

SONIA REGINA GRÖTZNER

ESTUDO MORFO-FUNCIONAL COMPARATIVO
DA RETINA DOS PEIXES ANTÁRTICOS
Nototbenia (Gobionotothen) gibberifrons Lönnberg, 1905
e *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902

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

ORIENTADORA:

Doutora Edith Susana Elisabeth Fanta

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

CURITIBA

1994

Mensagem

Ao mar e ao gelo azuis, tão antigos e sempre tão presentes. Ao vento que nunca para de soprar, sussurrar ou rugir, sempre trazendo mensagens. A todo aquele imenso céu, tão generoso em tantos matizes ao longo de um único dia, com a ajuda do brilho do sol e da sombra das nuvens. A cada cristal de neve, pequena e única jóia, de uma beleza tão grande e tão efêmera, que nos faz pensar. A cada som, registrado pelo cérebro e guardado para sempre em um arquivo do coração: dos pedaços de gelo quebrando na beira do mar, das botas caminhando sobre o chão pedregoso ou sobre a neve congelada, dos riachos de degelo, do canto das focas sob o sol da meia noite, dos gritos autoritários das sternas, do lamento da skua, da algazarra tão alegre das gaivotas, da conversa dos pinguins. A neve caindo, tão mansa, em um mundo branco e silencioso; Mas por vezes tão furiosa, em um mundo cinzento e agressivo. Ao brilho da superfície do mar, de um pequeno cristal encontrado, de uma idéia surgida frente à um problema a solucionar. A solidariedade de um companheiro, de um pequeno gesto de auxílio à um grande ato de bravura e salvamento. Ao silêncio da madrugada, quando a solidão se faz presente no frio do laboratório e, ao sairmos para descongelar, até o breve momento de retornar, encontramos alguém nos esperando com aquela xícara de café tão quente, que nos aquece não só o coração, mas também o espírito. Aos amigos que por ali passaram e não mais retornaram. A todos aqueles que amam aquele mundo tão especial, distante da loucura da civilização, porém tão perigosamente perto da sua mão gananciosa, a minha mensagem de amor, o meu imenso desejo de que a Antártica assim permaneça, para sempre.

Sonia Regina Grötzner

Agradecimentos

A minha Orientadora, Doutora Edith Fanta, por todos esses anos de ensinamento e aprendizado que percorremos juntas, caminhando por um mesmo ideal dentro da ciência, um sonho, que por vezes parecia tão distante, e que agora começa a se tornar tão real, o nosso grupo de pesquisa, numa caminhada que já está deixando marcas. E à minha querida amiga, Edith, por tanta dedicação, incentivo, paciência e silenciosa compreensão.

A minha querida Mãe, a pessoa mais sábia que conheço, um verdadeiro ser humano, sempre presente em minha vida, não importando o momento, se de extrema dor, alegria ou dúvida; Sempre com as palavras certas. E ao meu querido Pai, que tanto me ensinou e incentivou, mas sem nunca interferir em minhas decisões, conduzindo-me de forma correta e praticamente imperceptível, em um mundo por vezes tão difícil e competitivo para mulheres.

E aos meus queridos irmãos, o que dizer? Amigos em todos os momentos, sempre incentivando e se orgulhando do sonho da irmã desenhista que queria ser cientista. Companheiros inseparáveis, crescemos e vivemos juntos todas as fases e acontecimentos mais importantes de nossas vidas.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Impacto Ambiental que por ali passaram durante todos esses anos, por um período breve ou mais longo. Todos tiveram a sua importância, deixando cada um a sua marca e a sua contribuição. E àqueles que ficaram e que vão continuar, pois foram profundamente contaminados pelo nosso "vírus secreto".

A Sandrinha, por sua profunda amizade e incentivo constantes. Por todo o seu apoio, trabalho sério e dedicação, durante a XII Expedição Brasileira à Antártica. A "caloura", que tanto ensinou à "veterana".

A Ana, por sua amizade e seus sábios conselhos, que sempre chegam na hora certa, além de suas ótimas idéias.

A Flavia, por seu apoio, amizade e presença constantes.

A Lucélia, companheira de ramo de pesquisa, por sua amizade e seus conselhos sempre tão bem vindos no campo do ensino e da pesquisa. Por sua dedicação e colaboração para o desenvolvimento de nossas teses.

A amiga Gundula, por todo o incentivo dado durante o desenvolvimento desta tese.

A Silvia, Ana Cristina e Marcinha, pelo companheirismo, amizade, colaboração e apoio constantes, em todos estes anos de convivência e trabalho em comum.

A Ana Tereza, minha "primeira melhor aluna" como Professora Substituta de Histologia e Embriologia Geral no nosso Departamento. Pelo seu despertar para a ciência e a pesquisa como nossa mais nova estagiária do Laboratório de Impacto Ambiental, e que em tão pouco tempo de convivência já nos ensinou tanto.

A minha amiga Maria Lúcia, por todos esses anos de companheirismo, incentivo e apoio. Sempre presente em qualquer momento, nunca medindo esforços para ajudar, colaborar ou simplesmente ouvir.

A todos os Professores do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas desta Universidade, por todos os seus ensinamentos e informações. E em especial à Professora Marilene T. Gonçalves, responsável pelo apoio à minha Iniciação Científica no Laboratório de Impacto Ambiental.

Ao Professor Yves José Sbalqueiro, pelo uso do Fotomicroscópio Óptico do Laboratório de Citogenética Animal, do Departamento de Genética desta Universidade, que tanto contribuiu para o desenvolvimento desta tese.

A todos os Professores Do Curso de Pós-Graduação em Morfologia - Área de Concentração em Biologia Celular desta Universidade, pela sua dedicação e ensinamentos ministrados durante o decorrer deste curso, e em especial à Professora Doutora Maria Célia Jamur, por sua amizade, apoio e incentivo constantes.

A amiga e Professora Cláudia Feijó Ortolani, pelo seu incentivo e amizade, por sempre acreditar em mim e no meu trabalho, nunca medindo esforços para colaborar.

A todos os amigos e companheiros que durante as Expedições Brasileiras à Antártica de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao apoio logístico da SECIRM - Proantar e também da Estação Antártica Comandante Ferraz e de seus Grupos Base em cada Expedição.

Ao CNPq, pelo financiamento ininterrupto das pesquisas Antárticas.

A CAPES, pela Bolsa de Mestrado concedida

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento desta tese.

A todos, o meu mais sincero agradecimento.

