa mesma espécie.

FIGURA 26

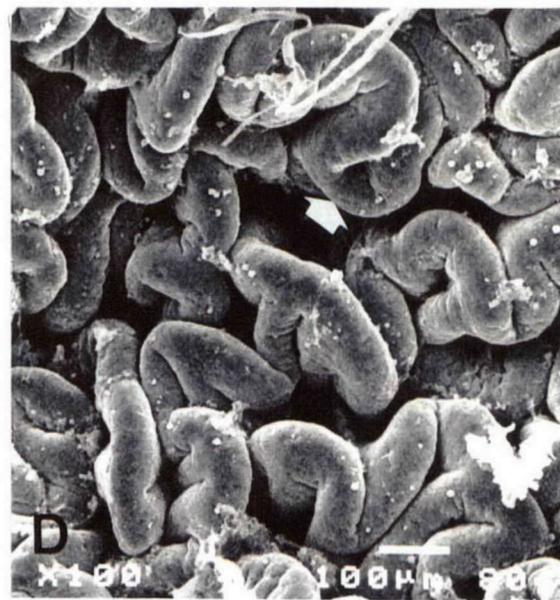
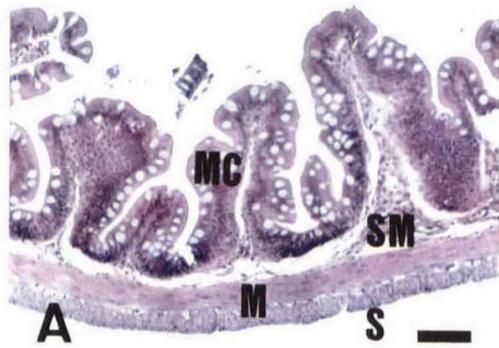


FIGURA 27

MUCOSA DO INTESTINO POSTERIOR I

- A)** Mucosa da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*. Observar a baixa afinidade do citoplasma apical dos enterócitos pelo HE (*).
(e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos, (→) borda em escova, (c) célula caliciforme e (->) linfócitos.
Coloração: HE
Escala: 10µm
- B)** Mucosa da porção distal do intestino posterior de *T. newnesi*, evidenciando a presença de vacúolos no citoplasma apical dos enterócitos (★) e a basofilia do citoplasma perinuclear (☆).
(e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos, (→) borda em escova, (c) células caliciformes e (->) linfócitos.
Coloração: HE
Escala: 10µm
- C)** Corte semifino da mucosa da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*. Observar que os enterócitos apresentam vacúolos no citoplasma apical (*) e granulações escuras no citoplasma supranuclear e basal.
(e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos, (→) borda em escova e (c) células caliciformes.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 10µm
- D)** Porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi*, em corte semifino. Observar que o citoplasma apical do enterócitos apresenta numerosas vesículas, as quais aumentam de volume em direção ao núcleo, além disso, o seu conteúdo torna-se mais escuro (★).
(e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos, (→) borda em escova e (c) célula caliciforme.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 10µm
- E)** Epitélio da porção distal do intestino posterior de *N. neglecta*, em corte semifino. Notar que os enterócitos não apresentam vacúolos em seu citoplasma, somente são visualizadas granulações escuras no citoplasma apical. A borda estriada é menos evidente nessa porção intestinal.
(e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos, (→) borda em escova e (c) célula caliciforme.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 10µm
- F)** Corte semifino da porção distal do intestino posterior de *T. newnesi*, mostrando pequena quantidade de vacúolos no citoplasma supranuclear (★) e a membrana basal bem evidente (▷)
(e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos e (→) borda em escova.
Coloração: HE
Escala: 10µm

FIGURA 27

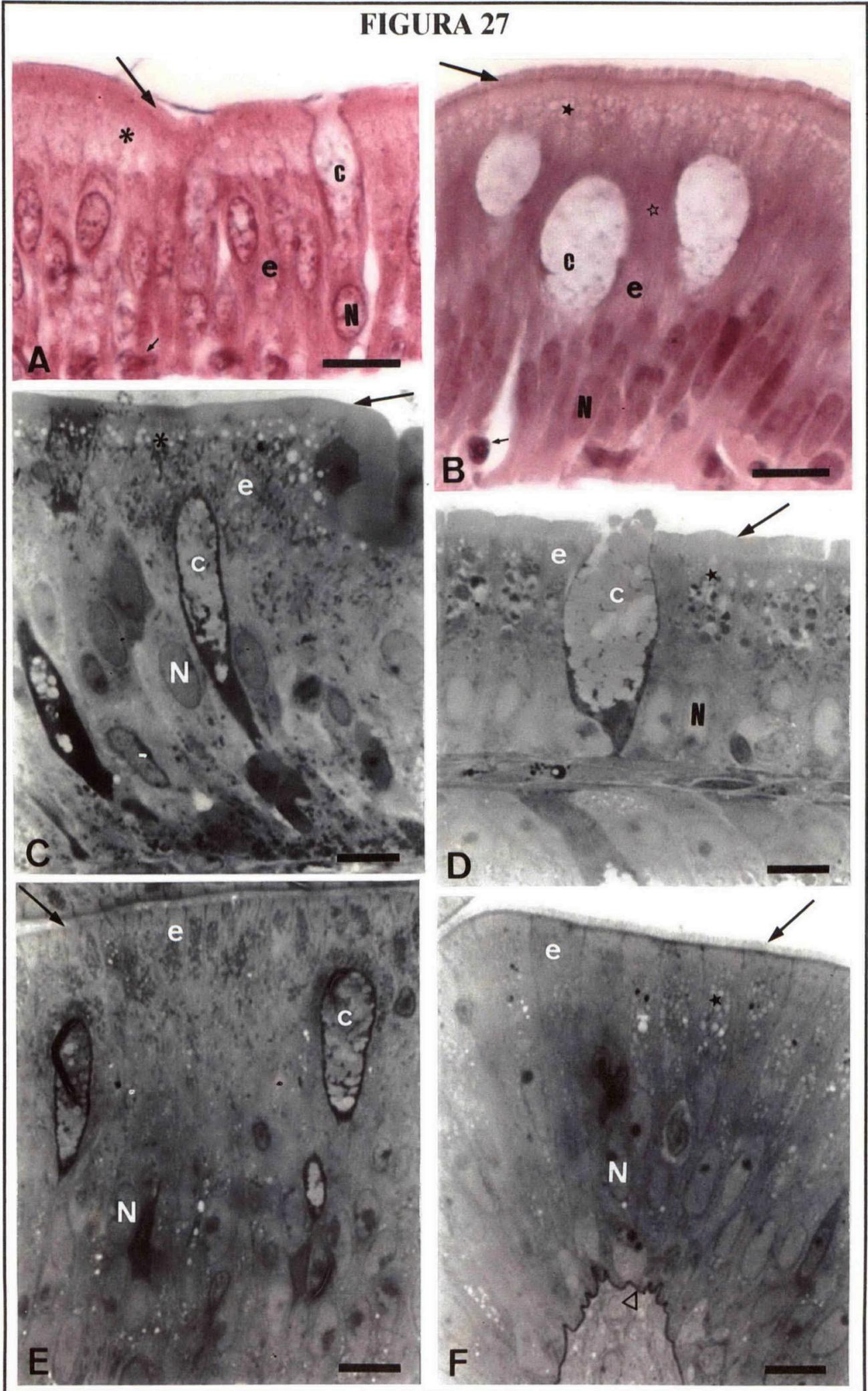


FIGURA 28

DISTRIBUIÇÃO DAS CÉLULAS CALICIFORMES NO INTESTINO POSTERIOR

- A) Distribuição das células caliciformes na porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm
- B) Corte transversal da porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi*, evidenciando a presença de células caliciformes com pouca afinidade pelo Alcian blue pH 2,5.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm
- C) Porção distal do intestino posterior de *N. neglecta*, mostrando a distribuição das células caliciformes. Notar a forte afinidade dessas células pelo PAS e pelo Alcian blue pH 2,5.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (mm) muscular da mucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm
- D) Distribuição das células caliciformes no epitélio da porção mediana do intestino posterior de *T. newnesi*. Observar que a afinidade das mucossubstâncias produzidas e secretadas pelas células caliciformes é maior nessa região, quando comparada com a porção proximal do intestino posterior dessa mesma espécie.
(MC) mucosa, (SM) submucosa, (M) muscular, (S) serosa e (c) células caliciformes.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/ Orange G
Escala: 100µm

FIGURA 28

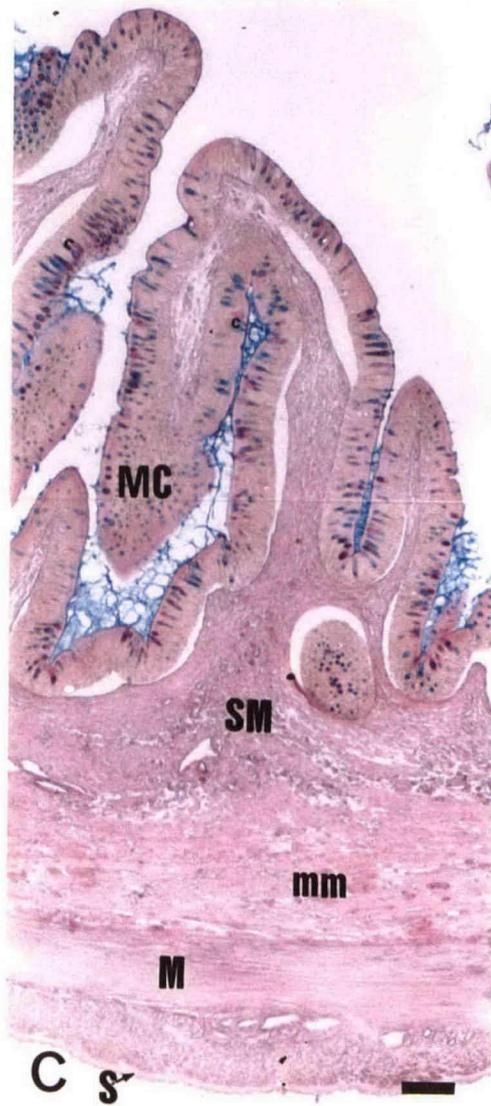
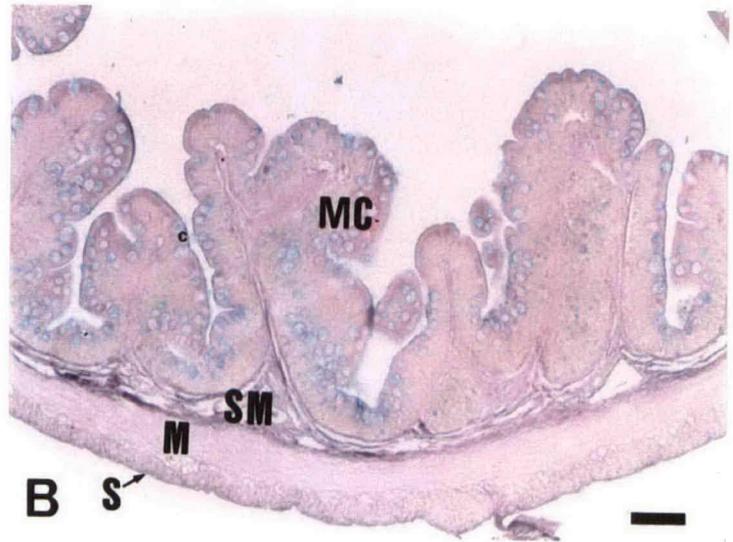
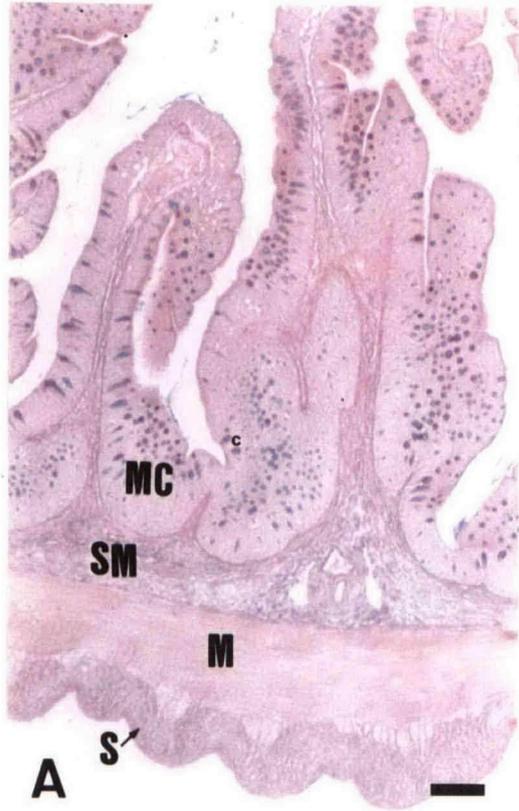


FIGURA 29

HISTOQUÍMICA DAS CÉLULAS CALICIFORMES DO INTESTINO POSTERIOR

- A) Células caliciformes da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*, evidenciando a afinidade do conteúdo dessas células pelo PAS (c). Notar que o citoplasma apical dos enterócitos apresentaram fraca reatividade ao PAS (★).
Coloração: PAS/Verde-luz
Escala: 10µm
- B) Porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi*, mostrando que as células caliciformes apresentam fraca reatividade ao PAS (c). Observar a afinidade do citoplasma subapical pelo PAS (★).
Coloração: PAS/ Verde-luz
Escala: 10µm
- C) Epitélio da porção mediana do intestino posterior de *N. neglecta*, evidenciando a presença de mucossubstâncias ácidas nos grânulos de secreção das células caliciformes (c).
Coloração: Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 10µm
- D) Células caliciformes da porção distal do intestino posterior de *T. newnesi*, indicando a presença de mucossubstâncias ácidas nos grânulos de secreção das células caliciformes (c). Notar a presença de reação fracamente positiva ao Alcian blue pH 2,5 no citoplasma subapical (*).
Coloração: Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 10µm
- E) Porção distal do intestino posterior de *N. neglecta*, evidenciando a presença de mucossubstâncias ácidas, ricas em grupamentos sulfatados, nos grânulos de secreção das células caliciformes (c).
Coloração: Alcian blue pH 1,0/Verde-luz
Escala: 10µm
- F) Porção mediana do intestino posterior de *T. newnesi*, indicando a presença de mucossubstâncias ácidas, ricas em grupamentos sulfatados, nos grânulos de secreção das células caliciformes (c).
Coloração: Alcian blue pH 1,0/Verde-luz
Escala: 10µm

FIGURA 29

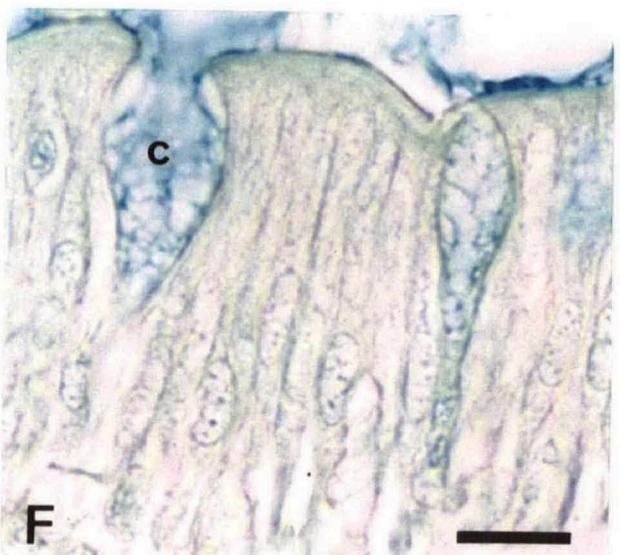
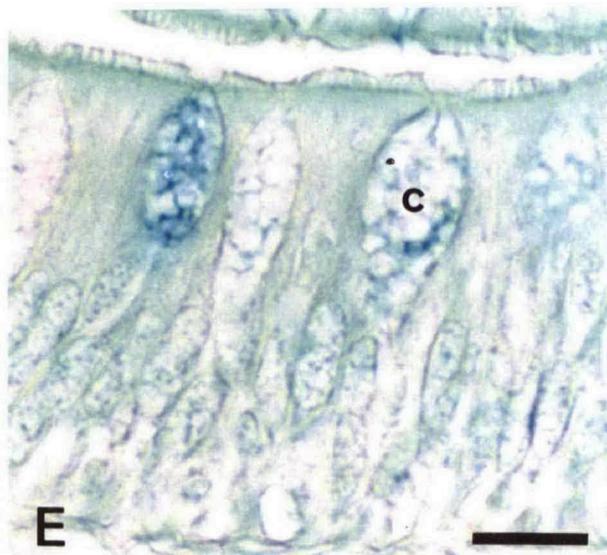
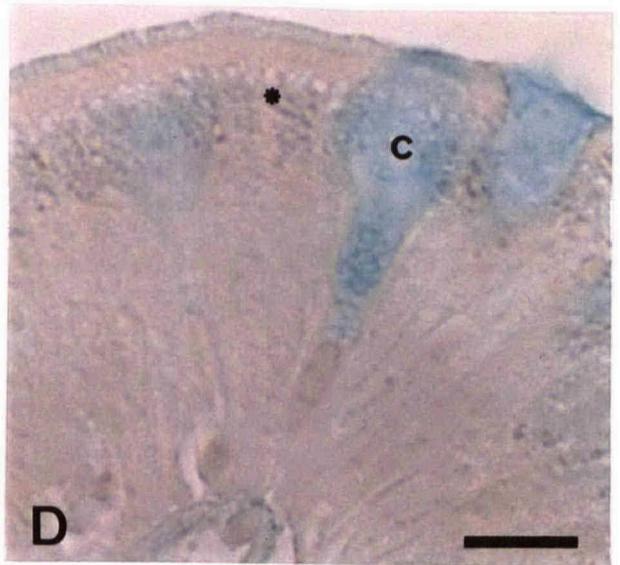
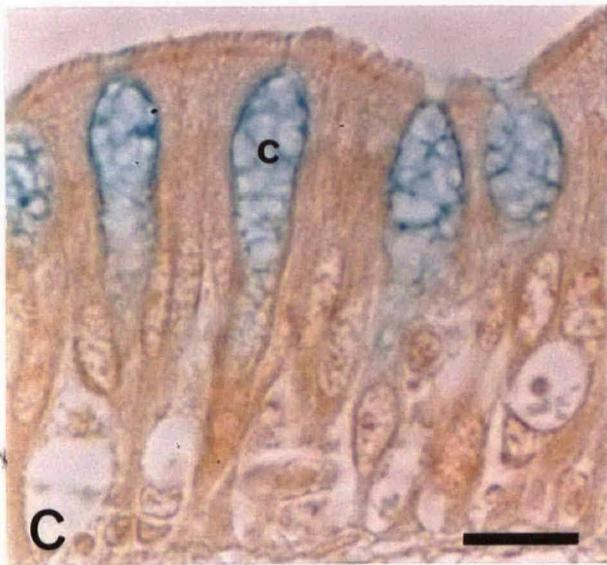
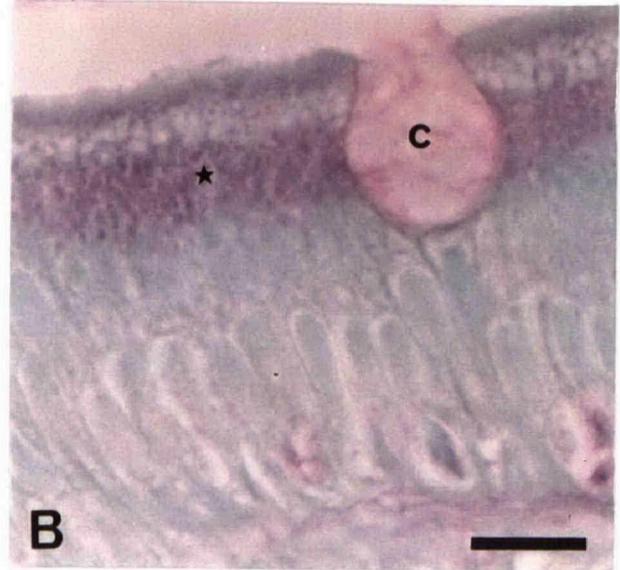
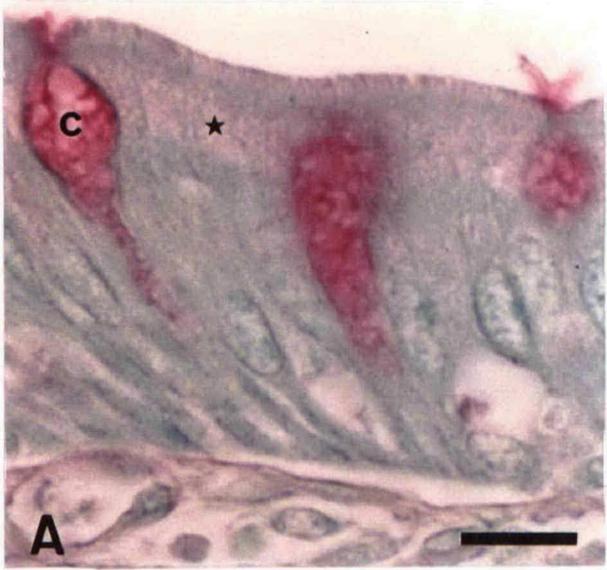


FIGURA 30

MUCOSA DO INTESTINO POSTERIOR II

A) Enterócitos da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*. Notar a intensa formação de vesículas. Em direção ao núcleo, as vesículas tornam-se menores e apresentam um material granular no seu interior (▲).