Sumário

| | |
|--|-----|
| Lista de Figuras | ix |
| Resumo | xi |
| Abstract | xii |
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Objetivos | 5 |
| 3. Material e Métodos | 6 |
| 3.1 Local de Captura dos Espécimes..... | 6 |
| 3.2 Método de Captura dos Espécimes..... | 6 |
| 3.3 Manutenção dos Espécimes no Laboratório Frio..... | 7 |
| 3.4 O Material Biológico..... | 8 |
| 3.4.1 <i>Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons</i> | 8 |
| 3.4.2 <i>Trematomus newnesi</i> | 8 |
| 3.5 O Experimento | 9 |
| 3.6 Processamento Histológico | 10 |
| 3.6.1 Dissecção..... | 10 |
| 3.6.2 Fixação..... | 11 |
| 3.6.3 Inclusão..... | 11 |
| 3.6.4 Colorações..... | 14 |
| 3.6.5 Análise das Lâminas Histológicas..... | 15 |
| 4. Resultados | 16 |
| 4.1 Descrição e Posição Relativa dos Olhos..... | 16 |
| 4.1.1 <i>Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons</i> | 16 |
| 4.1.2 <i>Trematomus newnesi</i> | 16 |
| 4.2 Organização Anatômica / Tecidual dos Olhos..... | 16 |
| 4.2.1 <i>Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons</i> | 16 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2.2 <i>Trematomus newnesi</i> | 17 |
| 4.3 Descrição da Retina das duas Espécies..... | 17 |
| 4.3.1 O Mosaico de Cones e os Bastonetes..... | 18 |
| 4.3.1.1 <i>Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons</i> | 18 |
| 4.3.1.2 <i>Trematomus newnesi</i> | 20 |
| 4.4 Efeito dos Diferentes Fotoperíodos sobre a Retina..... | 21 |
| 4.5 Comportamento Visual..... | 22 |
| 5. Discussão | 57 |
| 6. Conclusões | 67 |
| Referências Bibliográficas | 69 |

Lista de Figuras

| | | |
|---------------|---|----|
| Fig. 01 | Localização da região de estudo..... | 24 |
| Fig. 02 | Estação Antártica Comandante Ferraz..... | 25 |
| Fig. 03 | Coleta dos peixes..... | 26 |
| Fig. 04 | Fotos de <i>Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons</i> e <i>Trematomus newnesi</i> | 27 |
| Fig. 05 | Vista lateral de <i>Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons</i> | 28 |
| Fig. 06 | Distribuição geográfica de <i>Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons</i> | 28 |
| Fig. 07 | Vista lateral de <i>Trematomus newnesi</i> | 29 |
| Fig. 08 | Distribuição geográfica de <i>Trematomus newnesi</i> | 29 |
| Fig. 09 | Laboratório Frio da Estação Antártica Comandante Ferraz..... | 30 |
| Fig. 10 | Colorações específicas: a. Hematoxilina-Eosina e b. Tricrômico de Mallory..... | 31 |
| Fig. 10 | Colorações específicas: c. Hematoxilina Férrica e d. Novelli..... | 32 |
| Fig. 11 | Campos Visuais de <i>Notothenia (G.) Gibberifrons</i> e <i>T. newnesi</i> | 33 |
| Fig. 12 | Detalhe dos olhos de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 34 |
| Fig. 13 | Tecidos dos olhos de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> e <i>T. newnesi</i> | 35 |
| Fig. 14 a. | Camadas da retina de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 36 |
| Fig. 14 b. | Camadas da retina de <i>Trematomus newnesi</i> | 37 |
| Fig. 14 c, d. | Comparação entre a retina das duas espécies..... | 38 |
| Fig. 15 | Cortes transversais aos cones de ambas as espécies..... | 39 |
| Fig. 16 | Variação morfológica em cones de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 40 |
| Fig. 17 | Cones duplos de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 41 |
| Fig. 18 | Segmentos internos e externos de cones duplos em <i>N. (G.) gibberifrons</i> | 42 |
| Fig. 19 | Segmentos externos no fundo e laterais da retina de <i>N. (G.) gibberifrons</i> | 43 |
| Fig. 20 | Os elipsóides dos cones simples de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 44 |
| Fig. 21 | Os 3 tipos de cones de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 45 |
| Fig. 22 | A camada de cones e bastonetes de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 46 |

| | |
|---|----|
| Fig. 23 Os bastonetes de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 47 |
| Fig. 24 Variação morfológica dos cones duplos de <i>Trematomus newnesi</i> | 48 |
| Fig. 25 a, b, c, d. Segmentos internos e externos dos cones duplos de <i>T. newnesi</i> | 49 |
| Fig. 26 Os três tipos de cones de <i>Trematomus newnesi</i> | 50 |
| Fig. 27 Os bastonetes de <i>Trematomus newnesi</i> | 51 |
| Fig. 28 O efeito dos três fotoperíodos sobre a retina de <i>N. (G.) gibberifrons</i> | 52 |
| Fig. 29 O efeito dos três fotoperíodos sobre a retina de <i>Trematomus newnesi</i> | 53 |
| Fig. 30 Corte transversal à retina das duas espécies sob o efeito de 24 h de luminosidade... | 54 |
| Fig. 31 Comportamento visual de <i>Notothenia (G.) gibberifrons</i> | 55 |
| Fig. 32 Comportamento visual de <i>Trematomus newnesi</i> | 56 |

Resumo

Os peixes Antárticos *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* Lönnberg, 1905 e *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902, apresentam diferentes comportamentos visuais e estão sujeitos a diferentes fotoperíodos durante o ano. Com base nestas afirmativas, esta pesquisa foi feita com o objetivo de se verificar se a morfologia retiniana seria correspondentemente diferenciada, qual sua estrutura e suas adaptações, comparativamente. Exemplares de 15 à 18 cm de comprimento total, foram coletados na Baía do Almirantado, Ilha do Rei George, e observados em condições ambientais controladas por 10 dias. Os olhos foram fixados em Líquido de Bouin, emblocados em "Paraplast Plus", cortados em 3 micrômetros de espessura, corados em: Hematoxilina-Eosina, para evidenciar núcleo e citoplasma; Tricrômico de Mallory, para evidenciar tecidos do olho; Hematoxilina Férrica de Heidenhain para destacar as porções dendríticas e axônicas das células da retina; Novelli que evidencia regiões que contêm mitocôndrias. Estas espécies de peixes possuem diferentes campos visuais. *N. (G.) gibberifrons* apresenta movimentos independentes dos olhos, retina larga, cones e bastonetes finos e longos. Em *T. newnesi* os cones são grandes e largos e os bastonetes largos e curtos. Em ambos, o mosaico de cones é na forma de quadrado e apresenta três tipos destas células, com o segmento interno dos cones duplos subdividido e levemente torcido. Em *T. newnesi* há diferenças estruturais da retina na região do fundo do olho e em *N. (G.) gibberifrons* nas porções laterais. Em luz contínua há expansão dos pigmentos do epitélio pigmentar, que passam a recobrir os bastonetes. Quando no escuro continuamente, estes pigmentos se retraem. Em nenhum caso verificou-se movimentos retinomotores dentro do ritmo circadiano de ambas as espécies.

Todas estas características morfológicas dos olhos permitem reações visuais rápidas e direcionadas, em meia água e na superfície em *T. newnesi*, e reações visuais lentas em amplo campo da região próxima ao fundo em *N. (G.) gibberifrons*.

Abstract

Two Antarctic fish *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* Lonnberg, 1905 and *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902 show different visual behavior and are submitted to different photo periods along the year. The aim of this study was to detect possible corresponding morphological characteristics and adaptations of the retina.

Individuals between 15 and 18 cm total length were caught at the Admiralty Bay, King George Island, and observed under controlled environmental conditions for 10 days, after acclimation.

Their eyes were fixed in Bouin's fluid, embedded in "Paraplast Plus", cut in 3 micrometers sections, stained with: Haematoxylin - Eosin for nuclear and cytoplasmic differentiation; Mallory trichrome to evidence different tissues; Heidenhein Iron Haematoxylin to evidence dendritic and axonic regions of the retinal cells; Novelli that shows regions that contain mitochondria.

These species of fish have different visual fields, and *N. (G.) gibberifrons* shows independent eyes movements, having a thick retina with a great number of thin and long cones and rods. In *T. newnesi* cones are thick and big and rods thick and short. In both, the cone mosaic is arranged in square and showing three types of these cells, being the internal segment of the double cones subdivided and slightly bent. Structural differences between regions occur laterally in *N. (G.) gibberifrons* and at the hind region of the retina in *T. newnesi*. In constant light the pigments expand covering the rods, the opposite being observed in long dark periods. In both species, no retinomotor movements was observed in the circadian rhythms in these light conditions.

These characteristics allow a fast and directed visual reaction in mid water and surface for *T. newnesi*, and slow visual reactions in a broad area close to the bottom in *N. (G.) gibberifrons*.

1. Introdução

A alimentação e as relações intra e interespecíficas em um determinado ambiente são fatores dos mais importantes, ao lado da reprodução, para garantir a sobrevivência e o bem estar das espécies em uma comunidade. Avaliando-se estratégias comportamentais como por exemplo a detecção de alimento, podemos verificar que elas variam com a espécie, sendo possivelmente devidas às estruturas sensoriais e locomotoras que as caracterizam (FANTA et al., 1994).

Em todas essas ações, a visão tem um papel preponderante, sendo a estrutura dos olhos fundamental para possibilitar o seu desenvolvimento. Entretanto, muitas vezes se mostra difícil estabelecer através de métodos científicos seguros, o papel da visão no comportamento de peixes (INGLE, 1971). Por isso, possíveis preciosas informações obtidas por pesquisadores mais antigos acabam perdidas.

Entretando já se verificou que a fixação de uma imagem é tanto mais perfeita quanto melhor a visão binocular da espécie, podendo os objetos serem seguidos por movimentos voluntários dos olhos (WALLS, 1942). É por isso certamente fundamental a posição relativa dos olhos nas diferentes espécies de peixes.

Muitos estudos usam recursos metodológicos como a eletrofisiologia, para determinação mais precisa da atuação das células fotossensíveis (JACOBSON e GAZE, 1964; TOMITA, 1971) e do estímulo visual.

Assim, verifica-se que praticamente todos os organismos vivos são sensíveis à luz (WITHERS, 1992), cada qual com sua sensibilidade particular, dentro da faixa compreendida entre os limiares máximo e mínimo da intensidade luminosa presente em nosso planeta, o que naturalmente inclui os peixes.

Na classe dos peixes tanto em ecossistemas de água doce como marinhos, competitividade pela alimentação e território é muito grande. Entretanto, peixes vivem em

ambientes que vão desde o escuro total, como é o caso das cavernas ou regiões abissais, até ambientes basicamente coloridos, pelo menos até a profundidade limite da região afótica, ou seja, até 180 metros de profundidade, dependendo a cor da transparência das águas e das características do fundo ou da vegetação.

Há muito já se sabe que muitas espécies de peixes têm não só um sistema visual desenvolvido como também capacidade para a visão em cores (KIRSCH et al., 1989). Trabalhos pioneiros como os de WALLS (1942), seguidos pelos de ROCHON-DUVIGNEAUD (1943; 1948), BRETT (1957) E NICOL (1963) contém tantas informações, que ainda hoje são fonte de consulta básica sobre a anatomia funcional do olho (MUNZ, 1971). Com frequência, entretanto, apesar de conter informações ou descrições sobre os olhos ou a retina de peixes, os trabalhos não são acompanhados por documentação ilustrativa suficiente (PRINCE, 1956), dessa forma dificultando a comparação ou identificação de estruturas com as de outros animais em estudo.

Os olhos dos peixes têm a estrutura básica comum a todos os vertebrados (WALLS, 1942; MUNZ, 1971).

Da mesma forma a retina tem o padrão básico da dos vertebrados em geral. Na região mais interna ficam os vários elementos neuronais e gliais, que são relativamente transparentes. A luz passa através destes atingindo as células fotorreceptoras ou visuais. Na porção mais externa adjacente à coróide, fica o epitélio pigmentar. Naturalmente, pequenas variações são encontradas entre elasmobrânquios e teleósteos, quanto às proporções de cones e bastonetes e relacionado à ausência de algum destes elementos em determinados grupos ou espécies (WALLS, 1942; ROCHON-DUVIGNEAUD, 1943; GRUBER et al., 1963; HAMASAKI & GRUBER, 1965; TAMURA & NIWA, 1967). Teleósteos típicos têm tanto cones como bastonetes. Entretanto, além dos cones simples ainda possuem cones duplos (ENGSTRÖM, 1963; JANUSHKA et al., 1987). Alguns teleósteos nos quais o tapetum é bem desenvolvido, não há cones simples (TAMURA, 1957; O'CONNELL, 1963), e em muitos peixes de profundidade, os cones estão ausentes (MUNZ, 1971). É

conhecido que as células visuais não são uniformemente distribuídas na retina. Normalmente há áreas especializadas com concentrações de cones. A organização dos cones na retina pode ser relacionada aos hábitos alimentares das espécies, ou seja, a região de seu campo visual aonde deve ser detectado o alimento (AHLBERT, 1976).

O Continente Antártico, devido à sua localização em altas latitudes, está sujeito a diferentes fotoperíodos ao longo do ano e luminosidade variável dependendo das condições climáticas. Assim, os animais deverão se adaptar, ajustando suas estratégias de vida (FANTA et al, 1990), bem como o funcionamento de estruturas como por exemplo os olhos, a situações extremas de 24 horas de luz durante o Verão e dias com 24 horas de escuridão durante o Inverno, e aos fotoperíodos intermediários nas duas outras estações, o Outono e a Primavera. A Ilha do Rei George, do Arquipélago das Shetlands do Sul, apesar de estar localizada ao norte da Península Antártica, ainda está sujeita a estas condições, e assim, os peixes que ali ocorrem apresentam diversificados ritmos de atividades de acordo com o regime de luzes (FANTA et al, 1994).