(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (→) microvilosidades e (c) células caliciformes.

Escala: 3μm

B) Detalhe dos enterócitos da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*. Observar a intensa atividade pinocítica (⇨) e a formação de vesículas.

(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (→) microvilosidades, (☆) trama terminal e (c) células caliciformes.

Escala: 2μm

C) Detalhe da região basal dos enterócitos da porção proximal do intestino posterior de *N. neglecta*. Observar o pequeno número de mitocôndrias (▷) e invaginações da membrana baso-lateral (◁) dos enterócitos.

(e) enterócitos, (→) retículo endoplasmático granular, (▷) lâmina basal e (TC) tecido conjuntivo.

Escala: 2μm

FIGURA 30

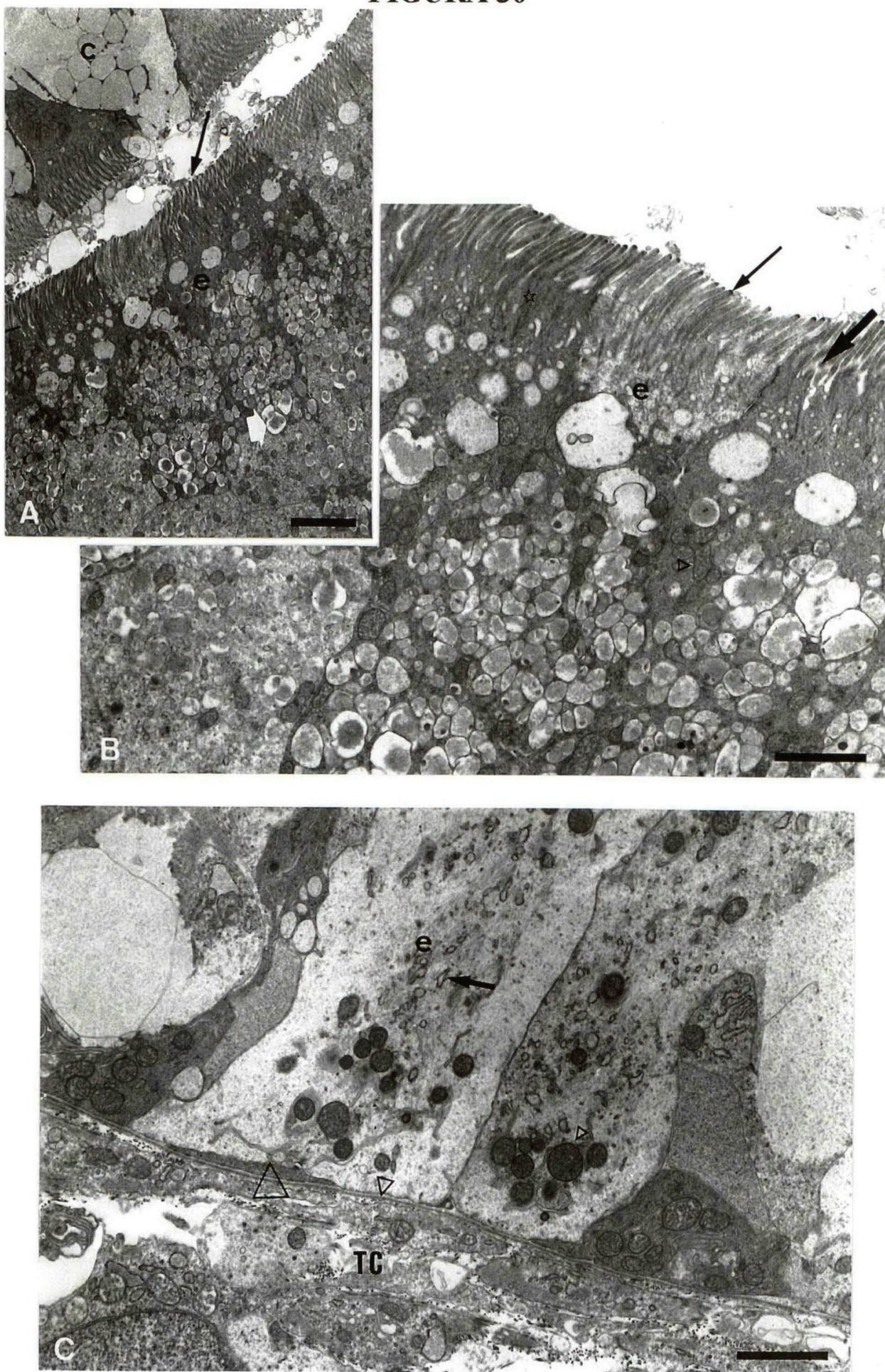


FIGURA 31

MUCOSA DO INTESTINO POSTERIOR III

- A) Enterócitos da porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi*. Notar a intensa formação de vesículas. Em direção ao núcleo, as vesículas tornam-se maiores e algumas apresentam um material amorfo (★) e outras granular (◆) no seu interior. (e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos, (▷) mitocôndrias, (→) microvilosidades e (TC) tecido conjuntivo.

Escala: 4μm

- B) Detalhe dos enterócitos da porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi*. Observar a intensa atividade pinocítica (⇨) e a formação de vesículas. (e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (★) vesículas com conteúdo amorfo, (◆) vesículas com conteúdo granular, (→) microvilosidades e (☆) trama terminal.

Escala: 2μm

- C) Detalhe da região basal dos enterócitos da porção proximal do intestino posterior de *T. newnesi*. Observar o pequeno número de mitocôndrias (▷) e a presença de vesículas dilatadas do retículo endoplasmático granular (→).
- (e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos, (★) vesícula com conteúdo amorfo, (▷) lâmina basal e (TC) tecido conjuntivo.

Escala: 2μm

FIGURA 31

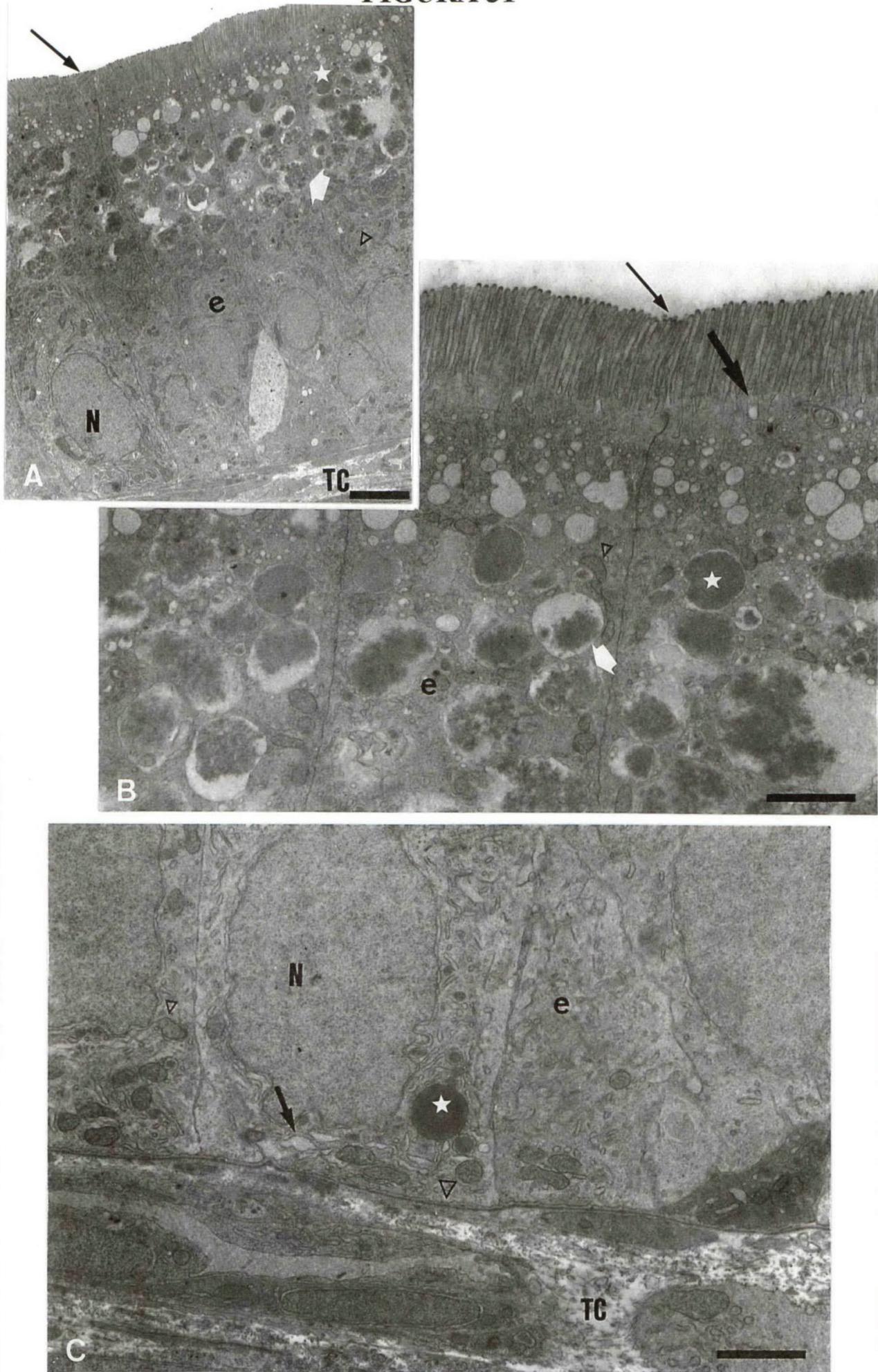


FIGURA 32

MUCOSA DO INTESTINO POSTERIOR IV

A) Enterócitos da porção mediana do intestino posterior de *N. neglecta*, evidenciando a presença de atividade pinocítica menos intensa e menor número de vesículas no citoplasma apical.

(e) enterócitos, (▷) mitocôndrias, (*) corpos multivesiculares, (▶) complexo juncional, (→) microvilosidades, (☆) trama terminal e (c) células caliciformes.

Escala: 2μm

B) Porção distal do intestino posterior de *N. neglecta*. Observar a presença de numerosas mitocôndrias (▷) no citoplasma apical dos enterócitos e aparelho de Golgi bem desenvolvido no citoplasma perinuclear (▲).

(e) enterócitos, (N) núcleo dos enterócitos, (→) microvilosidades e (c) células caliciformes.

Escala: 2μm

C) Detalhe dos enterócitos da porção distal do intestino posterior de *N. neglecta*. Observar que as microvilosidades são menores e menos numerosas (→), assim como a presença de vesículas pinocíticas na base das microvilosidades (→) e o citoesqueleto rico em microfilamentos (▶).

(e) enterócito e (★) espaço intercelular.

Escala: 0,5μm

FIGURA 32

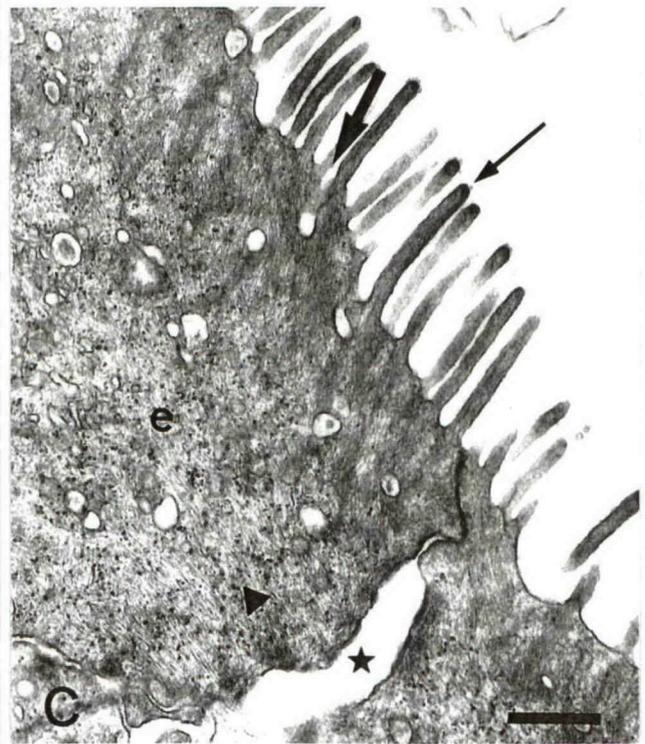
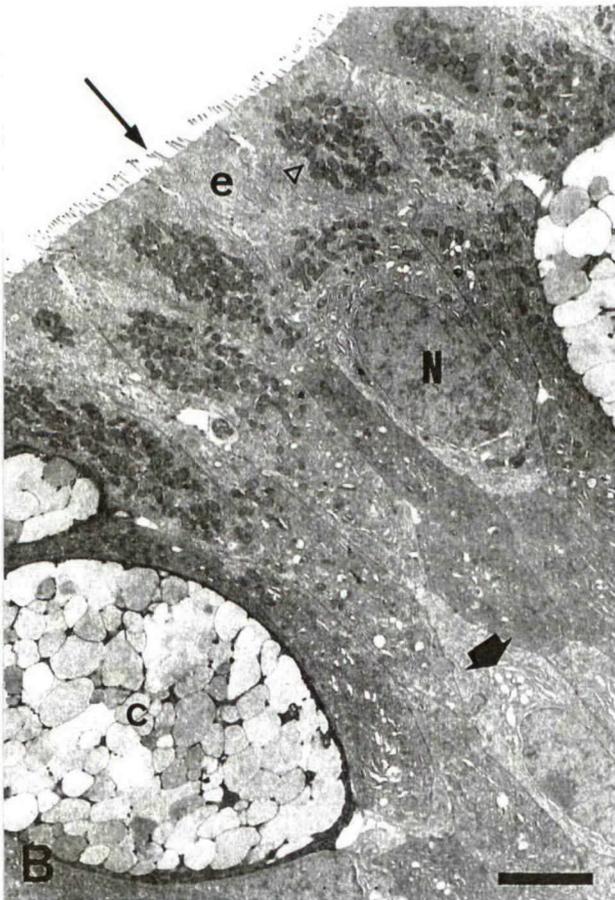
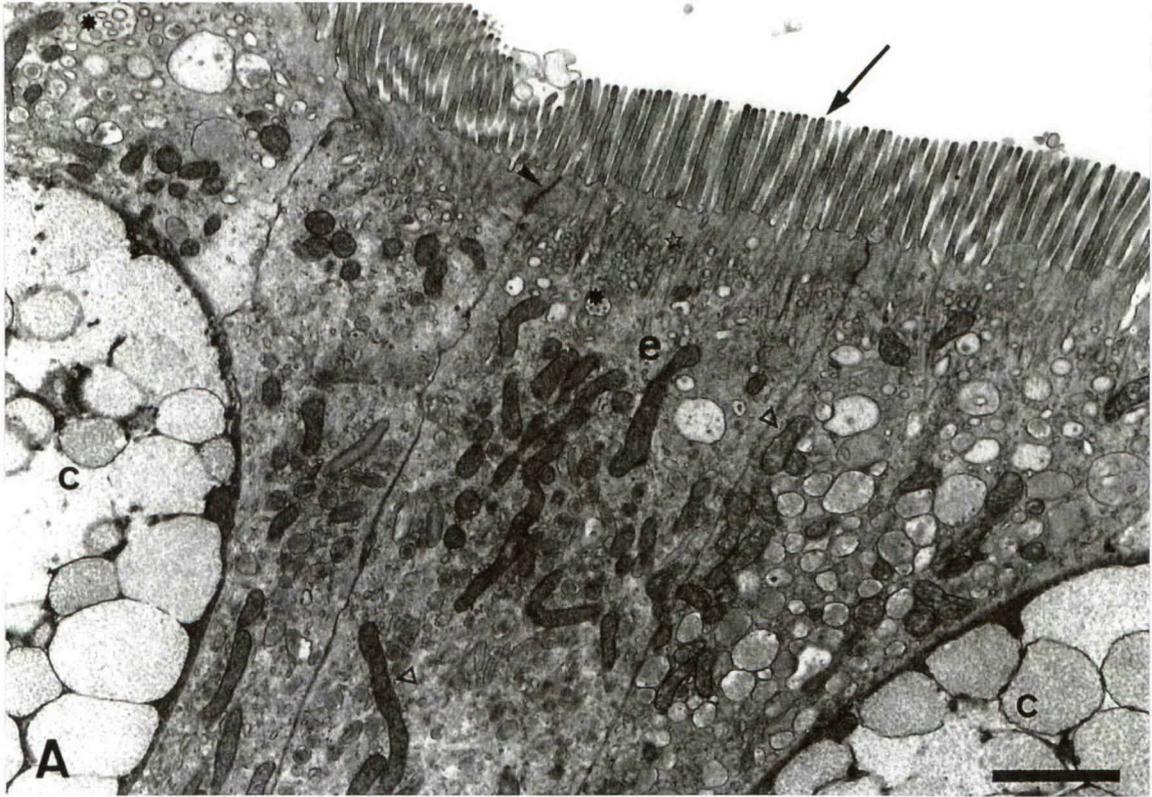


FIGURA 33

MUCOSA DO INTESTINO POSTERIOR V

- A) Enterócitos da porção distal do intestino posterior de *T. newnesi*. Observar a diminuição no número e tamanho das microvilosidades ().
(e) enterócitos, (N) núcleos dos enterócitos, (n) nucléolo, () aparelho de Golgi e () mitocôndrias.
Escala: 5µm
- B) Detalhe do citoplasma apical dos enterócitos da porção distal do intestino posterior de *T. newnesi*. Notar que, além do complexo juncional (), a coesão entre os enterócitos é feita por desmossomos isolados () e interdigitações da membrana plasmática das células vizinhas ().
(e) enterócitos, () vesículas com material amorfo e () mitocôndrias.
Escala: 2µm
- C) Detalhe da região basal do epitélio da porção distal do intestino posterior de *T. newnesi*, evidenciando a presença de uma lâmina basal bastante espessa e densa (). Observar que os enterócitos dessa porção intestinal permanecem unidos entre si até a região basal da célula, não sendo encontrados espaços intercelulares.
(e) enterócitos e () mitocôndrias.
Escala: 2µm