Para os ajustes necessários ao controle de intensidade luminosa, na grande maioria dos teleósteos é considerado existirem movimentos retinomotores ou fotomecânicos, já que não parece haver ajuste no diâmetro da pupila. Há ainda alterações consequentes no mosaico de cones na retina (KUNZ, 1980). De acordo com WALLS (1942), BRETT (1957) e NICOL (1963) as células da camada mais externa à retina, que constitui o epitélio pigmentar, possuem longos processos que se estendem entre as células visuais e se interdigitam com seus segmentos externos. Em olhos adaptados ao escuro, os grânulos de melanina que estão nestes prolongamentos afastam-se das células visuais. Exposição à luz é seguida rapidamente por migração dos pigmentos para dentro dos processos. Além disso, as células visuais possuem uma região contrátil, o mióide, proximal ao elipsóide de bastonetes e cones. Assim, ativamente os bastonetes podem migrar de encontro ou se afastando do epitélio pigmentar, como reação às condições de luz. O mesmo é relatado como acontecendo com os cones, apesar de nunca serem protegidos pelo epitélio pigmentar.

WELSH e OSBORN (1937) e LEVINSON e BURNSIDE (1981) relatam estes movimentos circadianamente, e é de se esperar que ocorram sazonalmente nas condições características de inverno e verão antártico, e circadianamente nas estações intermediárias. O movimento de adaptação parece levar 1 hora em animais adaptados ao escuro e de 20 à 25 minutos nos adaptados ao claro (BRETT e ALI, 1958).

Naturalmente é muito difícil isolar apenas um dos sentidos de um animal, para estabelecer relações entre a estrutura e a estratégia utilizada nas várias funções vitais. Assim, muitas vezes se faz necessário relacionar a estrutura dos olhos ou especificamente da retina, com a de estruturas quimiorreceptoras ou com estruturas receptoras de pressão, pois todos os sentidos interagem para permitir ao animal um competente relacionamento com o meio ambiente (SCHELLART, 1992; FANTA et al, 1994).

2. Objetivos

- Descrever as estruturas e os tecidos oculares dos peixes antárticos *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* e *Trematomus newnesi*.
- Descrever comparativamente a estrutura morfológica da retina das duas espécies, especialmente a camada de cones e bastonetes.
- Associar a morfologia da retina e o posicionamento dos olhos com seus respectivos campos visuais ao comportamento visual das duas espécies.
- Associar as características morfo-funcionais da retina das duas espécies ao fotoperíodo ao qual estavam adaptadas.

3. Material e Métodos

3.1 Local de Captura dos Espécimes

Os exemplares foram coletados na Baía do Almirantado, Ilha do Rei George (Lat 62° 05' S - Long 058° 23',5 W), no Arquipélago das Shetlands do Sul, durante o verão antártico (Fig. 1. a,b).

A aclimação e os experimentos com os peixes foram realizados na Estação Antártica Comandante Ferraz, situada na Península Keller, onde, entre outras instalações, existe um laboratório à temperatura constante de 0° C, com água do mar corrente (Fig. 2. a,b).

3.2 Método de Captura dos Espécimes

As coletas foram feitas com rede tri-malha do tipo "feiticeira", deixada em profundidades de 50 à 80 metros, por um período de 24 horas.

Os espécimes coletados eram cuidadosamente retirados das malhas da rede e levados vivos à Estação Antártica Comandante Ferraz, em tambores plásticos de 50 litros, com a água sendo constantemente aerada (Fig. 3).

Este método permitiu a coleta de exemplares de várias famílias que ocorrem na região, em especial a família Nototheniidae, à qual pertencem *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* e *Trematomus newnesi*, estudados nesta pesquisa (Fig. 4. a,b).

Uma vez na Estação Ferraz, os peixes foram transferidos para tanques de 1000 litros, no laboratório de estudos, para uma prévia aclimação por 5 dias, após serem separados por tamanho e espécie.

3.3 Manutenção dos Espécimes no Laboratório Frio

O Laboratório Frio da Estação Antártica Comandante Ferraz é constituído por um módulo tipo "container", contendo um sistema de refrigeração associado a um compressor de ar, que mantém a temperatura da água dos três tanques de 1000 litros à 0 °C ($\pm 0,5$ °C). Esses tanques têm um suprimento de água do mar que é feito através de uma bomba de sucção com mangueira coletora do tipo "pescador", colocada à 10 metros de profundidade na linha em frente ao Laboratório Frio. Esse sistema permite que a água dos tanques seja trocada diariamente. A aeração foi mantida constante através de compressores de ar e a alimentação foi fornecida diariamente, na forma de anfípodos vivos.

Após o período de aclimação e recuperação, exemplares de *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons*, de comprimento total médio 18 cm ($\pm 1,0$ cm) e de *Trematomus newnesi*, com 15 cm de comprimento total médio ($\pm 0,5$ cm) foram selecionados e transferidos para três aquários de 70 litros, sendo dois exemplares de cada espécie colocados em cada aquário, para nova aclimação por um período de 5 dias. Estes aquários tiveram previamente os seus fundos recobertos por pedras pequenas coletadas na região e as suas faces laterais e posterior cobertas com papel "contact" verde. As faces anteriores foram quadriculadas em quadrados de 10 cm de lado, e as observações do comportamento dos peixes realizadas atrás de anteparo com fresta para observação. A parte superior dos aquários foi fechada com tampa de madeira e tela de "nylon", permitindo a passagem dos tubos para aeração e alimentação, assim como da luz necessária para a execução do experimento. A aeração foi mantida sempre constante com o auxílio de um compressor de ar com duas saídas, para cada aquário.

A avaliação da condição da água dos aquários, assim como dos tanques de reserva, foi feita diariamente, com o auxílio de um sensor eletrônico de campo Digi-Sense pH Meter, da marca Cole-Parmer Model 5985-80 ^(R), que forneceu os dados relativos à temperatura,

pH e salinidade da água, que se mantiveram a 0 °C, 7,35 (\pm 0,3) e 30 ‰ (\pm 0,5), respectivamente.

3.4 O Material Biológico

Todos os exemplares utilizados foram identificados de acordo com FISCHER e HUREAU (1985):

3.4.1 *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* Lönnberg, 1905, tem o corpo relativamente alongado e delgado, comprimido lateralmente na região posterior e dorso-ventralmente na região anterior, especialmente na cabeça, cujo formato é característico, tendo a boca pequena e estreita.

A coloração do corpo é amarelada, com manchas mais escuras em espaços regulares nas regiões laterais do corpo. As nadadeiras caudal, peitorais e segunda dorsal apresentam séries de manchas escuras formando barras ou listras verticais (Fig. 5).

É encontrada em regiões restritas próximas ao norte da Península Antártica, além das Ilhas Georgia do Sul, Sandwich do Sul, Orkney do Sul e Shetland do Sul (Fig. 6), em profundidades de 5 à 750 metros, sendo considerado um peixe bentônico quando adulto. Alimenta-se de organismos bênticos como poliquetos, anfípodos e isópodos e em menor extensão de krill e algas.

É uma espécie de interesse comercial, sendo extensivamente pescada, com uma média anual de 3.000 à 15.000 toneladas, sendo alvo de medidas de proteção, dada a sua restrita distribuição geográfica.