FIGURA 33

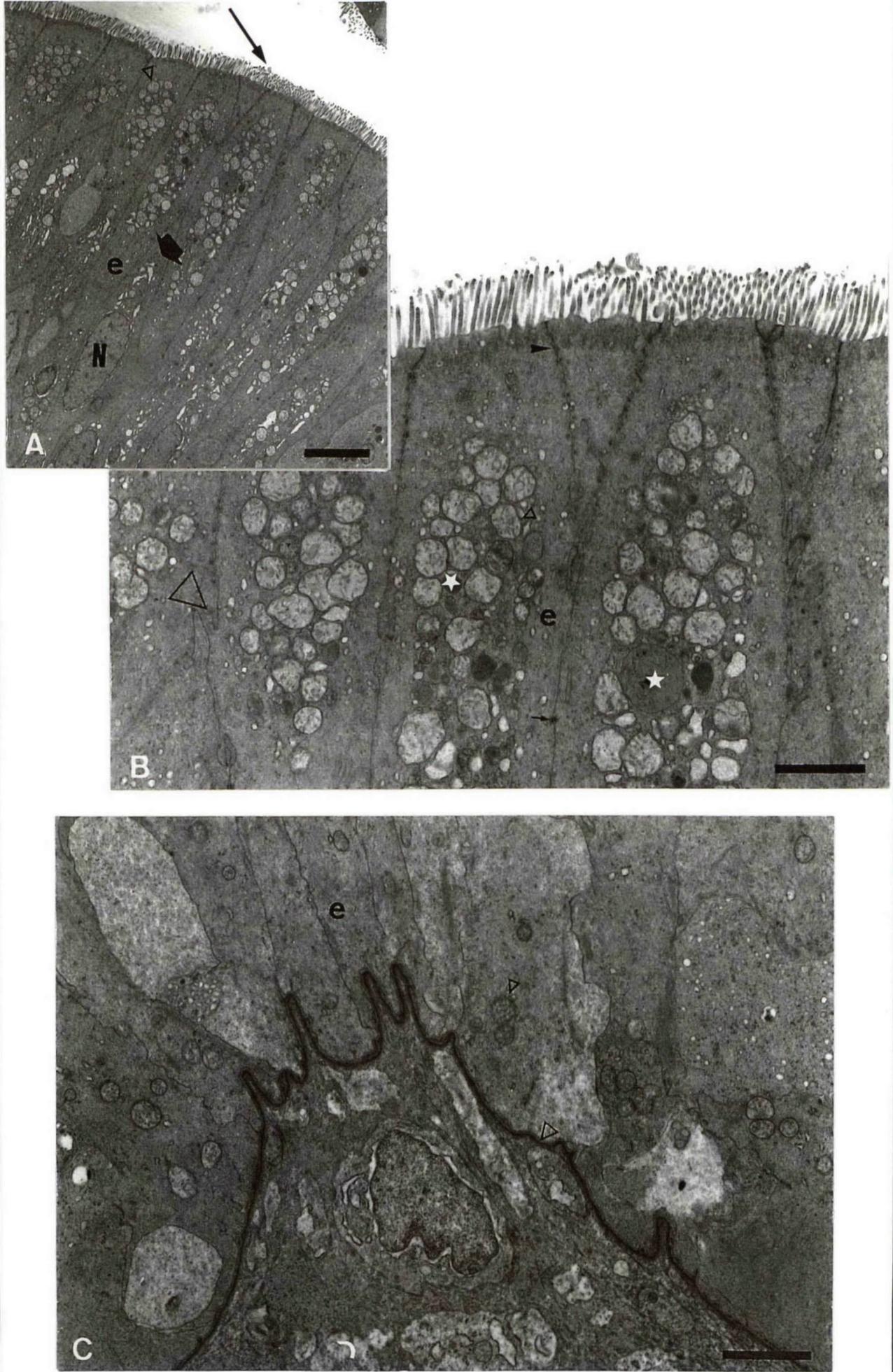


FIGURA 34

ESFÍNCTER ANAL

A) Esfíncter anal de *N. neglecta*.

(**MC**) mucosa, (**SM**) submucosa, (**M**) muscular, (➡) projeções, (**IP**) intestino posterior e (**A**) ânus.

Coloração: HE

Escala: 200µm

B) Esfíncter anal de *T. newnesi*.

(**MC**) mucosa, (**SM**) submucosa, (**M**) muscular, (➡) projeções, (**IP**) intestino posterior e (**A**) ânus.

Coloração: HE

Escala: 200µm

FIGURA 34

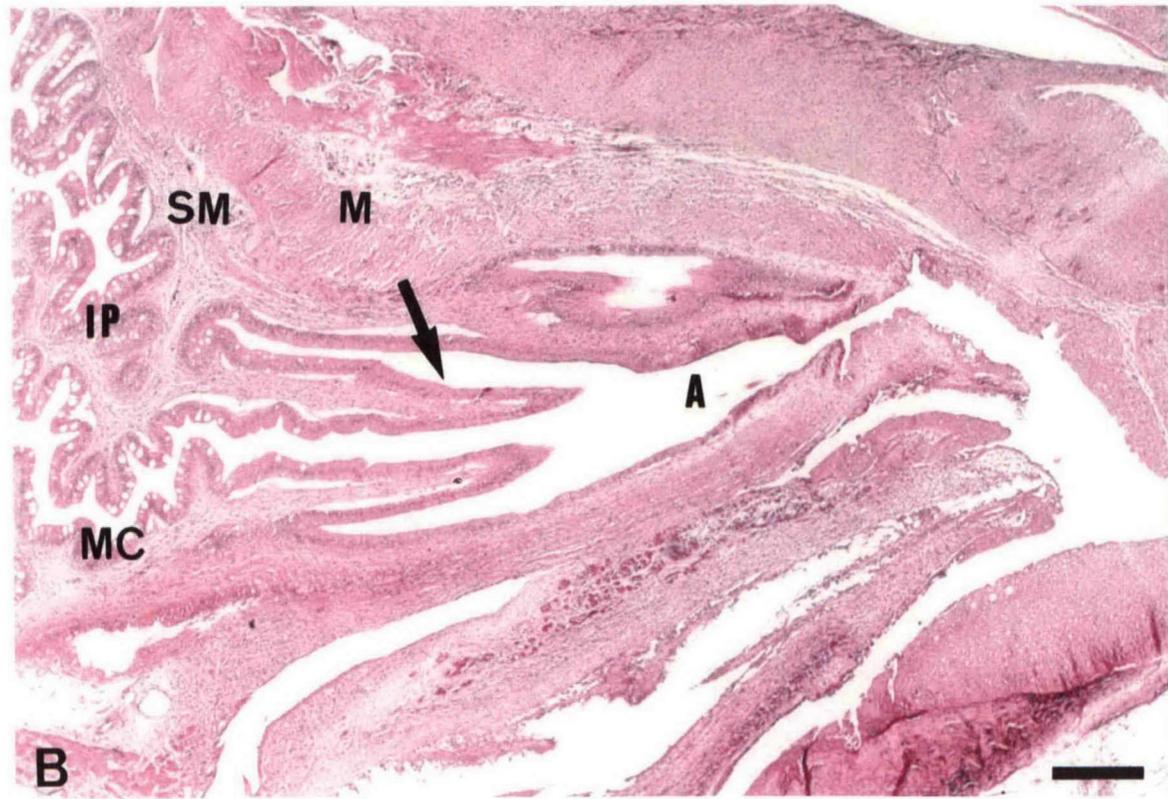


FIGURA 35

EPITÉLIO ANAL I

- A) Microscopia eletrônica de varredura do epitélio anal de *N. neglecta*, evidenciando a irregularidade da sua superfície e a presença de microssaliências (→).
- B) Microscopia eletrônica de varredura do epitélio anal de *T. newnesi*, mostrando a sua superfície enrugada e a presença de microssaliências as quais apresentam um padrão digitiforme (→).
- C) Detalhe da superfície do epitélio anal de *N. neglecta*. Observar que as microssaliências são espessas (→) e não apresentam um padrão definido.
- D) Detalhe da superfície do epitélio anal de *T. newnesi*. Notar que as microssaliências têm padrão digitiforme e são mais delgadas (→) que as encontradas em *N. neglecta*.
- E) Corte histológico do ânus de *N. neglecta*, mostrando que o epitélio anal é estratificado e podem ser visualizadas células claviformes (*) e prováveis células de cloreto (☆) entre as células epiteliais.
Coloração: HE
Escala: 20µm
- F) Corte histológico do ânus de *T. newnesi*, evidenciando o epitélio estratificado que o compõe
Coloração: HE
Escala: 20µm

FIGURA 35

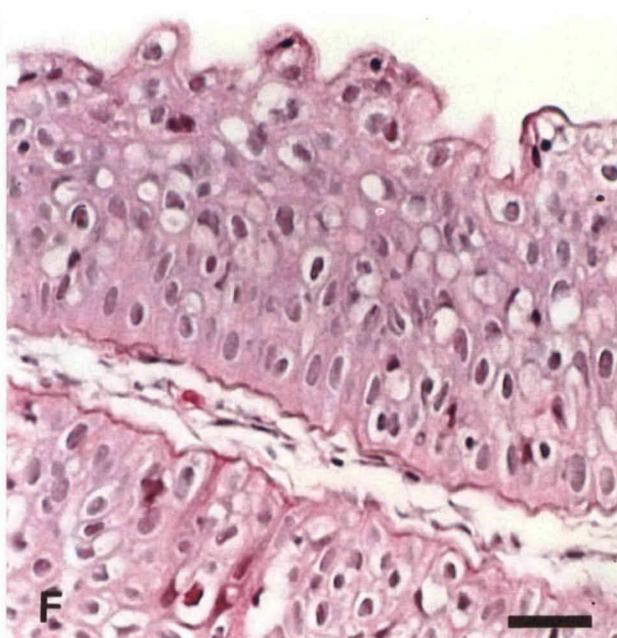
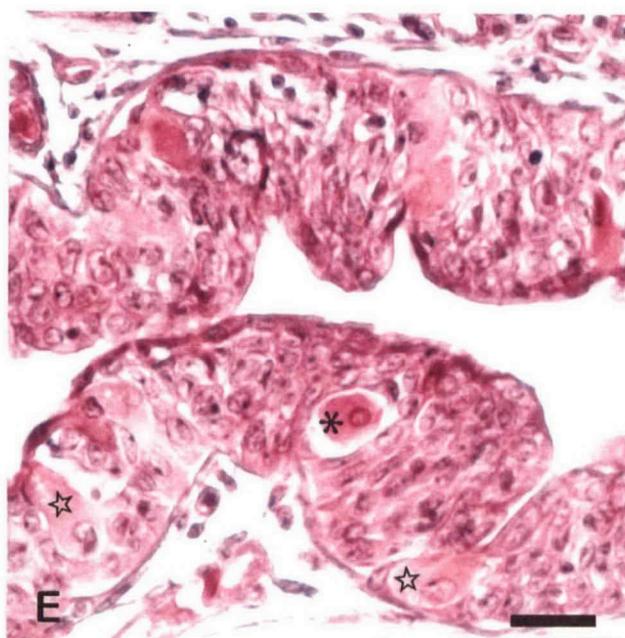
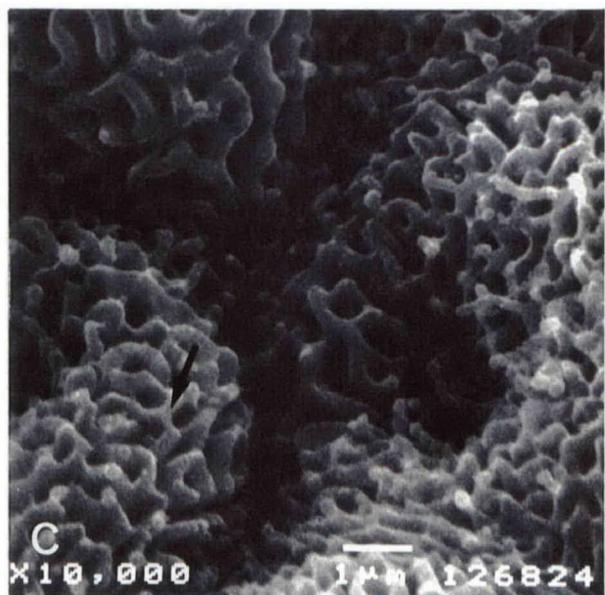
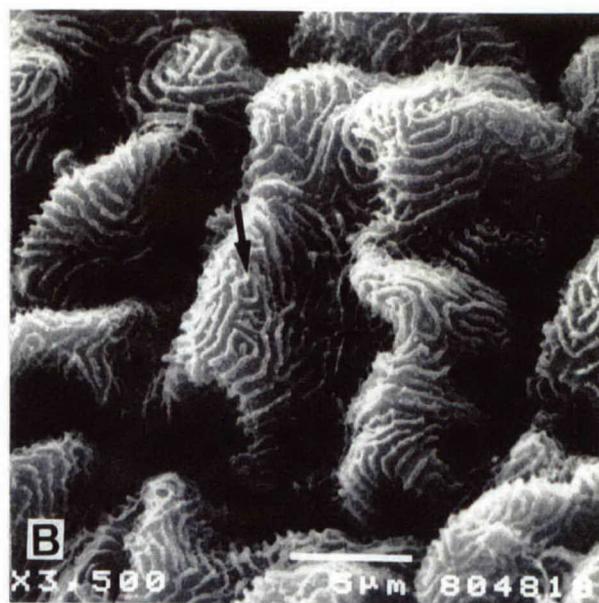
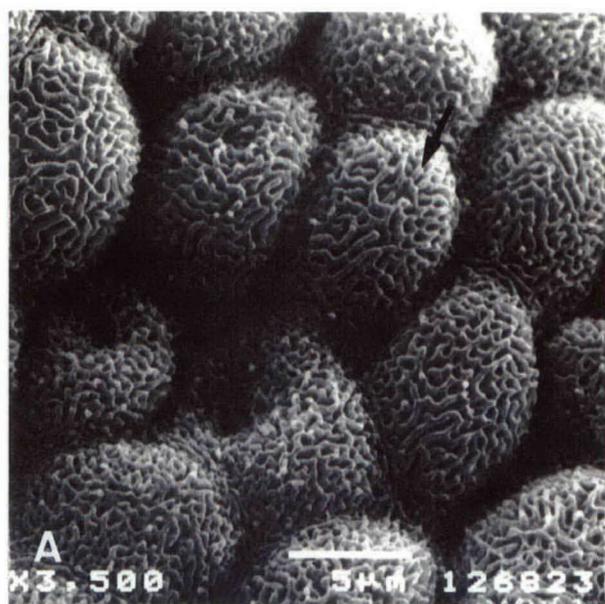


FIGURA 36

EPITÉLIO ANAL II

- A)** Região de interseção entre o epitélio colunar simples do intestino posterior (**IP**) e o epitélio estratificado do ânus (**A**) de *N. neglecta*. Observar que as células da camada apical do epitélio anal apresentam reação positiva ao PAS (*).
Coloração: PAS/Verde-luz
Escala: 20µm
- B)** Região de interseção entre o epitélio colunar simples do intestino posterior (**IP**) e o epitélio estratificado do ânus (**A**) de *T. newnesi*.
Coloração: PAS/Verde-luz
Escala: 20µm
- C)** Região de interseção entre o epitélio colunar simples do intestino posterior (**IP**) e o epitélio estratificado do ânus (**A**) de *N. neglecta*. Observar que as células da camada apical do epitélio anal apresentam reação positiva ao Alcian blue pH 2,5 (*).
Coloração: Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 20µm
- D)** Epitélio estratificado do ânus de *T. newnesi*. Observar a afinidade da camada apical de células pelo Alcian blue pH 2,5 (*) e a presença de células alongadas, que se estendem da membrana basal até a superfície, e são reativas ao PAS (☆).
(c) célula caliciforme e (▷) membrana basal.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 20µm
- E)** Detalhe do epitélio estratificado do ânus de *T. newnesi*, evidenciando a presença de células alongadas com afinidade pelo PAS (☆).
(▷) membrana basal.
Coloração: PAS/Alcian blue pH 2,5/Orange G
Escala: 10µm

FIGURA 36

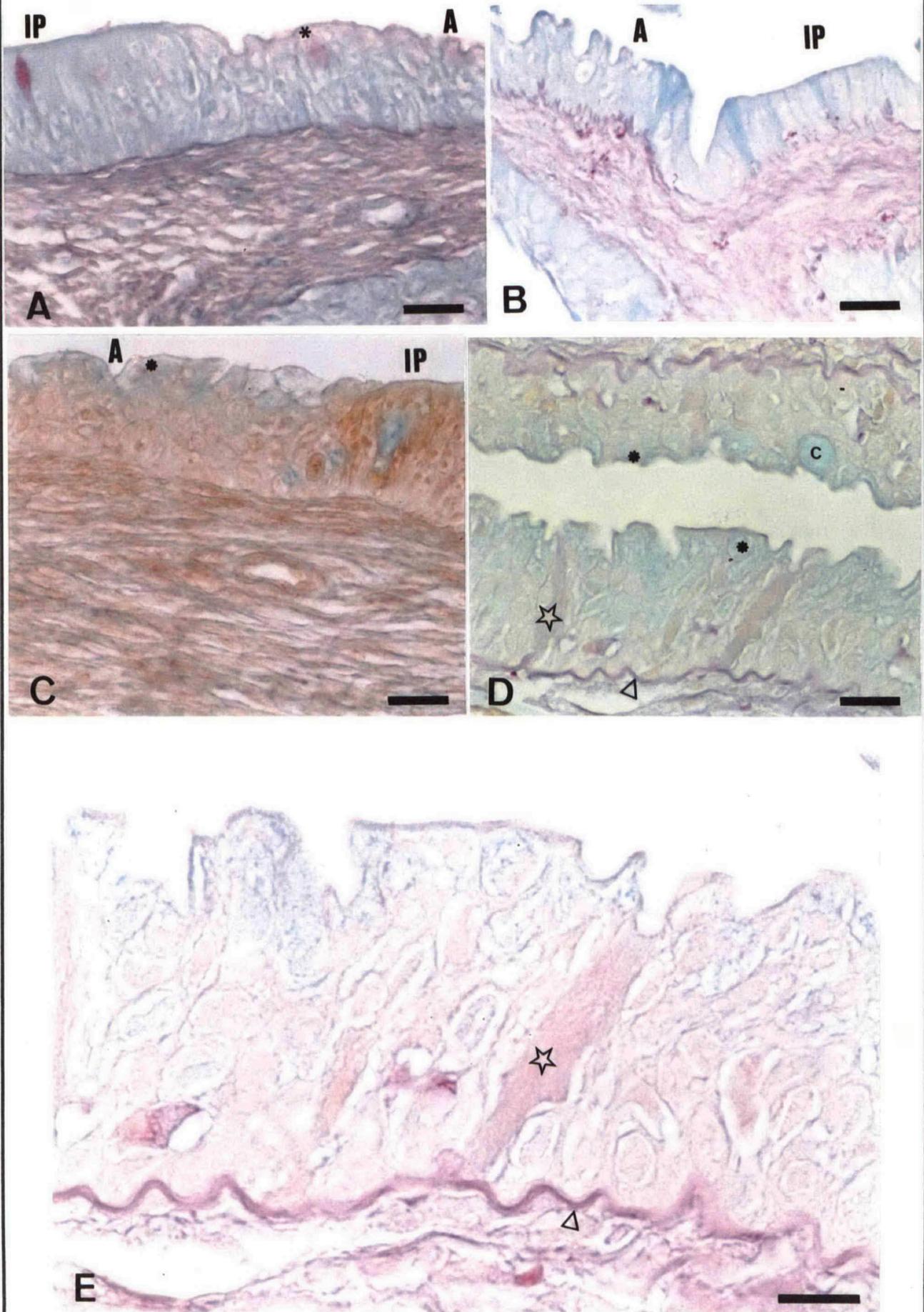


FIGURA 37

EPITÉLIO ANAL III

- A)** Corte semifino do epitélio anal de *N. neglecta*. Notar a membrana basal (▷) bem evidente.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 20µm
- B)** Corte semifino do epitélio do ânus de *T. newnesi*, evidenciando a presença de células maiores e mais claras na camada apical (▶) e membrana basal (▷) bem evidente.
Coloração: Azul de toluidina
Escala: 20µm
- C)** Epitélio anal de *N. neglecta*, evidenciando a presença de vacúolos no citoplasma das células da camada apical, e as microssaliências da membrana apical (→).
(N) núcleo, (→) desmossomos e (▲) mitocôndrias em degeneração.
Escala: 2µm
- D)** Epitélio anal de *T. newnesi*. Observar a presença de uma célula clara (cl) entre células escuras (ce). A célula clara possui o citoplasma mais vacuolizado.
(N) núcleo, (→) desmossomos, (▷) interdigitações, (▷) mitocôndrias, (▲) mitocôndrias em degeneração e (→) microssaliências.
Escala: 2µm

FIGURA 37

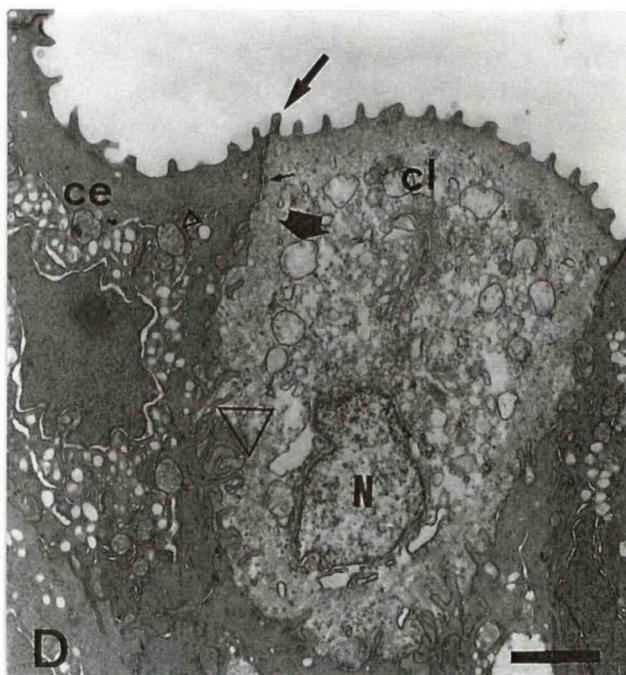
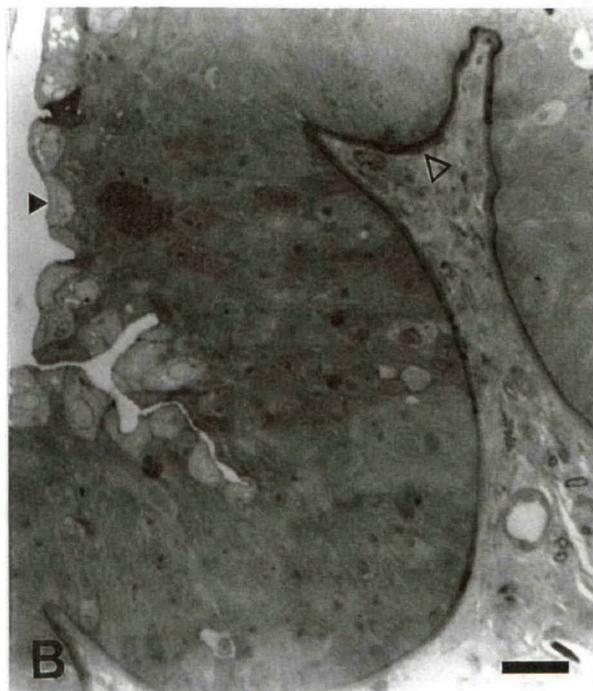
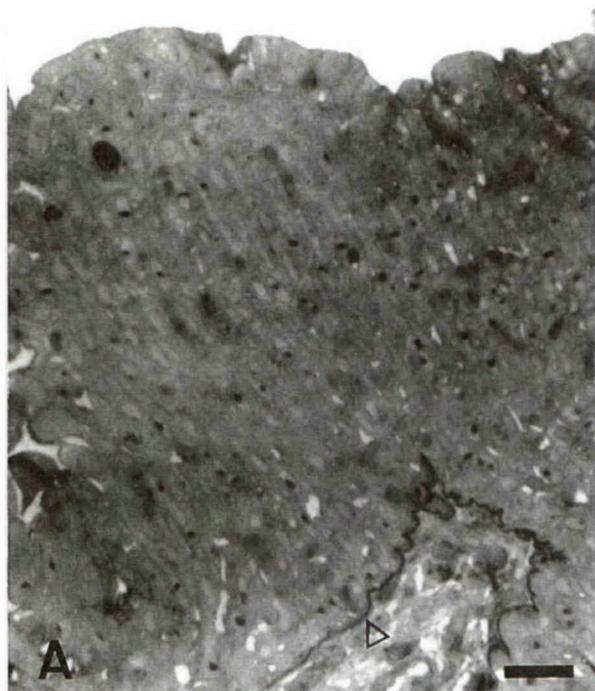
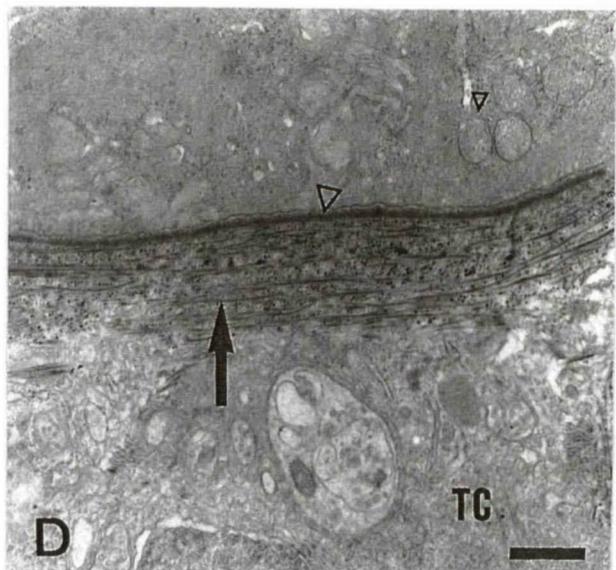
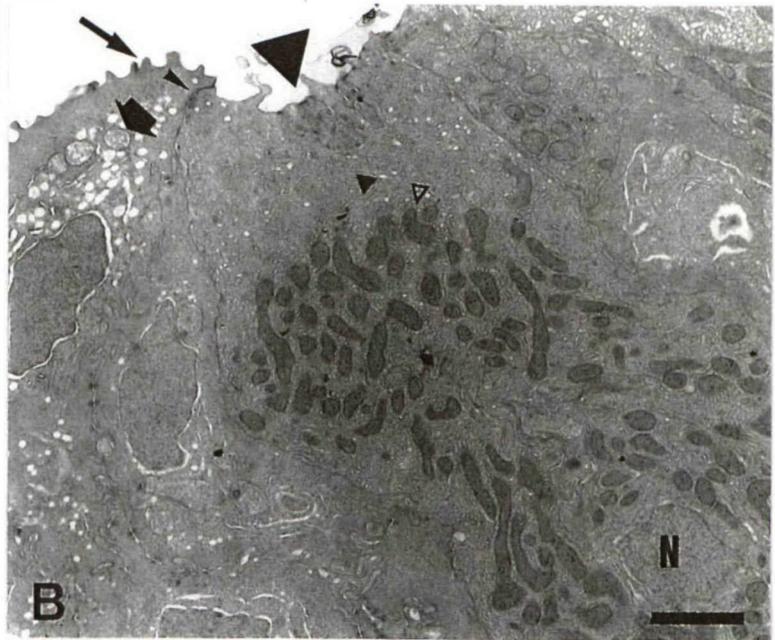
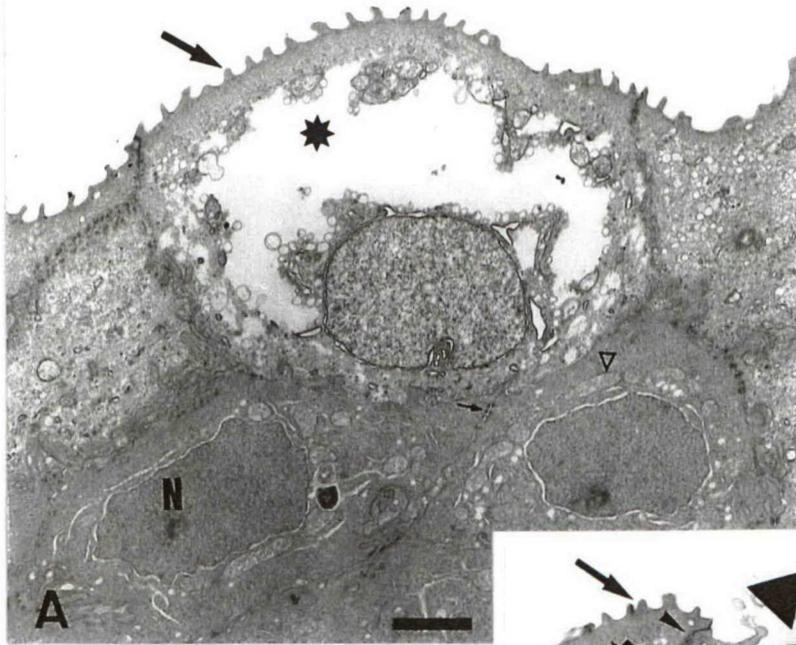


FIGURA 38

EPITÉLIO ANAL IV

- A) Célula do epitélio anal de *T. newnesi*, com o seu citoplasma vacuolizado (*).
(N) núcleo, (→) desmossomos, (▷) mitocôndrias e (→) microssaliências.
Escala: 2µm
- B) Epitélio anal de *T. newnesi*, evidenciando a presença de uma célula (▶) com numerosas mitocôndrias (▷) e de uma rede túbulo-vesicular (▶) em seu citoplasma.
(N) núcleo, (▶) complexo juncional, (▲) mitocôndrias em degeneração e (→) microssaliências.
Escala: 3µm
- C) Detalhe da camada basal do epitélio anal de *N. neglecta*, evidenciando a lâmina basal bem espessa e densa (▷) e uma rede de fibras colágenas logo abaixo (↔).
(N) núcleo, (→) retículo endoplasmático granular e (TC) tecido conjuntivo.
Escala: 1µm
- D) Detalhe da camada basal do epitélio anal de *T. newnesi*, evidenciando a lâmina basal bem espessa e densa (▷) e uma rede de fibras colágenas transversais e longitudinais, bastante espessa, logo abaixo (↔).
(▷) mitocôndrias e (TC) tecido conjuntivo.
Escala: 1µm

FIGURA 38



6. DISCUSSÃO

De acordo com vários autores, a morfologia do canal alimentar está intimamente relacionada com as características físicas do alimento e com os hábitos alimentares (GEEVARGHESE, 1983; OJEDA, 1986; MATAILLANAS, 1988; KOROVINA et al., 1991a; SIRE e VERNIER, 1992; SCOCCO et al., 1997), podendo-se concluir que a dieta influencia o número e os tipos celulares específicos (KUPERMAN e KUZ'MINA, 1994; MURRAY et al., 1996). Sendo assim, *Notothenia neglecta* e *Trematomus newnesi* exibem as principais características do trato digestivo de peixes carnívoros, como um grande estômago e um intestino curto (KAPOOR et al., 1975).

Porém, segundo DABROWSKI (1993), existe mais de um fator que intervém no comprimento intestinal, sendo que, um intestino curto poderia estar associado com hábitos alimentares carnívoros ou com uma dieta rica em nutrientes. Dessa forma, apesar do trato digestivo de *N. neglecta* apresentar características de hábitos carnívoros, BARRERA-ORO e CASAUX (1990) e CASAUX et al. (1990) demonstraram que essa espécie é onívora, apresentando um amplo espectro trófico composto de organismos bentônicos e pelágicos. A análise do pH gástrico de *N. neglecta* realizada por TARGETT e RADTKE (1984) mostra que este parece ser suficiente para a lise da parede celular das algas, e que macroalgas podem ser assimiladas por esses peixes. Assim, CASAUX et al. (1990) sugerem que algas são ativamente selecionadas e ingeridas por *N. neglecta*, embora FANTA e MEYER (1998) demonstrarem, em laboratório, que isso acontece quando outros itens alimentares não estão disponíveis. Por outro lado, *T. newnesi* mostra menor diversidade na sua dieta, a qual indica planctivoria, que também pode ser notada pela posição supratrimal da sua boca (CASAUX et al., 1990; VACCHI e LA MESA, 1995).

Existe, no entanto, uma certa similaridade entre as dietas das duas espécies estudadas. Assim, LINKOWSKI et al. (1983) e CASAUX et al. (1990) observaram que anfípodos gamarídeos são as principais presas de ambas as espécies, por outro lado as algas ocorrem com frequência na dieta de *N. neglecta* e, somente ocasionalmente na dieta de *T. newnesi* (CASAUX et al., 1990). Além disso, pequenas variações na composição da dieta das duas espécies de nototenídeos puderam ser observadas com relação à localização, estação do ano e idade (MORENO e ZAMORANO, 1980; DANIELS, 1982; LINKOWSKI et al., 1983; BARRERA-ORO e CASAUX, 1990;

CASAUX et al., 1990; NORTH, 1991).

Dessa maneira, pode-se sugerir que *N. neglecta*, considerada uma espécie generalista, está melhor adaptada às condições de variação sazonal da disponibilidade de alimento, reduzindo a competição, principalmente entre as espécies que utilizam a mesma fonte, quando o alimento usual é escasso. O aspecto de grande adaptabilidade de hábitos alimentares às condições locais de alimentação também foi sugerido por LINKOWSKI et al. (1983), FANTA (1998) e FANTA e MEYER (1998).

Apesar de trabalhos anteriores revelarem uma certa homogeneidade do tubo digestivo dos nototeníóides, no que diz respeito ao número de cecos pilóricos, ao comprimento relativo do estômago e do intestino, bem como, à histologia do canal alimentar (OJEDA, 1986; MATAILLANAS, 1988; EASTMAN e DeVRIES, 1997), no presente trabalho foi possível observar, histológica e ultraestruturalmente, diferenças significativas ao longo da mucosa do canal alimentar das duas espécies de nototeníóides estudadas.

O número de cecos pilóricos nas duas espécies estudadas é relativamente baixo (5-7) e a relação entre estes e os hábitos alimentares ainda não está completamente esclarecida. A importância dos cecos pilóricos como um fator de aumento da superfície intestinal absorptiva já foi relatada por BERGOT et al. (1975) e, segundo BUDDINGTON e DIAMOND (1987), o desenvolvimento de cecos pilóricos é uma estratégia evolutiva para aumentar a superfície intestinal sem aumentar o comprimento ou a espessura do intestino. Sendo assim, a existência de vilosidades grandes e numerosas, de longas microvilosidades na superfície dos enterócitos e a presença de mucossustâncias neutras pode estar relacionada com uma possível função absorptiva dessa porção do intestino, especialmente de gorduras, como já foi proposto por BENSON e LEE (1975) apud OJEDA (1986) e FANGE e GROVE (1979).

Segundo alguns autores, o intestino de teleósteos pode ser histofisiologicamente dividido em: segmento proximal, com células especializadas na absorção de lipídios; segmento médio, responsável pela absorção de macromoléculas e; segmento distal, cuja função é a absorção de água e eletrólitos, com invaginações de membrana e grande concentração de mitocôndrias na porção basal dos enterócitos (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976, 1979; STROBAND e DEBETS, 1979; STROBAND et al., 1979). Sendo assim, características ultraestruturais específicas estão associadas com esses segmentos, principalmente em relação às células absorptivas (VERNIER, 1990).

De acordo com trabalhos anteriores (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976,

1979; MURRAY et al., 1996), após a hidrólise intraluminal, os lipídios alimentares podem aparecer nos enterócitos como dois tipos de inclusões: partículas lipídicas e gotículas lipídicas. As observações ultraestruturais indicaram que em peixes as partículas lipídicas são a forma de transporte da gordura alimentar e que elas desempenham o mesmo papel que o quilomicrons em mamíferos. NOAILLAC-DEPEYRE e GAS (1979) sugerem que os lipídios da dieta são hidrolisados por lipases pancreáticas no lúmen intestinal em ácidos graxos livres e monoglicerídeos, os quais são combinados com sais biliares para formar micelas, que dessa forma, atravessam a membrana plasmática apical. No citoplasma apical dos enterócitos, os triglicerídeos resintetizados formam numerosas gotículas visíveis no lúmen do retículo endoplasmático. Deste, os lipídios parecem ser transportados para o aparelho de Golgi e, finalmente, para vesículas intracelulares que liberam as partículas lipídicas para o espaço intercelular, de onde elas se movem através da lâmina basal e são encontradas no tecido conjuntivo adjacente. Esse transporte de lipídios no enterócito pode ser comparado ao transporte de quilomicrons que ocorre na mucosa intestinal de mamíferos (CROSS e MERCER, 1993). Por outro lado, as observações ultraestruturais têm sugerido que o acúmulo de gotículas lipídicas no citoplasma dos enterócitos é devido a uma baixa capacidade de síntese lipoprotéica ou de liberação de lipídio, e que elas são uma forma de estoque temporário dos ácidos graxos absorvidos (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976, 1979; MURRAY et al., 1996).

As proteínas alimentares, por sua vez, estão sujeitas à ação de secreções gástricas e pancreáticas, sofrendo hidrólise no lúmen do trato digestivo e fornecendo aminoácidos e dipeptídeos, os quais serão absorvidos por células intestinais especializadas por pinocitose, sendo que, na membrana das microvilosidades ocorrem os estágios finais de digestão e absorção protéica (SIRE e VERNIER, 1992). Entretanto, alguns peptídeos são absorvidos e decompostos no interior da célula. A absorção de macromoléculas parece estar relacionada com a falta de uma digestão extracelular completa. Dessa forma, a ultraestrutura dos enterócitos que desempenham a função de absorver proteínas, na maioria dos casos, revela que essas células absorptivas possuem na região supranuclear um sistema túbulo vesicular de transporte e numerosos lisossomos de tamanho variável (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1976, 1979; EZEASOR e STOKOE, 1981; STROBAND e VAN DER VEEN, 1981; NACHI, 1993). GEORGOPOULOU et al. (1985) consideraram que os vacúolos supranucleares formados são lisossomos secundários ou fagolisossomos, devido à presença de

hidrolases ácidas no seu interior.

Nos cecos pilóricos de *N. neglecta* a função de absorção de gorduras pode ser sugerida, devido à presença de vesículas contendo material eletrodense, possivelmente monoglicerídeos e ácidos graxos, no citoplasma apical e supranuclear dos seus enterócitos.