3.4.2 *Trematomus newnesi* Boulenger, 1902, apresenta o corpo moderadamente comprimido lateralmente, assim como a cabeça, no sentido dorso ventral, com a boca grande e oblíqua. O corpo apresenta coloração marrom clara, sendo escuro dorsalmente,

com manchas negras mais ou menos distintas e que podem estender-se lateralmente, num padrão comum ao gênero *Trematomus*. A primeira nadadeira dorsal pode exibir barras negras e as outras nadadeiras frequentemente apresentam pequenas manchas escuras (Fig. 7).

A espécie é encontrada na costa oeste da Península Antártica e nas costas Leste e Sudeste do Continente Antártico, além do Arquipélago das Ilhas Shetland do Sul e Ilhas Orkney do Sul, desde a zona entre marés até à 160 metros de profundidade. Provavelmente é uma espécie circumpolar (Fig 8).

Sua alimentação é constituída basicamente de eufausiideos, copépodos, anfípodos e poliquetos.

Não é uma espécie comercialmente explorada, tendo uma importante função na alimentação de muitas aves marinhas Antárticas.

3.5 O Experimento

Os três aquários de 70 litros nos quais os animais foram aclimatados foram utilizados para o experimento. Em laboratório, os animais foram submetidos à 3 fotoperíodos distintos: 24 horas luz, simulando o verão Antártico; 24 horas escuro, simulando o período de inverno na região; e 12 horas de luz / 12 horas de escuro, simulando as estações intermediárias de primavera e outono. Para tanto, foram instaladas duas lâmpadas de luz branca à prova d'água, de 60 W e 220 V, em dois dos aquários, sendo que o terceiro aquário não recebeu iluminação.

O aquário submetido à 24 horas luz teve a lâmpada colocada à 10 cm de altura acima da tampa com tela de "nylon", a qual por sua vez foi coberta com três camadas de plástico cinza com a finalidade de reduzir a intensidade luminosa à um nível adequado de 14,0 Lux, medidos com Luxímetro Extech, tendo sido mantido nestas condições por dez dias.

No aquário de fotoperíodo 12 horas luz / 12 horas escuro foi usado o mesmo sistema de iluminação. Entretanto, a luz permanecia acesa apenas por 12 horas, sendo então desligada durante as próximas 12 horas, e assim sucessivamente durante dez dias. Durante o período escuro, placas de acrílico vermelho de 4 mm recobriam a parte superior e a frente do aquário, o que forneceu uma intensidade luminosa de 6,0 Lux, pois apenas a luz vermelha ambiente do Laboratório Frio era mantida acesa ao longo deste período. Este procedimento possibilitou as observações de comportamento dos peixes no período escuro.

O terceiro aquário, de fotoperíodo 24 horas escuro, foi mantido como o segundo durante a simulação da fase escura, e assim deixado por 10 dias.

A alimentação era fornecida diariamente, na forma de anfípodos vivos, os quais eram introduzidos nos aquários através de funis plásticos adaptados na parte de madeira das tampas, para não haver interferência durante o experimento (Fig. 9).

As medidas dos fatores abióticos eram feitas duas vezes por dia nos três aquários, com o sensor eletrônico de campo Digi-Sense pH Meter da marca Cole-Parmer Model 5985-80 ^(R), sendo imediatamente antes do início do período iluminado do aquário 12 horas luz / 12 horas escuro e doze horas depois, imediatamente antes do início do período da fase escura no mesmo aquário.

Durante os dez dias do experimento, observações diretas de comportamento foram realizadas a cada hora durante dez minutos em cada aquário, ao longo das 24 horas do dia.

3.6 Processamento Histológico

3.6.1 Dissecção

Depois do tempo experimental de 10 dias, os animais foram sacrificados após secção medular, e os olhos coletados. Para tanto, à partir dos limites do corte da secção medular,

outros dois cortes eram feitos em direção aos olhos, e em seguida ao redor dos mesmos, com tesoura apropriada.

Na sequência, a calota craniana era levantada, expondo-se o cérebro e os olhos, com seus respectivos nervos ópticos, que eram então seccionados juntamente com os músculos oculares. Os olhos eram então removidos, sendo cuidadosamente "empurrados" para fora das órbitas.

A dissecação era realizada rapidamente, mantendo-se a integridade dos tecidos com constantes lavagens dos mesmos em Solução Salina de Cortland, tendo sido os olhos direitos destinados à Microscopia Óptica, enquanto que os olhos esquerdos foram destinados à Microscopia Eletrônica de Transmissão, para futuros estudos. Os animais mantidos sob 12 horas luz / 12 horas escuro foram sacrificados durante a fase de luz, 6 horas após o início da mesma; os animais mantidos em regime de 24 horas escuro foram retirados do aquário no escuro e sacrificados sob placa de acrílico vermelho, após se acender apenas a luz vermelha ambiente do Laboratório Frio.

3.6.2 Fixação

Imediatamente após a dissecação, os olhos direitos inteiros foram colocados em frascos apropriados contendo Fluido de Bouin (BÜCHERL, 1962), por um período de 8 horas, sendo agitados frequentemente para uma melhor fixação.

Deve-se salientar que todo este procedimento foi feito no Laboratório Frio, à 0 °C, para se evitar qualquer alteração no material.

3.6.3 Inclusão

Após o tempo de fixação de 8 horas no Fluido de Bouin, foi efetuada uma primeira lavagem do material em álcool a 70 %, também no Laboratório Frio e, depois, já em

temperatura ambiente, durante os dois meses seguintes, os olhos passaram por sucessivas lavagens em álcool na mesma concentração, até a remoção do excesso de Ácido Pícrico.

Visando-se um melhor conhecimento do material, desenvolveu-se uma técnica para emblocagem dos olhos inteiros e de forma direcionada. Para este direcionamento, os olhos foram pendurados com o auxílio de fio de "Nylon" de 0.18 mm de espessura, cuja ponta era afiada por meio de estilete "Olpha Cutter". A colocação era feita da seguinte maneira: com o auxílio de pinça de ponta fina e sob microscópio estereoscópico, em cada olho mantido em Placa de Petri e recoberto por álcool à 70 % era passado um pedaço desse fio de "Nylon", previamente dobrado ao meio, em alguma sobra do epitélio de revestimento externo da córnea, ou em algum dos músculos oculares que permaneceram intactos. Assim preparado, esse fio serviu como referencial durante o resto do processamento e sua posição exata era anotada por meio de desenho no protocolo. O fio permitiu ainda maior facilidade para o manuseio da peça durante o processo de inclusão, além de proporcionar a certeza de serem obtidos cortes longitudinais à retina na porção mediana do olho e também cortes transversais à mesma, em locais definidos, tendo sido cada cada olho seccionado na sua totalidade.