No epitélio dos cecos pilóricos de ambas as espécies, especialmente em *T. newnesi*, foi também observada a presença de mucossustâncias ácidas, secretadas pelas células caliciformes, indicando uma função secretória para essa região intestinal. Além disso, as mucossustâncias ácidas ricas em grupamentos sulfatados, que ocorreram somente nos cecos pilóricos de *T. newnesi*, são inibidoras das proteases pépticas, previnem as infecções bacterianas e protegem as mucosas de ações mecânicas que possam sofrer (ULIBARRIE, 1982).

O complexo de vilosidades da mucosa da porção anterior do intestino médio de ambas as espécies estudadas, com o resultante aumento da área superficial pode auxiliar na mistura do alimento com os sucos digestivos hepático e pancreático, assim como, com o muco secretado pelas células caliciformes.

As diferenças histoquímicas na secreção de mucossustâncias sugerem variações entre as duas espécies. As células caliciformes da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta* parecem apresentar vesículas separadas para a secreção de mucossustâncias neutras e ácidas, enquanto que, em *T. newnesi* isso não foi observado, e as mucossustâncias neutras e ácidas são secretadas na mesma proporção ao longo do intestino médio. A coexistência de dois ou mais tipos de mucossustâncias em uma célula já foi reportada e pode indicar dois ou mais níveis de maturação (ELBAL e AGULLEIRO, 1986; MURRAY et al., 1996).

Diferentes mucossustâncias têm sido correlacionadas com as funções digestivas. Mucossustâncias neutras combinadas com fosfatase alcalina estão envolvidas na digestão e emulsificação do alimento no quimo (CLARKE e WITCOMB, 1980). Além disso, mucossustâncias também podem prover cofatores requeridos para a quebra enzimática do alimento (ANDERSON, 1986) e ajudar na liberação de energia (ATP), essencial para uma efetiva absorção e para a ação das enzimas (ULIBARRIE, 1982).

Através da M.E.T. pode-se observar que os enterócitos da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta* exibem as características de células que desempenham a função de absorção de gordura, devido à presença de gotículas e partículas lipídicas no

seu citoplasma, sendo que as partículas foram encontradas no espaço intercelular baso-lateral, trajetória feita pelos quilomicrons na mucosa intestinal de outras espécies de teleosteos (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1979; MURRAY et al., 1996) e de espécies de outros grupos animais. Porém, nas porções mediana e distal do intestino médio dessa espécie essas características não foram detectadas. Os enterócitos da mucosa dessas porções intestinais apresentaram grande quantidade de mitocôndrias no citoplasma apical e basal, sendo que nesta última porção as mitocôndrias encontraram-se em associação com invaginações da membrana baso-lateral das células. Essa associação entre as invaginações da membrana baso-lateral com mitocôndrias alongadas, especialmente na porção distal do intestino médio de *N. neglecta*, sugere que elas podem estar envolvidas em atividades dependentes de energia, como osmorregulação (EZEASOR e STOKOE, 1981; KIRSCH e MEISTER, 1982). Além disso, as mitocôndrias dos enterócitos da porção mediana do intestino médio dessa espécie apresentaram sítios de acúmulo de cátions divalentes em uma forma não-ionizada na sua matriz, sugerindo que essas mitocôndrias poderiam ter sequestrado cálcio citoplasmático, baixando, dessa forma, a concentração intracelular desse íon, reforçando, assim a hipótese de que essa região do intestino de *N. neglecta* é importante também na regulação iônica.

No entanto, HERNANDEZ-BLAZQUEZ (1996) estudando a absorção de gorduras e proteínas no intestino de *N. neglecta*, concluiu que os lipídios são intensamente absorvidos ao longo de toda a extensão do intestino médio. Essa diferença nos resultados pode ser devida ao fato dos exemplares utilizados nas pesquisas desse autor terem sido capturados durante o verão austral, pico da produtividade primária e, portanto, da atividade alimentar desses peixes. Já os exemplares de *N. neglecta* utilizados nesse trabalho para a coleta das peças para o processamento de microscopia eletrônica de transmissão foram capturados durante o período de primavera, quando a produtividade primária ainda é baixa e a quantidade de gordura ingerida poderia ser menor, justificando a menor área de absorção de lipídios detectada no presente trabalho.

Por outro lado, os resultados encontrados para o intestino médio de *T. newnesi* concordam com o que HERNANDEZ-BLAZQUEZ (1996) encontrou para *N. neglecta* em seu trabalho. Os exemplares de *T. newnesi* foram capturados nos meses de verão antártico, dessa forma, pode-se sugerir que a diferença encontrada no resultado da absorção de lipídios no intestino de *N. neglecta* esteja realmente relacionada com a

ingestão de uma dieta pobre em lipídios, e não que a área de absorção desse nutriente seja menor no intestino dessa espécie, pois sabe-se que a gordura tem um papel central no metabolismo energético, respiratório e até mesmo no comportamento de peixes antárticos (SIDELL e CROCKETT, 1987; SIDELL, 1990).

Os resultados encontrados por JOHNSTON e BATTRAM (1993) corroboram essa hipótese. Eles sugerem uma diminuição na atividade alimentar de *N. neglecta* durante os meses de inverno, a qual pode estar relacionada com o desenvolvimento das gônadas, que ocorre nessa época do ano. Além disso, BURCHETT (1983a) concluiu que exemplares de *Notothenia rossi*, que apresenta hábitos e comportamento semelhante ao de *N. neglecta*, comem menos durante os meses de inverno, mesmo que as presas permaneçam abundantes. Essa alternância entre alimentação, reprodução e crescimento, deve-se, principalmente, às baixas taxas metabólicas e ao baixo nível de energia metabólica disponível para ser dispendida nessas atividades. Assim, JOHNSTON e BATTRAM (1993), consideram que com o desenvolvimento das gônadas durante o inverno, o teto do poder metabólico disponível logo é atingido, resultando na redistribuição da energia, que antes era empregada na busca de alimentos, para a reprodução.

Outra hipótese que pode ser considerada é a de que o tempo para se observar a absorção de lipídios pelos enterócitos do intestino de *N. neglecta*, espécie bentônica e sedentária, poderia ser ligeiramente mais elevado que para *T. newnesi*, que é um peixe semipelágico mais ativo, como uma consequência das diferenças existentes no metabolismo energético dessas duas espécies.

SIDELL e CROCKETT (1987) examinaram as atividades de enzimas-chaves do metabolismo energético dos tecidos musculares de duas espécies de nototenídeos ecologicamente diferentes. Seus estudos compararam *Gobionotothen gibberifrons*, uma espécie relativamente inativa que se alimenta de invertebrados bentônicos, semelhante à *N. neglecta*, com *T. newnesi*. Os resultados dos bioensaios indicaram que os músculos cardíaco e peitoral de *T. newnesi* mostraram uma capacidade consistentemente maior para a oxidação de gorduras do que àqueles de *G. gibberifrons*.

As invaginações da membrana plasmática basal do intestino médio de *T. newnesi* sugerem que essa região é importante também no transporte iônico.

Tanto em *N. neglecta* como em *T. newnesi*, foi observado um aumento gradual no número de células caliciformes dos cecos pilóricos em direção ao reto. Esse aumento já foi descrito anteriormente para outros teleósteos (GRAU et al., 1992;

MURRAY et al., 1996). O maior número de células caliciformes no reto pode implicar na necessidade de aumento de proteção para a mucosa e sua lubrificação para a expulsão do bolo fecal (GRAU et al., 1992; MURRAY et al., 1996).

A mucosa do intestino posterior (reto) de *N. neglecta* profundamente pregueada e altamente vascularizada sugere transporte ativo através da mucosa, indicando a entrada pinocítica e subsequente digestão intracelular de proteínas exógenas pelo epitélio retal. Esse processo, provavelmente aumente a eficiência da digestão protéica quando o esvaziamento gástrico é muito frequente para a completa hidrólise no estômago (EZEASOR, 1981). Nesse caso, a pinocitose retal complementaria a função do estômago, o que seria essencial no caso de *N. neglecta*, que se alimenta de grandes quantidades de alimento ou de presas grandes e inteiras, especialmente no verão austral.

Além disso, de acordo com CORNEEL e PADYKULA (1969), a afinidade do citoplasma apical dos enterócitos da porção distal do intestino médio, assim como do intestino posterior de ambas as espécies pelo PAS, já mencionada em outros trabalhos (CORNEEL e PADYKULA, 1969; STALEY et al., 1972; NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1973) reflete sua natureza lisossomal, podendo estar relacionada com a absorção de macromoléculas já reportada por outros autores (NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1973, 1976, 1979; STROBAND et al., 1979; GEORGOPOULOU et al., 1985; SIRE e VERNIER, 1992). Nos enterócitos do intestino posterior de *T. newnesi* foram observadas estruturas semelhantes a vacúolos no citoplasma apical, indicando também, que essa região possui a capacidade de absorção de proteínas.

Os resultados obtidos através da M.E.T. confirmam a absorção de proteínas pelos enterócitos do intestino posterior das duas espécies estudadas. Os enterócitos dessa porção intestinal apresentam as características ultraestruturais de células que absorvem intensamente, tais como, a presença de longas microvilosidades e a grande atividade pinocítica observada na base dessas estruturas, assim como, a presença de grandes vesículas claras e a rede túbulo-vesicular subapical. Essas observações coincidem com os resultados encontrados por HERNANDEZ-BLAZQUEZ (1996) para *N. neglecta*.

A absorção de proteínas pelos enterócitos do intestino posterior pode ter a função de reabsorver proteínas anticoagulantes, as quais são secretadas junto com a bile e que estão presentes no bolo fecal para evitar a formação de cristais de gelo, sendo assim, essas proteínas poderiam ser reaproveitadas, com consequente economia energética (HERNANDEZ-BLAZQUEZ, 1996). Além disso, o intestino posterior é o

único local do canal alimentar onde essa reabsorção pode ocorrer sem que a concentração de anticoagulante desça a níveis muito baixos e perigosos.

Outro grupo de macromoléculas que poderia estar sendo reabsorvido é representado pelas enzimas secretadas pelo pâncreas, estômago e intestino. A recirculação de enzimas pancreáticas através do epitélio intestinal foi mencionada por DIAMOND (1978) para mamíferos e, HOFER (1982) sugeriu em seu trabalho a reabsorção de enzimas digestivas pelo epitélio intestinal de peixes.

O reto de ambas as espécies apresentou espessamento da camada muscular, o que tem sido correlacionado com o armazenamento temporário e expulsão do material fecal nessa área (GRAU et al., 1992). A muscular da mucosa, que separa o tecido conjuntivo da lâmina própria do tecido conjuntivo frouxo da submucosa no reto de *N. neglecta*, provavelmente funciona como um suporte extra da parede intestinal, sendo uma adaptação à capacidade que essa espécie tem de ingerir quantidades grandes e irregulares de alimento, pois aumenta a motilidade intestinal e facilita a expulsão do bolo fecal.

No esfíncter anal o epitélio colunar simples é substituído por um epitélio estratificado que apresenta microssaliências na sua superfície. Tem sido sugerido que essas microssaliências desempenham uma função de proteção, retendo as secreções mucosas na superfície das células (OLSON e FROMM, 1973; SCHLIWA, 1975), assim como, fornecem área superficial de reserva para distensão (WASSERSUG e JOHNSON, 1976 apud SPERRY e WASSERSUG, 1976). Porém, devido à afinidade do citoplasma das células epiteliais da camada apical pelo Alcian blue pH 2,5 e PAS, pode-se sugerir uma função secretora para essas células com microssaliências (OLSON e FROMM, 1973; SCHLIWA, 1975).

As observações ultraestruturais do epitélio anal das duas espécies estudadas revelaram que o citoplasma das células da camada apical apresenta grande quantidade de vacúolos, os quais podem conter substâncias compostas por glicosaminoglicanas ácidas e neutras, reativas ao Alcian blue pH 2,5 e ao PAS, respectivamente.

Entre as células epiteliais do ânus de *N. neglecta* foi detectada a presença de células claviformes. O conteúdo citoplasmático desse tipo celular ainda não foi definido quimicamente e sua função parece estar relacionada com substâncias de alarme, que mediam respostas intra e interespecíficas (HENRIKSON e MATOLTSY, 1968; DOWNING e NOVALES, 1971; ZACCONE et al., 1990). Já, no epitélio anal de *T. newnesi* foi observada a presença de células com características ultraestruturais

semelhantes às células de cloreto, podendo ser sugerido que nessa região, que está em contato direto com a água, pode estar ocorrendo um processo ativo de regulação iônica.

Ao longo do epitélio intestinal das duas espécies de nototenídeos estudadas foi observada a presença de células endócrinas, linfócitos e células com grânulos em bastonete.

A presença de células endócrinas na mucosa intestinal de peixes teleósteos foi reportada anteriormente (READ e BURNSTOCK, 1968; ROMBOUT, 1977; NOAILLAC-DEPEYRE e GAS, 1982; ELBAL, et al., 1988; TAGLIAFIERRO et al., 1995). ELBAL et al. (1988) classificaram as células endócrinas do trato digestivo de *Mugil saliens*, de acordo com as características ultraestruturais de seus grânulos, em nove tipos. Segundo a sua descrição, a célula endócrina encontrada com mais frequência no intestino das duas espécies estudadas, a qual se caracteriza pela presença de grânulos secretores redondos, contendo uma região central densa ou um material fracamente granular no seu interior, poderia estar relacionada com a célula endócrina do tipo IX, encontrada entre as células epiteliais dos cecos pilóricos e intestino médio de *M. saliens*. TAGLIAFIERRO et al. (1995) detectaram histoquimicamente a presença de muitos tipos de substâncias bioativas, chamadas de peptídeos regulatórios, nas células endócrinas e nos elementos nervosos. Seus estudos sugerem que essas substâncias controlam a absorção gastrointestinal, secreção, motilidade e fluxo sanguíneo. Os seus resultados mostraram também, que os peptídeos regulatórios produzidos e secretados pelas células endócrinas do canal alimentar de peixes antárticos são estruturalmente similares ou idênticos aos dos mamíferos. No entanto, foram observadas diferenças na presença, distribuição e localização dos peptídeos regulatórios entre os peixes antárticos e outro teleósteos. O significado dessas diferenças ainda é difícil de ser determinado.

Muitos linfócitos foram encontrados na camada epitelial, sendo chamados de linfócitos intraepiteliais. Esses linfócitos, provavelmente, têm uma função regulatória, suprimindo a resposta do sistema imune para antígenos intestinais, induzindo simultaneamente uma resposta imune na lâmina própria (PABST, 1987). Assim, o grande número de linfócitos na mucosa intestinal de peixes sugere fortemente a existência de um sistema imune local, o mucoso (ROMBOUT et al., 1989).

As células com grânulos em bastonete estão presentes no epitélio de numerosos órgãos de teleósteos de água doce e marinhos (MORRISON e ODENSE, 1978; LEINO, 1974, 1982; SMITH et al., 1995). Nas duas espécies de peixes antárticos estudadas,

essas células apresentaram ausência de organelas no citoplasma periférico, grânulos ovais, com uma região externa amorfa e reativa ao PAS e uma região central fusiforme, e núcleo basal. Embora a microscopia eletrônica tenha mostrado que as células com grânulos em bastonete têm a morfologia de células secretoras, pouco se sabe a respeito de sua função ou da composição dos seus grânulos secretores. Estudos citoquímicos realizados por LEINO (1982) concluíram que um dos produtos dessas células é, provavelmente, uma glicoproteína neutra, a qual tem afinidade pelo PAS, como foi observado no presente estudo.

Estudos ultraestruturais mostraram que os grânulos contidos nessas células apresentam uma região externa amorfa e um centro fusiforme denso (SMITH et al., 1995) e, LEINO (1982) propõe que os grânulos das células com grânulos em bastonete são ricos em proteínas, mas pobres em carboidratos na região central, e ricos em proteínas e carboidratos, provavelmente na forma de glicoproteínas neutras, na região periférica.

Dessa forma, analisando-se os resultados obtidos, pode-se propor que o hábito alimentar é, sem dúvida, um dos fatores mais importantes afetando a evolução dos órgãos do sistema digestivo. A porção anterior do trato digestivo é particularmente afetada pela dieta consumida, por outro lado, o intestino médio de peixes com estômago recebe o alimento significativamente digerido e basicamente diferente em composição química e volume (KOROVINA et al., 1991a). Assim, se considerarmos que pode haver grandes diferenças nas necessidades de nutrientes essenciais em peixes, grupo sistemático com mais de 20.000 espécies, as adaptações do trato digestivo, órgãos, estruturas e organelas celulares que podem fazer uma utilização diferenciada dos alimentos, podem estar relacionadas também com a atividade metabólica, e não só com o hábito alimentar apresentado por uma determinada espécie. Logo, as diferenças morfológicas e histoquímicas existentes no intestino de *N. neglecta*, espécie bentônica relativamente inativa e, *T. newnesi*, uma espécie semipelágica ativa e planctônica, podem ser também relacionadas com as diferenças existentes no metabolismo energético de cada uma dessas espécies, resultando em uma diferente utilização dos nutrientes essenciais provenientes dos alimentos ingeridos.

O quadro abaixo faz uma comparação dos resultados obtidos nesse trabalho para *N. neglecta* e *T. newnesi*, com os resultados de HERNANDEZ-BLAZQUEZ (1996), para *N. neglecta*, e com dados coletados da literatura para peixes de climas tropical e temperado.

	Teleósteos Tropicais e Temperados (LITERATURA)	<i>Notothenia neglecta</i> Verão austral (HERNANDEZ-BLAZQUEZ, 1996)	<i>Notothenia neglecta</i> Primavera austral	<i>Trematomus newnesi</i> Verão austral
Cecos pilóricos	Lipídios	---	Lipídios	---
Porção proximal do I.M.	Lipídios	Lipídios	Lipídios	Lipídios Osmorregulação
Porção mediana do I.M.	Proteínas	Lipídios	Osmorregulação	Lipídios Osmorregulação
Porção distal do I.M.	Proteínas	Lipídios	Osmorregulação	Lipídios
Porção proximal do I.P.	Osmorregulação	Proteínas	Proteínas	Proteínas
Porção distal do I.P.	Osmorregulação	Proteínas	Proteínas	Proteínas

7. CONCLUSÕES

- *Notothenia neglecta* e *Trematomus newnesi* exibem as principais características do trato digestivo de peixes carnívoros, como um estômago grande e um intestino curto.
- O intestino das duas espécies de nototenídeos estudadas é dividido nas seguintes regiões: cecos pilóricos, intestino médio, constituído de 3 alças, valva íleo retal e intestino posterior.
- Os cecos pilóricos aumentam a superfície intestinal com capacidade de absorver nutrientes provenientes da dieta.
- A mucosa intestinal de *N. neglecta* e *T. newnesi* é composta por cinco tipos celulares: enterócitos, células caliciformes, células endócrinas, células com grânulos em bastonete e linfócitos.
- As células caliciformes ao longo de todo o intestino de *N. neglecta* e *T. newnesi*, secretam mucossustâncias neutras e ácidas.
- A secreção de mucossustâncias ácidas e neutras pelas células caliciformes do intestino posterior foi mais intensa em *N. neglecta*.
- As células caliciformes com grânulos de secreção compostos por mucossustâncias ácidas, ricas em grupamentos sulfatados, foram observadas ao longo de todo o intestino, exceto na mucosa dos cecos pilóricos de *N. neglecta*.
- Os enterócitos dos cecos pilóricos e da porção proximal do intestino médio de *N. neglecta*, capturada na primavera austral, exibem as principais características de células absorptivas de lipídios.
- Os enterócitos das porções mediana e distal do intestino médio, assim como, do intestino posterior de *N. neglecta* apresentaram características de células envolvidas em atividades dependentes de energia, como osmorregulação.