Para a inclusão, efetuada em apenas um dia, alguns ajustes específicos ao material estudado foram feitos, devido ao tamanho e natureza tecidual das peças. Os olhos inteiros foram desidratados em série alcoólica crescente da seguinte maneira:

| | |
|--------------|----------|
| Álcool 70 % | 1 hora |
| Álcool 80 % | 1,5 hora |
| Álcool 85 % | 1 hora |
| Álcool 90 % | 1 hora |
| Álcool 95 % | 1 hora |
| Álcool 100 % | 1 hora |
| Álcool 100 % | 1 hora |

A diafanização foi feita com xilol e a impregnação em "Paraplast Plus" Sigma ^(R) de forma gradativa, em estufa à temperatura de 56 °C. A emblocagem foi efetuada de forma direcionada, com o auxílio do "fio guia", como já citado, em moldes cúbicos confeccionados de papel, deixando-se endurecer os blocos em temperatura ambiente, como segue abaixo:

Álcool 100% + Xilol 30 à 45 minutos

A partir desta etapa, o tempo teve que ser ajustado de acordo com o diâmetro de cada olho pois, com a introdução do xilol e, posteriormente, do "Paraplast", ocorreu um encolhimento dos olhos. Quanto maior o seu diâmetro, maior foi esse encolhimento, com a câmara vítrea não sendo totalmente preenchida pelo "Paraplast" e a retina dobrando-se ao redor do cristalino.

Xilol I 20 à 30 minutos

Xilol II 15 minutos aproximadamente (acompanhar visualmente)

Xilol + Paraplast 20 à 30 minutos

Paraplast I 45 minutos à 1 hora

Paraplast II 45 minutos à 1 hora

Inclusão

Os blocos obtidos foram trimados em forma de cubo, em vez de pirâmide, para se obter cortes sequenciais em secções de "Paraplast" sempre do mesmo tamanho. Estes cortes foram feitos no sentido da lente para o nervo óptico (CULLING *et al.* 1985), com espessura de 3 micrômetros, em Micrótomo de Parafina da marca Wetzlar, colocados sobre lâminas de vidro, já com uma muito fina camada de Albumina de Mayer (CULLING *et al.*, 1985) recoberta por uma fina camada de água, e esticados em placa aquecedora, sendo secos em temperatura ambiente.

Todo esse procedimento foi feito no Laboratório de Estudos em Impacto Ambiental do Departamento de Biologia Celular da U.F.PR.

3.6.4 Colorações

Quatro técnicas de coloração foram utilizadas, visando a identificação dos tecidos componentes dos olhos das duas espécies, a descrição da morfologia das estruturas e a localização do epitélio pigmentar da retina assim como dos vários tipos celulares que a compõem, em especial os cones e bastonetes.

A coloração com Hematoxilina-Eosina foi realizada de acordo com a técnica de BÜCHERL (1962) e permitiu a diferenciação das porções nucleares e citoplasmáticas das células da retina, especialmente dos cones e bastonetes, alvo principal desta dissertação (Fig. 10.a).

O Tricrômico de Mallory (CLARK, 1981, modificado), permitiu a evidência dos diferentes tecidos do globo ocular e maiores detalhes da porção nervosa da retina (Fig. 10.b), sendo ajustado para o material da seguinte maneira:

- usou-se a Hematoxilina como coloração inicial em algumas lâminas e, em outras, eliminou-se este procedimento, pois verificou-se que os resultados poderiam ser mascarados por este corante;
- o tempo ideal testado de permanência do material na Solução A foi 10 minutos e, para a Solução B, este tempo foi de 30 minutos;
- foi eliminada a passagem do material pelo álcool a 95 % após a utilização das soluções A e B, pois percebeu-se que, mesmo em uma rápida passagem, a coloração em azul claro da esclera era perdida. Assim, optou-se por uma rápida passagem do material pelo primeiro álcool a 100 %, após a lavagem em água destilada, e uma permanência do material no segundo álcool a 100 % em tempo dobrado, por 6 minutos.

A coloração com a Hematoxilina Férrica de Heidenhain, feita de acordo com CULLING *et al.* (1985), destacou as porções dendríticas e axônicas dos tipos celulares da retina assim como maiores detalhes das porções citoplasmáticas (Fig. 10. c).

O Método de Novelli (BEÇAK e VANRELL, 1970, modificado), evidenciou a região citoplasmática de cones e bastonetes que contém mitocôndrias (Fig. 10.d) e teve aumentado o tempo de permanência do material na Fucsina ácida para 5 minutos, sendo o uso do álcool a 95 %, após a passagem pelos corantes, restrito a uma rápida lavagem.

Utilizou-se como meio de montagem para as lâminas permanentes a resina Polymount^(R).

3.6.5 Análise das Lâminas Histológicas

As lâminas histológicas foram primeiramente analisadas em microscópio óptico Micromaster, do Laboratório de Estudos em Impacto Ambiental da U.F.PR., sendo os estudos e a documentação preliminar obtida em Fotomicroscópio Óptico Carl Zeiss BR 044 (com contraste de fase), do Laboratório de Citogenética Animal da U.F.PR. Para maior detalhamento e documentação definitiva foi utilizado o Fotomicroscópio Olympus PM 10AD do Laboratório de Estudos em Impacto Ambiental da U.F.PR., utilizando-se filmes Kodakcolor 35 mm e Asa 100.

4. Resultados

4.1 Descrição e Posição Relativa dos Olhos

4.1.1 *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons*, apresenta olhos relativamente pequenos se considerada a proporção olho/comprimento da cabeça e olho/comprimento do corpo. Entretanto, são localizados quase no topo da cabeça e de forma proeminente, com uma distância inter-orbital estreita, ou seja, correspondendo de 6 a 7 % do comprimento da cabeça. Isto lhe permite uma visão binocular a curta e longa distância principalmente na região anterior (Fig. 11).

Foi observado que os olhos apresentam capacidade de movimentos independentes, ou seja, um olho pode estar voltado para o lado e no mesmo instante o outro voltado para trás, por exemplo.

4.1.2 Os olhos de *Trematomus newnesi*, são grandes quando comparados aos de *N. (G.) gibberifrons*, se considerada a proporção olho/comprimento da cabeça e olho/comprimento do corpo. A sua localização é lateral, com uma larga distância inter-orbital, compreendida entre 20 à 30 % do comprimento da cabeça, o que lhe proporciona uma visão binocular à grande distância (Fig.11).

Verificou-se que sua capacidade de movimentação é apenas paralela.

4.2 Organização Anatômica / Tecidual dos Olhos

4.2.1 Os olhos de *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* apresentam a coloração da íris em tons castanho esverdeados com manchas regulares. As pupilas têm a forma de gota, com a porção estreita voltada para a região anterior da cabeça. O globo ocular parece acompanhar este formato, especialmente em sua porção lateral posterior, que

é mais larga e profundamente inserida na órbita ocular (Fig. 12). Os músculos oculares são arranjados de forma assimétrica, o que dificulta a identificação das porções relativas do olho, e o nervo óptico tem sua saída no quadrante inferior direito da parte posterior do olho direito, estando no quadrante inferior esquerdo da parte posterior do olho esquerdo. Na porção superior externa dos olhos, localizada na sua parte mais proeminente, há a presença de uma membrana fortemente pigmentada que os recobre de forma oblíqua e dá um aspecto característico ao animal (Fig. 12). As camadas dos tecidos componentes do olho podem ser vistas na Fig. 13. a.