- ⇒ Enterócitos com características que sugerem transporte iônico são encontrados no intestino médio de *T. newnesi*.
- ⇒ Em *T. newnesi* capturados no verão austral, os enterócitos do intestino médio têm características de células com a função de absorção de lipídios.
- ⇒ O forte desenvolvimento da camada muscular, a presença da camada muscular da mucosa e a complexa topografia da camada mucosa do intestino posterior de *N. neglecta* estão determinando, acima de tudo, níveis de organização e parecem ser adaptações do trato digestivo desse peixe à sua capacidade de ingerir quantidades grandes e irregulares de alimento.
- ⇒ Os enterócitos do intestino posterior de *N. neglecta* e *T. newnesi* possuem características de células com a capacidade de absorver macromoléculas.
- ⇒ Tanto em *N. neglecta* como em *T. newnesi*, o esfíncter anal marca o final do intestino posterior e início do ânus, que é composto por um epitélio estratificado, contínuo com a epiderme da pele.
- ⇒ As características observadas e o extenso desenvolvimento do intestino das duas espécies de nototenídeos antárticos estudadas indicam que este é um órgão relativamente diferenciado e complexo.
- ⇒ A composição alimentar é um importante fator que afeta a evolução dos órgãos do sistema digestivo de peixes antárticos. No entanto, diferenças existentes no metabolismo energético podem resultar em uma utilização diferenciada dos nutrientes alimentares em espécies ecologicamente diferentes ou, até mesmo, em indivíduos de uma mesma espécie capturados em diferentes estações do ano. Sendo assim, diferenças morfológicas e histoquímicas detectadas no intestino podem estar relacionadas com esses fatores.

8. ANEXO

8.1. 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
Formalina Tamponada	12-24 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	2-5 minutos
Xileno II	2-5 minutos

- Impregnação

Em estufa a 58°C

Paraplast plus® I1-3 horas

Paraplast plus® II1-3 horas

- Inclusão

Em estufa mantida a 58°C, as amostras foram incluídas em Paraplast 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

- Desparafinização

Xileno I3 minutos

Xileno II3 minutos

- Hidratação

Etanol 100%3 minutos

Etanol 90%3 minutos

Etanol 70%3 minutos

H₂O correntelavagem

H₂O destiladalavagem

- Coloração

Segue-se o roteiro de cada corante.

- Desidratação

Etanol 95%3 minutos

Etanol 100%2x 3 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®.

8.2. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

- Fixação

Karnowski modificado (4°C)até o processamento

- Lavagens

Tampão cacodilato de sódio 0,2M pH 7,24x 15 min

- Pós- fixação

Tetróxido de ósmio 2% em tampão cacodilato 0,2M pH 7,21 hora

- Lavagens

Tampão cacodilato de sódio 0,2M pH 7,22x 10 min

- Tratamento com ácido tânico (ou tiocarbohidrazida)

Solução aquosa de ácido tânico 1%30 minutos

Para melhorar a condutividade

- Lavagens

H₂O destilada2x 5 min

- Impregnação com OsO₄

Tetróxido de ósmio 2 % em tampão cacodilato 0,2M pH 7,430 min

- Lavagens

H₂O destilada3x 5 min

-Desidratação

Etanol 70%2x 10 min

Etanol 90%2x 10 min

Etanol 100 %3x 10 min

- Ponto Crítico

Secagem com gás carbônico no aparelho de Ponto Crítico Balzers CDP 030.

- Montagem em suporte

Montagem em suporte porta-amostra (stub) utilizando cola de prata (Cat # 12630 Eletron Microscopy Sciences®) para fixar as amostras no suporte.

- Metalização

A metalização das amostras foi feita com uma camada de 20 nm de ouro, no aparelho Balzers SCD 050®.

8.3. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA
MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

- Fixação

Karnowsky modificado (4°C)até o processamento

- Lavagens

Tampão cacodilato de sódio 0,2M pH 7,24x 15 min

- Pós-fixação

Tetróxido de ósmio 2 % em tampão cacodilato 0,2M pH 7,21 hora

- Lavagem

H₂O destiladarápida

- Contrastação em bloco

Uranila 0,5% + sacarose30 min

- Lavagem

H₂O destiladarápida

-Desidratação

Álcool 70%30 min

Álcool 90%30 min

Álcool 100%2x 30 min

Óxido de propileno2x 30 min

- Pré-infiltração

Araldite + óxido de propileno (1:1)24 horas (tampa fechada)
 Araldite + óxido de propileno (1:1)16 horas (tampa aberta)

- Inclusão

Em moldes, na estufa a 58°C por 72 horas para a completa polimerização da resina.

- Ultramicrotomia

Os cortes semifinos e ultrafinos foram obtidos em ultramicrotomo da marca Leica.

- Coloração dos cortes semifinos

Os cortes semifinos foram corados com azul de toluidina.

O corante foi pingado sobre os cortes e aquecido em placa aquecedora.

Em seguida a lâmina foi lavada com água destilada e observada depois de seca.

- Contraste dos cortes ultrafinos

Acetato de uranila 2% aquosa10 min
 Lavagem em H₂O destilada3 vezes
 Secar em papel filtro
 Citrato de chumbo (Reynolds)1 min
 Lavagem em H₂O destilada3 vezes
 Secar em papel filtro

8.4. 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.

SOLUÇÃO SALINA DE CORTLAND + 0,1% TRITON

Solução salina de Cortland	100,0 mL
Triton	0,1 mL

Preparo:

Para cada 100mL da solução salina de Cortland, preparada como descrito acima, foi acrescentado 0,1mL do detergente Triton.

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.

FORMALINA TAMPONADA

Fonte: CULLING et al., 1985

Formalina	5,0 mL
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	0,53 g
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	0,20 g
H ₂ O destilada	50,0 mL (q.s.p.)

Preparo:

Dissolver o Na₂HPO₄.7H₂O e o NaH₂PO₄.H₂O em água destilada, acrescentar 5,0mL de formalina e completar o volume para 50,0mL com água destilada.

KARNOWSKY MODIFICADO

Fonte: KARNOWSKY, 1965

- Paraformaldeído 4%

Paraformaldeído	1,0 g
H ₂ O destilada	25,0 mL

Preparo:

Agitar sob aquecimento, quando atingir 60°C, adicionar NaOH 0,2M até a solução clarear. Preparar no momento do uso

- Glutaraldeído 10%

Glutaraldeído 25%	4,0 mL
H ₂ O destilada	6,0 mL

- Tampão Cacodilato de sódio 0,8M

Cacodilato de sódio (PM)	1,6 g
H ₂ O destilada	12,85 mL

Preparo:

Adicionar o cacodilato de sódio a 10mL de água destilada e acertar o pH para 7,2 (NaOH 0,1N ou HCl 0,1N). Completar o volume para 12,85mL.

- Karnowsky modificado

Paraformaldeído 4%	25,0 mL
Glutaraldeído 10%	12,5 mL
Cacodilato de sódio 0,8M	12,5 mL

Preparo:

Misturar as três soluções.

Essa solução pode ser estocada em freezer.

8.5. PREPARO DOS CORANTES UTILIZADOS EM MICROSCOPIA DE LUZ**HEMATOXILINA DE DELAFIELD**

Fonte: CULLING, 1985

- Solução A

Alúmen de amônio	55,0 g
H ₂ O destilada	600 mL

- Solução B

Hematoxilina	6,0 g
Etanol Absoluto	50 mL

- Solução C

Glicerol	150 mL
Etanol Absoluto	150 mL

Preparo:

Misturar as soluções A e B, deixar repousar *overnight*.

Filtrar e adicionar a solução C.

Deixar reservado por 6 a 8 semanas.

EOSINA

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

Eosina	0,5 g
Álcool 95 % P.A.	40 mL
H ₂ O 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 partes de álcool a 80 %.

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

ALCIAN BLUE pH 2,5

Fonte: CULLING et al., 1985

Alcian Blue 8 GX	1,0 g
H ₂ O destilada	97,0 mL
Ácido acético glacial	3,0 mL

Preparo:

Dissolver o Alcian Blue 8 GX em 90 ml de água destilada.

Acrescentar o ácido acético glacial.

Verificar o pH e ajustá-lo para o valor de 2,5 com HCl concentrado ou NaOH 10N.

Completar o volume para 100 ml e filtrar a solução.

Essa solução é estável por 2-4 semanas e deve ser filtrada a cada 7-10 dias ou antes do uso.

ALCIAN BLUE pH 1,0

Fonte: CULLING et al., 1985

- Alcian Blue 0,5%

Alcian Blue 8 GX	0,5 g
HCl 0,1N	100 mL

Preparo:

Misturar os reagentes.

ÁCIDO PERIÓDICO - REATIVO DE SCHIFF (PAS)

Fonte: CLARK, 1981; CULLING et al., 1985

- Reativo de Schiff

Fucsina básica	0,5 g
HCl 1N	10 mL
Metabissulfito de sódio	0,5 g
H ₂ O destilada	100 mL (q.s.p.)

Preparo:

Adicionar a fucsina básica na água fervendo, com muito cuidado, grão a grão, pois é explosiva.

Após a adição da fucsina, ferver por mais 5 minutos.

Deixar esfriar até 50°C, filtrar e acrescentar 10mL de HCl 1N.

Deixar esfriar até 25°C e adicionar 0,5g de metabissulfito de sódio.

Colocar a solução em um frasco âmbar e deixar sob refrigeração.

No dia seguinte a solução deverá apresentar cor palha, caso apresente cor rósea seguir um dos procedimentos descritos abaixo:

1. Adicionar 100mg de carvão ativado, filtrar e manter sob refrigeração.
2. Adicionar 1mL de HCl 1N + 0,5g de NaHSO₃ para 100mL de solução.

- Ácido Periódico 0,5%

Ácido periódico	0,5 g
H ₂ O destilada	100 mL

- Água Sulfurosa

Metabissulfito de sódio 10%	10 mL
HCl 1N	10 mL
H ₂ O bidestilada	180 mL

Preparo:

Misturar os reagentes da fórmula.

Preparar antes do uso.

ORANGE G

Fonte: CULLING et al., 1985

Orange G	2,0 g
Ácido fosfomolibdico	5,0 g
H ₂ O destilada	100mL (q.s.p.)

Preparo:

Dissolver o ácido fosfomolibdico na água destilada.

Acrescentar o Orange G.

Misturar bem todos os componentes.

VERDE-LUZ

Fonte: modificado de BEÇAK e VANREL, 1970

Verde-luz	2,0 g
H ₂ O destilada	100 mL

Preparo:

Dissolver o verde-luz na água destilada.

PICRO-SIRUS

Fonte: modificado de JUNQUEIRA e JUNQUEIRA, 1983

Solução aquosa saturada de ácido pícrico	100 mL
Sirus Red F3B200	0,1 g

Preparo:

Dissolver o Sirus-red na solução de ácido pícrico com auxílio de agitador magnético.

8.6. PREPARO DAS SOLUÇÕES UTILIZADAS NO PROCESSAMENTO PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO E DE VARREDURA

TAMPÃO CACODILATO DE SÓDIO 0,2M pH 7,2

Cacodilato de sódio (PM 214,02)	2,14 g
H ₂ O destilada	50 mL (q.s.p.)

Preparo:

Adicionar o cacodilato de sódio a 25mL de água destilada e acertar o pH para 7,2 (NaOH 0,1N ou HCl 0,1N). Completar o volume para 50mL.

TETRÓXIDO DE ÓSMIO 4%

Fonte: modificado a partir de CULLING et al., 1985; GLAUERT, 1986

OsO ₄	1,0 g
H ₂ O destilada	25 mL

Preparo:

Dissolver o OsO₄ na H₂O d, sob capela, com máscara e luvas.

Conservar a solução em três frascos, sendo o primeiro frasco, de dentro para fora, o portador da solução.

Manter a solução sob refrigeração.

Para o preparo de OsO₄ a 2 %, diluir a solução de OsO₄ a 4 % em tampão cacodilato de sódio 0,4 M na proporção 1:1.

URANILA 0,5% + SACAROSE

Uranila	0,5 g
Sacarose	13,3 g
H ₂ O destilada	100 mL

Preparo:

Misturar os ingredientes.

RESINA ARALDITE - EMS

Araldite 502	10 g
DDSA	7,8 g
DMP-30	0,27 g

Preparo:

Misturar bem os ingredientes, evitando a formação de bolhas.

Pode ser estocado em seringas descartáveis na geladeira.

AZUL DE TOLUIDINA

Azul de toluidina	1,0 g
Borato de sódio (Borax)	1,0 g
H ₂ O destilada	100 mL

Preparo:

Misturar bem todas as substâncias.

Guardar a solução em frasco âmbar em temperatura ambiente.

CITRATO DE CHUMBO

Fonte: REYNOLDS, 1963

Nitrato de chumbo	1,33 g
Citrato de sódio	1,76 g
NaOH	8,0 mL
H ₂ O destilada	200 mL (q.s.p.)

Preparo:

Ferver a água destilada por aproximadamente 15 minutos (até o volume passar de 200mL para 150mL).

Deixar esfriar no vácuo ou fechar o becker e resfriar em banho-maria, sempre agitando.

Em um balão volumétrico, misturar o nitrato de chumbo em 15mL da água fervida e agitar por cerca de 5 minutos. Manter o balão volumétrico fechado.

Acrescentar mais 15mL da água fervida e o citrato de sódio.

Agitar por 30 minutos para que o nitrato de chumbo se transforme em citrato de chumbo.

Essa solução fica leitosa, então deve-se acrescentar 8mL de NaOH a 4%, preparado com a água fervida. A solução fica transparente.

Completar o volume para 50mL.

O pH da solução deve ficar entre 11,8 e 12,5.

A solução deve ficar protegida da agitação.

A partir da segunda semana após o preparo, centrifugar a solução antes do uso.

ACETATO DE URANILA 2 %

Fonte: modificado a partir de GLAUERT, 1986

Acetato de uranila	1,0 g
H ₂ O destilada	50 mL (q.s.p.)

Preparo:

Dissolver o acetato de uranila em H₂O.

Evitar contato com a luz, evitando a precipitação da solução.

Guardar em frasco escuro.

A solução é válida por um mês.

SOLUÇÃO DE ÁCIDO TÂNICO

Fonte: GLAUERT, 1986

Ácido tânico (ou tiocarbohidrazida)	0,5 g
H ₂ O destilada	50 mL (q.s.p.)

Preparo:

Dissolver o ácido tânico na água destilada até completar dissolução.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-HUSSAINI, A. H. The feeding habit and morphology of the alimentary tract of some teleosts living in the neighbourhood of the Marine Biological Station, Ghardaga Red Sea. **Publ. Mar. Biol. Stat.**, Ghardaga, v. 5, p. 4-61, 1947.
- AL-HUSSAINI, A. H. On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits: anatomy and histology. **J. Microsc.**, Oxford, v. 90, p. 109-139, 1949.
- ANDERSON, T. A. Histological and cytological structure of the gastrointestinal tract of the luderick, *Girella tricuspidata* (Pisces, Kyphosidae), in relation to diet. **J. Morphol.**, New York, v. 190, p. 109-119, 1986.
- ANDREWS, K. J. H. The distribution and life-history of *Calanoides acutus* (Giesbrecht). **Discovery Rep.**, Surrey, v. 36, p. 117-162, 1966.
- ARNAUD, P. M. Frequency and ecological significance of necrophagy among the benthic species of Antarctic coastal waters. In: HOLDGATE, M. W. **Antarctic Ecology**. London: Academic Press, 1970. v. 1, p. 259-267.
- ARNAUD, P. M.; HUREAU, J. C. Régime alimentaire de trois Teleostéens Nototheniidae antarctiques (Terre Adélie). **Bull. Inst. Oceanogr.**, Monaco, v. 66, p. 1-24, 1966.
- ASENCIO, G.; MORENO, C. A. Dieta y selectividad alimentaria de *Protomyctophum bolini* Fraser-Brunner (Pisces; Myctophidae) en el paso Drake (Antarctica). **Ser. Cient. INACH**, v. 31, p. 85-96, 1984.
- BAKHTIN, E. K.; FILUSHINA, E. E. The ultrastructural basis of secretion in the small secretory cells of the olfactory epithelium in *Lucioperca lucioperca* and *Perca fluviatilis*. **Tsitologiya**, Petersburg, v. 16, p. 90-93, 1974.

BALBONTIN, F.; GARRETON, M.; NEULING, J. Composicion del alimento y tamaño de las presas en larvas de peces del estrecho Bransfield (SIBEX - Fase II - Chile). **Ser. Cient. INACH**, v. 35, p. 125-144, 1986.

BARBER, D. L.; MILLS WESTERMAN, J. E.; JENSEN, D. N. New observations on the rodlet cell (*Rhabdospora thelohani*) in the white sucker *Catostomus commersoni* (Lacepede): LM and EM studies. **J. Fish Biol.**, London, 14, p. 277-284, 1979.

BARRERA-ORO, E. R.; CASAUX, R. J. Feeding selectivity in *Notothenia neglecta*, Nybelin, from Potter Cove, South Shetland Island, Antarctica. **Antarct. Sci.**, Oxford, v. 2, n. 3, p. 207-213, 1990.

BEÇAK, W. Y.; VANRELL, J. P. **Técnicas de citologia e histologia**. São Paulo: Nobel, 1970. 470 p.

BERGOT, P.; SOLARI, A.; LUQUET, P. Comparaison des surfaces absorbantes des caeca pyloriques et de l'intestin chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*, Rich.). **Annales de Hydrobiologie**, v. 6, p. 27-43, 1975.

BERTIN, L. Appareil digestif. In: GRASSÉ, P. P. **Traite de Zoologie**. Paris: Masson, 1958. v. 13, p. 1248-1302.

BLOCK, W. Terrestrial ecosystems: Antarctica. **Polar Biol.**, Berlin, v. 14, p. 293-300, 1994.

BROWN, S. G.; LOCKYER, C. H. Whales. In: LAWS, R. M. **Antarctic Ecology**. London: Academic Press, 1984. v. 2, p. 717-781.

BRYAN, P. G. Food habits; functional digestive morphology, and assimilation efficiency of the rabbitfish *Siganus spinus* (Pisces, Siganidae) on Guam. **Pac. Sci.**, Honolulu, v. 29, p. 269-277, 1975.

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

- BUCKE, D. The anatomy and histology of the alimentary tract of the carnivorous fish the pike *Esox lucius* L. **J. Fish Biol.**, London, v. 3, p. 421-431, 1971.
- BUDDINGTON, R. K.; DIAMOND, J. M. Pyloric ceca of fish: a "new" absorptive organ. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v. 252, n. 15, p. G65-G76, 1987.
- BURCHETT, M. S. The ecology of some coastal fish populations at South Georgia. **Prog. Underwater Sci.**, Kent, v. 7, p. 15-20, 1982.
- BURCHETT, M. S. Age and growth of the antarctic fish *Notothenia rossi* from South Georgia. **Br. Antarct. Surv. Bull.**, Cambridge, v. 60, p. 45-61, 1983a.
- BURCHETT, M. S. Food, feeding and behaviour of *Notothenia rossii marmorata* nearshore at South Georgia. **Br. Antarct. Surv. Bull.**, Cambridge, v. 61, p. 45-51, 1983b.
- BURCHETT, M. S.; SAYERS, P. J.; NORTH, A. W.; WHITE, M. G. Some biological aspects of the nearshore fish populations at South Georgia. **Br. Antarct. Surv. Bull.**, Cambridge, n. 59, p. 63-74, 1983.
- BURKHARDT-HOLM, P., SCHUMACHER, U., WELSCH, U.; STORCH, V. Carbohydrate-histochemistry of the intestine of teleosts with different dietary habits. **Z. mikrosk. anat. Forsch.**, Leipzig, v. 103, n. 3, p. 476-494, 1989.
- CASAUX, R. J.; MAZZOTA, A. S.; BARRERA-ORO, E. R. Seasonal aspects of the biology and diet of nearshore nototheniid fish at Potter Cover, South Shetland Island, Antarctica. **Polar Biol.**, Berlin, v. 11, p. 63-72, 1990.
- CLARK, G. (Ed.). **Staining procedures**. 4. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1981. 512p.
- CLARKE, A. Life in cold water: The physiological ecology of polar marine ectotherms. **Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.**, Winchester, v. 21, p. 341-453, 1983.