4.2.2 A coloração da íris dos olhos de *Trematomus newnesi* é castanha e as pupilas são circulares, sendo arredondado o formato do globo ocular. Os músculos oculares estão arranjados de forma simétrica e o nervo óptico apresenta a sua saída nos mesmos quadrantes. As camadas do olho podem ser vistas na Fig. 13. b.

4.3 Descrição da Retina das duas Espécies

A retina de ambas as espécies apresenta 10 camadas (Fig. 14. a,b,c,d):

1. Epitélio pigmentar
2. Camada de cones e bastonetes
3. Membrana limitante externa
4. Camada nuclear externa
5. Camada plexiforme externa
6. Camada nuclear interna
7. Camada plexiforme interna
8. Camada de células ganglionares
9. Camada de fibras do nervo óptico
10. Membrana limitante interna

4.3.1 Mosaico de cones e os bastonetes

Em ambas as espécies foi encontrado o típico arranjo em mosaico dos cones, apresentado pela maioria dos teleósteos. Nestes mosaicos, em forma de quadrado, foram identificados três tipos de cones: cones duplos simétricos, cones simples longos e cones simples curtos. Também em ambas as espécies, cada cone duplo é ladeado por dois cones simples longos, de forma aposicional e dois cones simples curtos, intercalados aos cones simples longos e também de forma aposicional ao cone duplo (Fig. 15).

Os bastonetes foram de difícil visualização e identificação, bem como para o acompanhamento do trajeto das suas porções dendríticas anteriores aos seus elipsóides. Estas porções localizam-se ao redor dos elipsóides dos cones, e possuem um diâmetro infimamente pequeno. Neste caso específico, fizeram-se necessários os cortes longitudinais e oblíquos às células fotossensoriais, para a sua identificação, e registro fotográfico, no aumento de 1000 X, com objetiva de imersão em óleo.

4.3.1.1 *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons*

Esta espécie apresenta a sua retina com as porções laterais mais espessas do que na região do fundo.

Quanto aos seus cones, observou-se variação morfológica da região do fundo para as regiões laterais. Esta variação, entretanto, é mais significativa nos cones duplos simétricos, mesmo ocorrendo de forma suave e gradativa ao longo da intersecção da região do fundo para as laterais. Esta variação é relativa à sua altura, menor na região do fundo do olho, e ao seu diâmetro, maior nesta mesma região. Nas regiões laterais estas proporções são invertidas, com o segmento interno dos cones duplos alongando-se de forma pronunciada o que os leva a ficarem com um aspecto mais delicado, devido à diminuição do seu diâmetro (Fig. 16. a,b).

A subdivisão dos cones duplos ocorre ao longo do eixo maior dos seus segmentos internos e que apresentam uma leve torção ao redor desse eixo. Apesar dessa torção, os cones duplos são realmente simétricos, o que é comprovado pelos cortes transversais aos segmentos internos dos mesmos (Fig. 17).

Das suas partes apicais partem dois segmentos externos, delicados, um de cada elemento dos cones duplos. Estes dois segmentos externos, na região do fundo da retina, apresentam uma curvatura bem definida a partir dos pontos de saída do segmento interno, juntando-se logo em seguida, o que lhes proporciona uma forma característica de estribo. Mostram, ainda, uma torção ao longo de todo o seu comprimento. Quanto mais próximo das regiões laterais, esse formato em estribo vai gradativamente desaparecendo, enquanto que os segmentos internos dos cones duplos alongam-se e afinam-se. Porém, a torção ainda é observada, mas de forma menos pronunciada nos cones duplos e praticamente desaparecendo nos segmentos externos (Fig. 18. a,b).

Os segmentos externos, nas regiões laterais da retina correspondem a, aproximadamente, metade do comprimento total do cone, sendo estes segmentos sempre mais curtos na região do fundo da retina (Fig. 19. a,b).

Os cones simples longos apresentam a região basal do segmento interno dos seus elipsóides em altura levemente mais baixa do que os cones duplos, ambos em relação à membrana limitante externa. Por sua vez, a região basal do segmento interno dos cones simples curtos mostram-se na mesma altura que a dos cones duplos, possuindo forma mais delicada (Fig. 20. a,b).

Os cones duplos simétricos têm, na realidade, os seus elipsóides com o aspecto de dois cilindros pareados. Já os cones simples longos são os que mais se aproximam da forma cônica, apresentando quase a mesma altura dos cones duplos, enquanto que os cones simples curtos são completamente cilíndricos, de extrema delicadeza (Fig. 21. a,b).

As porções dos segmentos externos de cones e bastonetes confundem-se na mesma região. Os elipsóides dos bastonetes encontram-se aproximadamente na mesma altura do

início dos segmentos externos dos cones e são de diminuto tamanho, com os seus segmentos externos com diâmetro semelhante ao dos segmentos externos dos cones. Juntos, esses segmentos externos são bastante longos e, se somados à porção do segmento interno dos cones, representam a camada mais larga da retina em suas porções laterais (Fig. 22. a,b).

Os bastonetes de *N. (G.) gibberifrons* necessitaram de cortes seguramente longitudinais às células fotossensoriais da retina, para poderem ser identificados. Isto é devido à extensão da camada de cones e bastonetes e da morfologia tão característica destas células, extremamente alongadas e delicadas (Fig. 23. a,b).

4.3.1.2 *Trematomus newnesi*

Da mesma forma, esta espécie também apresenta a sua retina com as porções laterais mais espessas do que na região do fundo do olho. Porém, a variação morfológica é bem mais acentuada a nível de formato do segmento interno de seus cones duplos simétricos, mesmo com a gradativa intersecção do formato destas células do fundo do olho para as porções laterais (Fig. 24. a,b).

No fundo do olho, os segmentos internos dos cones duplos são proeminentes, largos e baixos, em forma de barril, subdivididos em duas porções e, também, apresentando leve torção. A sua simetria é comprovada pelos cortes transversais (Fig. 25. a,b).

Os dois segmentos externos que partem de suas porções apicais apresentam grande espessura, em especial próximo aos pontos de saída, bem como grande distância entre si e um ângulo mais aberto, devido ao grande diâmetro destes cones. Porém, também mostram formato de estribo, logo sendo unidos em torção, ao longo de seu comprimento que é, por sua vez, curto (Fig. 25. a,c). Nas regiões de intersecção para as porções laterais da retina, gradativamente estes segmentos internos dos cones vão sofrendo alongamento, juntamente com estreitamento, porém chegam apenas ao formato oval nas porções laterais, ainda apresentando o aspecto de torção, com uma aproximação maior do local de saída de

seus segmentos externos e um alongamento destes de forma discreta, desaparecendo neste caso o aspecto em torção (Fig. 25. d).

Os cones simples longos encontram-se com a porção basal dos seus segmentos internos no mesmo nível dos cones duplos simétricos, em relação à membrana limitante externa. Por sua vez, os cones simples curtos têm esta localização mais baixa, apresentando um grande diâmetro em sua porção basal. Dos cones estudados nas duas espécies, esta é a célula que mais se aproxima da forma cônica, muitas vezes lembrando a forma de uma gota (Fig. 26).