- CLARKE, A. Seasonality in the antarctic marine. **Comp. Biochem. Physiol.**, Oxon, v. 90B, 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. **Biology of Antarctic Fish**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p. 54-69.
- CLARKE, A. J.; WITCOMB, D. M. A study of histology and morphology of the digestive tract of the commom ell (*Anguilla anguilla*). **J. Fish Biol.**, London, v. 16, p. 159-170, 1980.
- CORNELL, R.; PADYKULA, H. A. A cytological study of intestinal absorption in the suckling rat. **Amer. J. Anat.**, v. 125, p. 291-316, 1969.
- CROSS, P. C.; MERCER, K. L. **Cell an Tissue Ultrastructure. A Functional Perspective**. New York: W. H. Freeman and Company, 1993. 420p.
- CROXALL, J. P. Seabirds. In: LAWS, R. M. **Antarctic Ecology**. London: Academic Press, 1984. v. 2, p. 533-619.
- CULLING, C. F. A.; ALLISON, R. T.; BARR, W. T. **Cellular pathology technique**. 4. ed. London: Butterworth, 1985. 642 p.
- DABROWSKI, K. Ecophysiological Adaptation Exist In Nutrient Requirements Of Fish: True Or False? **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 104A, p. 579-584, 1993.
- DANIELS, R. A. Feeding ecology of some fishes of the Antarctic Penninsula. **Fish. Bull.**, Dublin, v. 80, n. 3, p. 575-588, 1982.
- DANIELS, R. A.; LIPPS, J. H. Predation on foraminifera by antarctic fish. **J. Foraminiferal Res.**, Cambridge, v. 8, p. 110-113, 1978.
- DANIELS, R. A.; LIPPS, J. H. Distribution and ecology of fishes of the Antarctic Peninsula. **J. Biogeogr.**, Oxford, v. 9, p. 1-9, 1982.

- DESSER, S. S.; LESTER, R. An ultrastructural study of the enigmatic "rodlet cells" in the white sucker *Catostomus commersoni*. **Can. J. Zool.**, Ottawa, v. 53, p. 1483-1494, 1975.
- DeVRIES, A. L. The role of antifreeze glycopeptides in the freezing avoidance of Antarctic fishes. **Comp. Biochem. Physiol.**, Oxon, v. 90A, p. 611-621, 1988.
- DeWITT, H. H. Coastal and deep-water benthic fishes of the Antarctic. **Antarctic Map Folio Series**, New York: American Geographic Society, 1971. Folio 15, p. 1-10.
- Di PRISCO G., MARESCA B.; TOTA, B (eds.) **Biology of Antarctic Fish**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. 292p.
- DIAMOND, J. M. Reabsorption of digestive enzymes: playing with poison. **Nature**, v. 211, p. 111-112, 1976.
- DOWNING, S. W.; NOVALES, R. R. The fine structure of lamprey epidermis. II. Club cells. **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v. 35, p. 301-314, 1971.
- DUARTE, W. E.; MORENO, C. A. The specialized diet of *Harpagifer bispinis*: Its effect on the diversity of Antarctic intertidal amphipods. **Hydrobiology.**, Dordrecht, v. 80, p. 241-250, 1981.
- DUHAMEL, G. Biology and population dynamics of *Notothenia rossi* from the Kerguelen Islands (Indian sector of Southern Ocean). **Polar Biol.**, Berlin, v. 1, p. 141-151, 1982.
- DUHAMEL, G.; HUREAU, J. C. The role of zooplankton in the diets of certain sub-antarctic marine fish. In: SIEGFRIEF, W. R. CONDY, P. R.; LAWS, R. M. **Antarctic Nutrient Cycles and Food Webs**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. p. 421-429.
- DZHUMALYEV, 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. Histological observations on the digestive system of the antarctic fish *Trematomus borchgrevinki*. **Anat. Rec.**, New York, v. 181, p. 529, 1975.
- EASTMAN, J. T. Evolution and diversification of antarctic notothenioid fishes. **Am. Zool.**, Lawrence, v. 31, n. 1, p. 93-109, 1991.
- EASTMAN, J. T. **Antarctic Fish Biology: Evolution in a Unique Environment**. London:Academic Press, 1993. 322 p.
- EASTMAN, J. T.; DeVRIES, A. L. Buoyancy of notothenioid fishes in McMurdo Sound, Antarctica. **Copeia**, Carbondale, v. 2, p. 385-393, 1982.
- EASTMAN, J. T.; DeVRIES, A. L. Morphology of the digestive system of antarctic nototheniid fishes. **Polar Biol.**, Berlin, v. 17, p. 1-13, 1997.
- EKAU, W. Demersal fish fauna of the Weddell Sea, Antarctica. **Antarct. Sci.**, Oxford, v. 2, p. 129-137, 1990.
- EKAU, W. Morphological adaptations and mode of life in high antarctic fish. In: DI PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B. **Biology of Antarctic Fish**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p. 23-39.
- ELBAL, M. T.; AGULLEIRO, B. A histochemical and ultrastructural study of the gut of *Sparus auratus* (Teleostei). **J. Submicrosc. Cytol.**, v. 18, n. 2, p. 335-347, 1986.
- ELBAL, M. T.; LOZANO, M. T.; AGULLEIRO, B. The endocrine cells in the gut of *Mugil saliens* Risso, 1810 (Teleostei): an immunocytochemical and ultrastructural study. **Gen. Comp. Endocrinol.**, Orlando, v. 70, n. 2, p. 231-246, 1988.
- EVERSON, I. The population dynamics and energy budget of *Notothenia neglecta* Nybelin at Signy Island, South Orkney Islands. **Br. Antarct. Surv. Bull.**, Cambridge, v. 23, p. 25-50, 1970.

- EVERSON, I. **The living resources of the Southern Ocean**. FAO/UN Development Programme, 1977. GLO/SO/77/1, 156p.
- EVERSON, I. Fish biology. In: LAWS, R. M. **Antarctic Ecology**. London: Academic Press, 1984. v. 2, p. 491-532.
- EZEASOR, D. N. The fine structure of the gastric epithelium of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson. **J. Fish Biol.**, London, v. 19, p. 611-627, 1981.
- EZEASOR, D. N.; STOKOE, W. M. Light and electron microscopic studies on the absorptive cells of the intestine, caeca, and rectum of the adult rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Rich. **J. Fish Biol.**, London, v. 18, p. 527-544, 1981.
- FÄNGE, R.; GROVE, D. Digestion. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; BRETT, J. R. **Fish Physiology**. London: Academic Press, 1969. v. VIII, p. 161-260.
- FANTA, E. Influence of background color on the behaviour of the fish *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Arq. Biol. Tecnol.**, v. 38, n, 4, p. 1237-1257, 1995.
- FANTA, E. Laboratory tests on feeding interactions of some Antarctic fish from Admiralty Bay (King George Island, South Shetlands). **Polish Polar Res.**, 1998 (no prelo).
- FANTA, E.; MEYER, A. A. Behavioural strategies for feeding of the Antarctic fishes *Notothenia neglecta*, *Notothenia coriiceps*, *Trematomus bernachii*, *Pagothenia borchgrewinki*, *Lepidonotothen nudifrons* and *Pleuragrama antarctica*. (Pisces, Nototheniidae). **Nankioku Shiriô (Antarctic Record)**, Tokio, 1998 (no prelo).
- FANTA, E.; DONATTI, L.; FREIBERGER, S. Visual influency in detection and initiation of feeding behaviour in the Antarctic fish *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902. **Nankioku Shiriô (Antarctic Record)**, Tokio, 1998 (no prelo).

FANTA, E.; MEYER, A. A.; GRÖTZNER, S. R.; LUVIZOTTO, M. F. Comparative study on feeding strategy and activity patterns of two antarctic fish: *Trematomus newnesi* (Boulenger, 1902) and *Gobionotothen gibberifrons* (Lönnerberg, 1905) (Pisces, Nototheniidae) under different light conditions. **Antarct. Rec.**, Itabashi, v. 38, n. 1, p. 13-29, 1994a.

FANTA, E.; MEYER, A. A.; GRÖTZNER, S. R.; SANT'ANNA, F. Feeding strategies of some antarctic notothenidae fish and certain structures used for food selection. In: **SCAR Biology Symposium** (1994: Venice). Abstract: Antarctic Communities: Species, Structure and Survival, 1994b. p. 89.

FERRARIS, R. P.; AHEARN, G. A. Sugar and amino acid transport in fish intestine. **Comp. Biochem. Physiol.**, Oxon, v. 77A, p. 397-413, 1984.

FISHER, W.; HUREAU, J. C. (Ed.) FAO Species identification sheets for fishery purposes: Southern Ocean. **Food and Agriculture Organization of United Nations**. Rome, 1985. v. 2.

FOSTER, T. D. The marine environment. In: LAWS, R. M. **Antarctic Ecology**. London: Academic Press, 1984. v. 2, p. 345-371.

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

FOXTON, P. The distribution of the standing crop of zooplankton in the Southern Ocean. **Discovery Rep.**, Surrey, v. 28, p. 191-236, 1956.

FREIBERGER, S. **Estudo histológico e ultraestrutural do estômago e aspectos do comportamento alimentar do peixe antártico *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951 submetido a períodos de jejum**. Curitiba, 1996. 135 p. Tese (Mestrado em Biologia Celular). Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

- GAUTHIER, G. F.; LANDIS, S. C. The relationship of ultrastructural and cytochemical features to absorptive activity in the goldfish intestine. **Anat. Rec.**, New York, v. 172, p. 675-702, 1972.
- GEEVARGHESE, C. Morphology of the alimentary tract in relation to diet among gobioid fishes. **J. Nat. Hist.**, London, v. 17, p. 731-741, 1983.
- GEORGOPOULOU, U.; SIRE, M. F.; VERNIER, J. M. Macromolecular absorption of proteins by epithelial cells of the posterior intestine segment and their intracellular digestion in the rainbow trout. Ultrastructural and biochemical study. **Biol. Cell**, New York, v. 53, p. 269-282, 1985.
- GEORGOPOULOU, U.; VERNIER, J. M. Local immunological response in the posterior intestinal segment of the rainbow trout after oral administration of macromolecules. **Dev. Comp. Immunol.**, Tarrytown, v. 10, p. 529-537, 1986.
- GODINHO, H., TOKUMARU, M.; FERRI, A. G. Histologia do trato digestivo de *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei). **Rev. Brasil. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 4, p. 583-593, 1970.
- GON, O.; HEEMSTRA, P. C. (eds.) **Fishes of the Southern Ocean**. África do Sul: J. L. B. Smith Institute of Ichthyology, 1990. 462p.
- GRAU, A.; CRESPO, S.; SARAQUESTE, M. C.; GONZÁLEZ de CANALES, M. L. The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. **J. Fish Biol.**, London, v. 41, p. 287-303, 1992.
- 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.**, Stuttgart, v. 42, n.1, 1994.

- GRÖTZNER, S. R. **Estudo morfo-funcional comparativo da retina dos peixes antárticos *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* Lönnberg, 1905 e *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902.** Curitiba, 1994. 71 p. Tese (Mestrado em Biologia Celular). Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- HEADLAND, R. K. A historical review of Antarctic ichthyology. In: GON, O.; HEEMSTRA, P. C. **Fishes of the Southern Ocean.** África do Sul: J. L. B. Smith Institute of Ichthyology, 1990. p. 1-5.
- HENRIKSON, R. C.; MATOLTSY, A. G. The fine structure of teleost epidermis. III. Club cells and others cell types. **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v. 21, p. 222-232, 1968.
- HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. **Absorção de lipídios e proteínas no intestino do peixe antártico *Notothenia neglecta*.** Ultraestrutura. São Paulo, 1996. 123p. Tese (Professor Livre-Docente). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.
- HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J.; NACHI, A. M.; FERRI, S. e FERREIRA, N. Fat intestinal absorption in catfish. A histochemical study in glycol methacrylate embedded tissue. **Gegenbaurs Morphol. Jahrb.**, Leipzig, v. 135, n. 6, p. 941-946, 1989.
- HIBIYA, T. **An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features.** Tokio: Kodansha Ltd., 1982. 147pp.
- HOFER, R. Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprinid. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 72A, p. 55-63, 1982.
- HOURIGAN, T. F.; RADTKE, R. L. Reproduction of the antarctic fish *Nototheniops nudifrons*. **Mar. Biol.**, New York, v. 100, p. 277-283, 1989.
- HUBOLD, G.; EKAU, W. Feeding patterns of post-larval and juvenile notothenioids in the southern Weddell Sea (Antarctica). **Polar Biol.**, Berlin, v. 10, p. 225-260, 1990.

- HUBOLD, G. Ecology of Notothenioid Fish in the Weddell Sea. In: (Di PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B. **Biology of Antarctic Fish**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p. 03-22.
- HUREAU, J. C. Biologie comparée de quelques poissons antarctiques (Nototheniidae). **Bull. Inst. Océanogr.**, Monaco, v. 68, n. 1391, p. 1-244, 1970.
- HUREAU, J. C. The significance of fish in the marine Antarctic ecosystems. **Polar Biol.**, Berlin, v. 14, p. 307-313, 1994.
- INOUE, T. High resolution scanning electron microscopic cytology. Science of Biological Specimen Preparation. **SEM Inc., AMF O'Hare**, Chicago, p. 245-256, 1985.
- IWAMI, T. Osteology and relationships of the family Channichthyidae. **Mem. Natl. Inst. Polar Res. Ser. E**, Tokio, v. 36, p. 1-69, 1985.
- JOBLING, M. **Environmental Biology of Fishes**. London: Chapman & Hall, 1995. 455p.
- JOHNSTON, I. A. Antarctic fish muscles: structure, function and physiology. **Antarct. Sci.**, Oxford, v. 1, p. 97-108, 1989.
- JOHNSTON, I. A. Cold adaptation in marine organisms. **Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.**, London, v. 326, p. 655-667, 1990.
- JOHNSTON, I. A.; BATTRAM, J. Feeding energetics and metabolism in demersal fish species from Antarctic, temperate and tropical environments. **Mar. Biol.**, New York, v. 115, n. 1, p. 7-14, 1993.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, 1983. p. 51.

- KAPOOR, B. G.; SMIT, H.; VERIGHINA, I. A. The alimentary canal and digestion in teleost. **Adv. in Mar. Biol.**, v. 13, p. 109-139, 1975.
- KELLERMANN, A. Food and feeding ecology of postlarval and juvenile *Pleuragrama antarcticum* (Pisces; Notothenioidei) in seasonal pack ice zone of the Antarctic Peninsula. **Polar Biol.**, Berlin, v. 7, p. 307-315, 1987.
- KELLERMANN, A. Food and feeding of early stage *Chionodraco rastrospinosus* DeWitt and Hureau 1979 (Pisces; Notothenioidei) of Antarctic Peninsula. **Pesq. Antart. Bras.**, v. 1, p. 25-30, 1989.
- KELLERMANN, A. Food and feeding dynamics of the larval antarctic fish *Nototheniops larseni*. **Mar. Biol.**, New York, v. 106, p. 159-167, 1990.
- KIRSCH, R.; MEISTER, M. F. Progressive processing of ingested water in the gut of sea-water teleosts. **J. Exp. Biol.**, v. 98, p. 67-81, 1982.
- KOCK, K. H. Krill consumption by antarctic notothenioid fish. In: SIEGFRIEF, W. R.; CONDY, P. R.; LAWS, R. M. **Antarctic Nutrient Cycles and Food Webs**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. p. 437-444.
- KOCK, K. H. Marine consumers: fish and squid. **Environm. Int.**, Tarrytown, v. 13, p. 37-54, 1987.
- KOCK, K. H. **Antarctic fish and fisheries**. Cambridge: University Press, 1992. 359p.
- KOCK, K. H.; KELLERMAN, A. Reproduction in antarctic fish: a review. **Antarct. Sci.**, Oxford, v. 3, p. 125-150, 1991.
- KOROVINA, V. M. Anatomical-histological peculiarities of the intestine of *Patagonotothen ramsayi* (Nototheniidae). **J. Ichthyol.**, Bethesda, v. 26, p. 48-54, 1986.

- KOROVINA, V. M.; PRIRODINA, V. P. Anatomical-histological features of the intestine of the sculpin spinecheek *Cottoperca gobio* (Bovichthyidae, Notothenioidei). **J. Ichthyol.**, Bethesda, v. 26, p. 130-136, 1986.
- KOROVINA, V. M.; NEYELOV, A. V.; BONDARENKO, Y. P. The anatomy and histology of the intestine of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt). **J. Ichthyol.**, Bethesda, v. 31, p. 34-40, 1991a.
- KOROVINA, V. M.; NEYELOV, A. V.; BONDARENKO, Y. P. Intestinal anatomy and histology of the marbled notothenia *Notothenia rossi marmorata*. **J. Ichthyol.**, Bethesda, v. 31, p. 79-90, 1991b.
- KULESZ, J. Seasonal biology of *Notothenia gibberifrons*, *N. rossi* and *Trematomus newnesi*, as well as respiration of young fish from Admiralty Bay (King George, South Shetland Islands). **Pol. Arch. Hydrobiol.**, Lamianki, v. 41, n. 1, p. 79-102, 1994.
- KUPERMAN, B. I.; KUZ'MINA, V. V. The ultrastructure of the intestinal epithelium in fishes with different types of feeding. **J. Fish Biol.**, London, v. 44, n. 2, p. 181-193, 1994.
- LAGLER, K. F., BARDACH, J. E.; MILLER, R. R. **Ichthyology - The study of fishes**. New York: John Willey & Sons, 1962.
- LAGLER, K. F.; BARDACH, J. E.; MILLER, R. R.; PASSINO, D. R. M. **Ichthyology**. New York: John Willey & Sons, 1977. 506p.
- LA MESA, M.; VACCHI, M.; CASTELLI, A.; DIVIACCO, G. Feeding ecology of two nototheniid fishes, *Trematomus hansonii* and *Trematomus loennbergii*, from Terra Nova Bay, Ross Sea. **Polar Biol.**, Berlin, v. 17, p. 62-68, 1997.
- LAWS, R. M. Seals. In: LAWS, R. M. **Antarctic Ecology**. London: Academic Press, 1984. v. 2, p. 621-715.

- LAWS, R. M. The ecology of the Southern Ocean. **Am. Sci.**, New Haven, v. 73, p. 26-40, 1985.
- LEINO, R. L. Ultrastructure of immature, developing and secretory rodlet cells in fish. **Cell Tissue Res.**, Berlin, v. 155, p. 367-381, 1974.
- LEINO, R. L. Rodlet cells in the gill and intestine of *Catostomus commersoni* and *Perca flavescens*: a comparison of their light and electron microscopic cytochemistry with that of mucous and granular cells. **Can. J. Zool.**, Ottawa, v. 60, p. 2768-2782, 1982.
- LINKOWSKI, T. B.; REMBISZEWSKI, J. M. Ichthyological observations off the South Georgia coast. **Pol. Arch. Hidrobiol.**, Lamianki, v. 25, p. 697-704, 1978.
- LINKOWSKI, T. B.; PRESLER, P.; ZUKOWSKI, C. Food habits of nototheniid fishes (Nototheniidae) in Admiralty Bay (King George Island, South Shetland Island). **Pol. Polar Res.**, Warsaw, v. 4, n. 1-4, p. 79-95, 1983.
- LORETZ, C. A. Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells. In: WOOD, C. M.; SHUTTLEWORTH, T. J. **Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation**. London: Academic Press, 1995. p. 25-56.
- MACDONALD, J. A.; MONTGOMERY, J. C. The sensory biology of nototheniid fish. In: Di PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B. **Biology of Antarctic Fish**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p. 145-162.
- MARSZ, A. A. From surveys of the geomorphology of the shores and bottom of the Ezcurrea Inlet. **Oceanologia**, Wroclaw, v. 15, p. 209-220, 1983.
- MATALLANAS, J. Datos morfológicos y morfométricos del tracto alimentario de peces del Canal de Beagle. **Misc. Zool.**, v. 12, p. 237-243, 1988.

- MATTEY, D. L.; MORGAN, M.; WRIGHT, D. E. Distribution and development of rodlet cells in the gills and pseudobranch of the bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). **J. Fish Biol.**, London, v. 15, p. 363-370, 1979.
- MAYBERRY, L. G.; MARCHIONDO, A. L.; UBELAKER, J. E.; KAZIC, D. *Rhabdospora thelohani* Laguesse, 1895 (Apicomplexa): new host and geographic records with taxonomic considerations. **J. Protozool.**, v. 26, p. 168-178, 1979.
- McKENNA Jr, J. E. Trophic relationships within the antarctic demersal fish community of South Georgia Island. **U. S. Natl. Mar. Fish. Serv. Fish. Bull.**, Seattle, v. 89, n. 4, p. 643-654, 1991.
- MEYER, A. A. **Estudo morfofuncional de estruturas quimio-sensoriais do peixe antártico *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902.** Curitiba, 1996. 105 p. Tese (Mestrado em Biologia Celular). Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- MEYER, A. A. ; FANTA, E. Morphofunctional study of chemosensorial structures of the Antarctic fish *Trematomus newnesi*, Boulenger 1902, used for food detection and selection. **Pesquisa Antártica Brasileira**, v. 3, 1998 (no prelo).
- MOK, H. K. Notes on the classification of actinopterygian intestinal patterns. **Jpn. J. Ichthyol.**, Tokio, v. 27, p. 29-40, 1980.
- MONTGOMERY, J. C.; COOMBS, S. Physiological characterization of lateral line function in the antarctic fish *Trematomus bernacchii*. **Brain Behav. Evol.**, Basel, v. 40, p. 209-216, 1992.
- MONTGOMERY, J. C.; MACDONALD, J. A. Sensory tuning of lateral line receptors in antarctic fish to the movements of planktonic prey. **Science (Washington D. C.)**, v. 235, p. 195-196, 1987.

- MONTGOMERY, J. C.; FOSTER, B. A.; MILTON, R. C.; CARR, E. Spatial and temporal variations in the diet of nototheniid fish in McMurdo Sound, Antarctica. **Polar Biol.**, Berlin, v. 13, p. 429-431, 1993.
- MORENO, C. A.; BAHAMONDE, N. Nichos alimentarios y competencia por alimento entre *Notothenia coriiceps neglecta* Nybelin y *Notothenia rossi marmorata* Fisher en Shetland del Sur, Antarctica. **Ser. Cient. INACH**, v. 3, n. 1, p. 45-62, 1975.
- MORENO, C. A.; OSÓRIO, H. H. Bathymetric food habit changes in the antarctic fish, *Notothenia gibberifrons* Lönnberg (Pisces: Nototheniidae). **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 55, p. 139-144, 1977.
- MORENO, C. A.; ZAMORANO, J. H. Selección de los alimentos en *Notothenia coriiceps neglecta* del cinturón de macroalgas de Bahía South, Antártica. **Ser. Cient. INACH**, n. 25-26, p. 33-43, 1980.
- MURPHY, J. A.; ROOMANS, G. M. (eds). **Preparation of Biological Specimens for Scanning Electron Microscopy**. Scanning Electron Microscopy, Inc., AMF O'Hare, II. 1984.
- MORRISON, C. M.; ODENSE, P. H. Distribution and morphology of the rodlet cell in fish. **J. Fish. Res. Board Can.**, Ottawa, v. 35, p. 101-116, 1978.
- MURRAY, H. M.; WRIGHT, G. M.; GOFF, G. P. A comparative histological and histochemical study of the post-gastric alimentary canal from three species of pleuronectid, the atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. **J. Fish Biol.**, London, v. 48, p. 187-206, 1996.
- NACHI, A. M. Absorção de macromoléculas e atividade fagocitária no epitélio intestinal de *Prochilodus scrofa*. São Paulo, 1993. 163p. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

- NOAILLAC-DEPEYRE, J.; GAS, N. Absorption of protein macromolecules by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.). **Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.**, Berlin, v. 146, p. 525-541, 1973.
- NOAILLAC-DEPEYRE, J.; GAS, N. Fat absorption by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.). **Cell Tissue Res.**, Berlin, v. 155, p. 353-365, 1974.
- NOAILLAC-DEPEYRE, J.; GAS, N. Electron microscopic study on the gut epithelium of the tench (*Tinca tinca* L.) with respect to its absorptive functions. **Tissue Cell**, Edinburgh, v. 8, n. 3, p. 511-530, 1976.
- NOAILLAC-DEPEYRE, J.; GAS, N. Structure and function of intestinal epithelial cells in the perch (*Perca fluviatus* L.). **Anat. Rec.**, New York, v. 195, p. 621-640, 1979.
- NOAILLAC-DEPEYRE, J.; GAS, N. Ultrastructure of endocrine cells in the stomach of two teleost fish, *Perca fluviatilis* L., and *Ameiurus nebulosus*. **Cell Tissue Res.**, Berlin, v. 221, p. 657-678, 1982.
- NOAILLAC-DEPEYRE, J.; GAS, N. Etude cytophysiologique de l'épithelium intestinal du poisson-chat *Ameiurus nebulosus*. **Can. J. Zool.**, Ottawa, v. 61, p. 2556-2573, 1983.
- NORTH, A. W. Age of antarctic fish: validation of the timing of annuli formation in otoliths and scales. **Cybium**, Paris, v. 12, p. 107-114, 1988.
- NORTH, A. W.; WARD, P. Initial feeding by antarctic fish larvae during winter at South Georgia. **Cybium**, Paris, v. 13, p. 357-364, 1989.
- NORTH, A. W. Review of the early life history of Antarctic notothenioid fish. In: Di PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B. **Fish Biology of Antarctic**. Berlin: Springer-Verlag, 1991. p. 71-86.
- OJEDA, F. P. Morphological characterization of the alimentary tract of Antarctic fishes and its relation to feeding habits. **Polar Biol.**, Berlin, v. 5, p. 125-128, 1986.

- OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. **Histologia, histoquímica de carboidratos e ultraestrutura superficial do trato digestivo de *Trichomycterus* sp. (Valenciennes, 1833) (Pisces, Siluroidei)**. Curitiba, 1991. 239p. Tese (Mestrado em Biologia Celular). Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- OLSON, K. R.; FROMM, P. O. A scanning electron microscopic study of secondary lamellae and chloride cells of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Z. Zellforsch.**, v. 143, p. 439-449.
- PABST, R. The anatomical basis for the immune function of the gut. **Anat. Embryol.**, Berlin, v. 176, p. 135-144, 1987.
- PANKHURST, N. W.; MONTGOMERY, J. C. Visual function in four antarctic nototheniid fishes. **J. Exp. Biol.**, Cambridge, v. 142, p. 311-324, 1989.
- PERMITIN, Y. E. The consumption of krill by antarctic fish. In: HOLDGATE, M. W. **Antarctic Ecology**. London: Academic Press, 1970. v. 1, p. 177-182.
- PERMITIN, Y. E.; TARVERDYIEVA, M. I. The food of some antarctic fish in the South Georgia area. **J. Ichthyol.**, Bethesda, v. 12, p. 104-114, 1972.
- PERMITIN, Y. E.; TARVERDYIEVA, M. I. Feeding of antarctic cods (Nototheniidae) and ice-fishes (Chaennichthyidae) near the South Orkney Island. **Biol. Morya (Vladivost)**, v. 2, p. 75-81, 1978.
- POLICANSKY, D. History and atlas of the fishes of the Antarctic Ocean. **Science (Washington DC)**, v. 264, p. 1002-1004, 1994.
- POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; McFARLAND, W. N. **A Vida dos Vertebrados**. São Paulo: Atheneu, 1993. 839p.

PRUSZAK, Z. Currents circulation in the waters of Admiralty Bay (region of Arctowski Station on King George Island). **Pol. Polar Res.**, Warsaw, v. 1, n. 1, p. 55-74, 1980.

RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. Environmental conditions and the 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.

RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. The structure and functioning of the nearshore ecosystem. In: **The maritime antarctic coastal ecosystem of the Admiralty Bay**. Warsaw: Polish Academy of Sciences, 1993. p. 7-14.

RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S.; BATTKE, Z.; CISAK, J. Morphometry of the Admiralty Bay shores and basin. In: **The maritime antarctic coastal ecosystem of the Admiralty Bay**. Warsaw: Polish Academy of Sciences, 1993. p. 27-30.

READ, J. B.; BURNSTOCK, G. Fluorescent histochemical studies on the mucosa of the vertebrate gastrointestinal tract. **Histochemie**, Berlin, v. 16, p. 324-332, 1968.

REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as na electron-opaque stain in electron microscopy. **J. Cell Biol.**, v. 17, p. 208, 1963.

RICHARDSON, M. G. The dietary composition of some Antarctic fish. **Br. Antarct. Surv. Bull.**, Cambridge, v. 41-42, p. 113-120, 1975.

RIOS, F. S. **Ecomorfologia do aparato branquial faríngeo do peixe antártico *Notothenia neglecta* Nybelin (1951) em relação ao hábito alimentar**. Curitiba, 1997. 127 p. Tese (Mestrado em Biologia Celular). Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

RIOS, F. S.; FANTA, E. Morphology of gill rakers and their ecological function in the feeding on the Antarctic fish *Notothenia neglecta* Nybelin, 1951. **Nankyoku Shiriô (Antarctic Record)**, Tokyo, v. 42, n. 2, p. 131-150, 1998.

- RIVKIN, R. B.; PUTT, M. Diel periodicity of photosynthesis in polar phytoplankton: influence on primary production. **Science (Washington DC)**, v. 238, p. 1285-1288, 1987.
- ROMBOUT, J. H. W. M. Enteroendocrine cells in the digestive tract of *Barbus conchoni* (Cyprinidae). **Cell Tissue Res.**, Berlin, v. 185, p. 435-450, 1977.
- ROMBOUT, J. H. W. M.; TAVERNE-THIELE, J. J. An immunocytochemical and electron microscopical study of endocrine cells in the gut and pancreas of a stomachless teleost fish, *Barbus conchoni* (Cyprinidae). **Cell Tissue Res.**, Berlin, v. 277, p. 577-593, 1982.
- ROMBOUT, J. H. W. M.; BOT, H. M.; TAVERNE-THIELE, J. J. Immunological importance of the second gut segment of carp. II. Characterization of mucosal leucocytes. **J. Fish Biol.**, London, v. 35, p. 167-178, 1989.
- SAKAKIBARA, S.; KONDO, Y.; TOBAYAMA, T.; HOSHIAI, T. Growth of the nototheniid fish, *Trematomus bernacchii* and *Pagothenia borchgrevinki* reared in aquarium. (Proc. natn. Inst. Polar Res. Symp.) **Polar Biol.**, Berlin, v. 2, p. 105-110, 1989.
- SARAQUESTE, M. G. M. C.; CANALES, M. L. G. Distribución histoquímica de carbohidratos y proteínas en estómago e intestino de *Anguilla anguilla* L., 1758 (Osteichthyes, Anguillidae) de las salinas de Cádiz. **Invest. Pesq.**, Barcelona, v. 50, n. 4, p. 553-564, 1986.
- SCHLIWA, M. Cytoarchitecture of surface layer cells of the teleost epidermis. **J. Ultrastructure Res.**, v. 52, p. 377-386, 1975.
- SCOCCO, P.; MENGUI, G.; CECCARELLI, P. Histochemical differentiation of glycoconjugates occurring in the tilapine intestine. **J. Fish Biol.**, v. 51, p. 848-857, 1997.

- SHOWERS, W. J.; DANIELS, R. A.; LAINE, D. Marine biology at Palmer Station, 1975 austral winter. **Antarct. J. US**, Arlington, v. 12, p. 22-25, 1977.
- SIDELL, B. D. Physiological roles of high lipid content in tissues of antarctic fish species. In: DI PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B., eds. **Biology of Antarctic Fish**. New York, Springer-Verlag, 1991, p. 220-231.
- SIDELL, B. D.; CROCKETT, L. Characterization of energy metabolism in Antarctic fishes. **Antarct. J. U. S.**, v. 22, p. 213-214, 1987.
- SINHA, G. M. A histochemical study of the mucous cells in the bucco-pharyngeal region of four Indian freshwater fishes in relation to their origin, development, occurrence and probable functions. **Acta histochem.**, Jena, v. 53, p. 217-233, 1975.
- SIRE, M. F.; VERNIER, J. M. Étude ultrastructurale de la synthèse des chylomicrons au cours de l'absorption intestinales des lipides chez la truite. Influence de la nature des acides gras ingerés. **Biol. Cell. (Paris)**, Ivry sur Seine, v. 40, p. 47-62, 1981.
- SIRE, M. F.; VERNIER, J. M. Intestinal absorption of protein in teleost fish. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 103A, n. 4, p. 771-781, 1992.
- SKÓRA, K. E.; SOSINSKI, J. Observations on the ichthyofauna distribution in the regions of the Scotia Sea and Antarctic Peninsula. **Pol. Polar Res.**, Warsaw, v. 4, n. 1-4, p. 49-55, 1983.
- SMITH, S. A.; CACECI, T.; MAREI, H. E.-S.; EL-HABBACK, H. A. Observations of rodlet cells found in the vascular system and extravascular space of angelfish (*Pterophyllum scalare scalare*). **J. Fish Biol.**, London, v. 46, p. 241-254, 1995.
- SOMERO, G. N. Biochemical mechanisms of cold adaptation and stenothermality in Antarctic fish. In: Di PRISCO, G.; MARESCA, B.; TOTA, B. **Biology of Antarctic Fish**. Berlin: Springer -Verlag, 1991. p. 232-247.

- SPERRY, D. G.; WASSERSUG, R. J. A proposed function for microridges on epithelial cells. **Anat. Rec.**, v. 185, p. 253-258, 1976.
- STALEY, E.; CORLEY, L. D.; BUSH, L.J.; WYNN JONES, E. The ultrastructure neonatal calf intestine and absorption of heterologous proteins. **Anat. Rec.**, v. 172, p. 559-580, 1972.
- STROBAND, H. W. J.; DEBETS, F. M. H. The ultrastructure and renewal of the intestinal epithelium of the juvenile grasscarp *Ctenopharyngodon idella* (Val.). **Cell. Tissue Res.**, Berlin, v. 187, p. 181-200, 1979.
- STROBAND, H. W. J.; KROON, A. G. The development of the stomach in *Clarias lazera* and the intestinal absorption of protein macromolecules. **Cell. Tissue Res.**, Berlin, v. 215, p. 397-415, 1981.
- STROBAND, H. W. J.; VAN DER VEEN, F. H. Localization of protein absorption during transport of food in the intestine of grasscarp *Ctenopharyngodon idella* (Val.). **J. Exp. Zool.**, New York, v. 218, p. 249-256, 1981.
- STROBAND, H. W. J., MEER, H. v.d.; TIMMERMANS, L. P. M. Regional functional differentiation in the gut of the grasscarp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). **Histochem. J.**, London, v. 64, p. 235-249, 1979.
- TAGLIAFIERRO, G.; FARALDI, G.; DELÚ, M.; MORESCALCHI, M. A. Gut regulatory peptides in some antarctic nototenoids. **Polar Biol.**, Berlin, v. 15, p. 429-235, 1995.
- TARGETT, T. E. Trophic ecology and structure of coastal Antarctic fish communities. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Amelinghausen, v. 4, p. 243-263, 1981.
- TARGETT, T. E.; RADTKE, R. L. Growth and feeding ecology studies on coastal antarctic fishes. **Antarct. J. US**, Arlington, v. 19, p. 147-149, 1984.

- TARVERDYIEVA, M. I. Daily food consumption and feeding pattern of the South Georgian cod (*Notothenia rossii marmorata*) and the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt) (fam. Nototheniidae) in the South Georgia area. **J. Ichthyol.**, Bethesda, v. 12, n. 4, p. 684-692, 1972.
- TARVERDYIEVA, M. I.; PINSKAYA, I. A. The feeding of fishes of the families Nototheniidae and Chaennichthyidae on the shelves of the Antarctic Peninsula and the South Shetlands. **J. Ichthyol.**, Bethesda, v. 20, p. 50-60, 1980.
- ULIBARRIE, L. S. Histoquímica de las mucinas epiteliales gastrointestinales de *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1860 (Pisces, Characidae). **Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral**, v. 13, p. 1-4, 1982.
- VACCHI, M.; LA MESA, M. The diet of the Antarctic fish *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 (Nototheniidae) from Terra Nova Bay, Ross Sea. **Antarct. Sci.**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 37-38, 1995.
- VEGAS-VÉLEZ, M. La structure histologique typique du tube digestif des poissons téléostéens. **Tethys**, Marseille, v. 4, p. 163-174, 1972.
- VERNIER, J. M. Intestinal ultrastructure in relation to lipid and protein absorption in teleost fish. **Comp. Physiol. Basel. Karger**, v. 5, p. 166-175, 1990.
- WATANABE, Y. Ingestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells in larvae or juveniles of some teleosts. **Bull. Soc. Sci. Fish.**, v. 47, p. 1299-1307, 1981.
- WILLIAMS, R. Trophic relationships between pelagic fish and euphausiids in Antarctic waters. In: SIEGFRIEF, W. R.; CONDY, P. R.; LAWS, R. M. **Antarctic Nutrient Cycles and Food Webs**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. p. 452-459.
- WOHLSCHLAG, D. E. Growth of an antarctic fish at freezing temperatures. **Copeia**, Carbondale, v. 1, p. 11-18, 1961.

- WYANSKI, D. S.; TARGETT, T. E. Feeding biology of fishes in the endemic Antarctic family Harpagiferidae. **Copeia**, Carbondale, v. 1981, p. 686-693, 1981.
- ZACCONE, G.; TAGLIAFIERRO, G.; FASULO, S.; CONTINE, A.; AINIS, L.; RICCA, M. B. Serotonin-like immunoreactivity in the epidermal club cells of teleost fishes. **Histochemistry**, West Germany, v. 93, p. 355-357, 1990.
- ZAPATA, Z.; GARCIA BARRUTIA, M.; PEREZ GOMARIZ, R. M. Ultraestructura de las células rodlet maduras de *Rutilus rutilus*. **Morfol. Norm. Patol.**, Bucharest, v. 2, p. 79-89, 1978.
- ZIELINSKI, K. Bottom macroalgae of the Admiralty Bay (King George Island, South Shetlands, Antarctica). **Pol. Polar. Res.**, Warsaw, v. 11, n. 1-2, p. 95-131, 1990.
- ZUKOWSKI, C. Catches of fishes of the genus *Notothenia* and *Trematomus* at Admiralty Bay (King George Island, South Shetland Islands) in the winter-spring season, 1977. **Pol. Polar Res.**, Warsaw, v. 1, p. 163-167, 1980.