Para a visualização dos bastonetes e das suas fibras internas, anteriores aos seus elipsóides, os cortes oblíquos mostraram-se ideais para esta espécie, assim como para a visualização dos três tipos de cones em um mesmo corte, mostrando as suas diferentes alturas basais em relação à membrana limitante externa (Fig. 27).

4.4 Efeito dos Diferentes Fotoperíodos sobre a Retina

Como resultado da exposição das duas espécies estudadas aos três fotoperíodos distintos, obtiveram-se resultados semelhantes quanto à migração, ou seja, quanto à agregação e dispersão dos pigmentos de melanina contidos nas células epiteliais pigmentares da retina (Figs. 28 e 29).

Em condições de pouca ou fraca iluminação, no aquário de 24 horas escuro, houve uma maior exposição dos segmentos externos dos bastonetes. Para tanto, os grânulos de melanina contidos nos prolongamentos citoplasmáticos migraram para as porções supranucleares citoplasmáticas das células pigmentares da retina, aí agregando-se, ou ficaram fracamente dispersos nos prolongamentos

No outro extremo, em condições de iluminação total ao longo das 24 horas do dia, observou-se uma maior migração destes grânulos de melanina na direção inversa, ou seja, uma dispersão dos grânulos de melanina contidos nas porções supranucleares

citoplasmáticas das células pigmentares da retina, para dentro e ao longo de suas projeções citoplasmáticas apicais, de modo a envolver e proteger os segmentos externos das células fotorreceptoras da retina, principalmente dos bastonetes.

No fotoperíodo de 12 horas luz / 12 horas escuro obtiveram-se resultados intermediários, não se podendo ainda afirmar se os pigmentos de melanina estavam em fase de migração para agregação ou dispersão.

Na Fig. 30, pode-se observar de forma comparativa para as duas espécies, no fotoperíodo de 24 horas luz, em corte transversal às regiões citadas, que os pigmentos de melanina estão localizados em maior quantidade ao redor das porções iniciais dos segmentos externos dos bastonetes e que em *Notothenia (G.) gibberifrons* a concentração é muito mais intensa. Também pode-se observar a diferença em termos de quantidade e diâmetro dos cones, na altura do corte aos segmentos internos dos mesmos. *Trematomus newnesi* apresenta-os em maior diâmetro e em menor quantidade por área, ao contrário de *Notothenia (G.) gibberifrons*. Percebe-se também o menor diâmetro dos segmentos externos dos bastonetes de *Notothenia (G.) gibberifrons* e a sua maior concentração por área.

4.5 Comportamento Visual

Durante a execução dos experimentos, com o acompanhamento de observações do comportamento das duas espécies submetidas aos três fotoperíodos, pôde-se avaliar que as mesmas possuem comportamentos visuais distintos.

Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons, com sua curta visão binocular e reduzida capacidade de natação, tem um hábito caracteristicamente de fundo, apoiando-se nas nadadeiras pélvicas, levantando a região anterior do corpo e perscrutando o ambiente à sua volta com seus olhos proeminentes e com a já citada capacidade de movimentos independentes. Isto o ajuda principalmente na procura e captura de alimento que, na grande

maioria das vezes, é feita no fundo, por entre as pedras. Com um movimento de curvatura do corpo, direciona a cabeça para o fundo e captura a presa, após a sua detecção. Mas nem sempre obtém sucesso nessas tentativas de alimentação. Este tipo de comportamento visual também o ajuda a fugir de seus predadores naturais (Fig. 31).

De um modo diferente, *Trematomus newnesi*, com uma visão binocular à maior distância, devida à posição característica de seus olhos, consegue detectar suas presas em uma maior distância, no fundo, meia água ou superfície, e direciona-se à ela rapidamente pois também possui boa capacidade de natação. O mesmo processo de visualização e detecção da presa pode ser feito da superfície para o fundo ou meia água, e o seu índice de acerto é bastante alto (Fig. 32).



Fig. 1.a : Local de pesca na Baía do Almirantado (▼) e E.A.C.F. (▼). Fig. 2.b: Localização da Ilha Rei George na Península Antártica (▼), e à esquerda um detalhe da ilha e da Baía do Almirantado, com indicações do local de pesca (●) e da Estação Antártica Comandante Ferraz (▼).

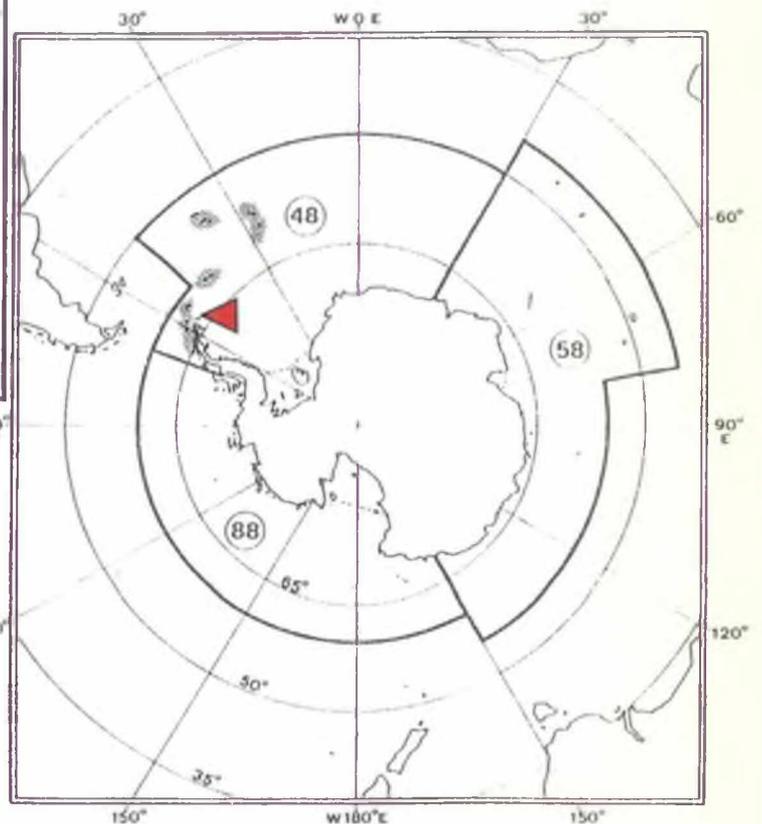


Fig. 1.b



Fig 2 a: Estação Antártica Comandante Ferraz, em vista frontal, observando-se o módulo Laboratório (↓) e o módulo Laboratório Frio (▼). Fig. 2.b: Estação Antártica Comandante Ferraz em vista posterior, às margens da Baía do Almirantado.



Fig. 3: Coleta com rede de espera tipo feiticeira, lançada e recolhida à partir de um bote inflável. Os peixes são transportados vivos até a Estação, em tambores plásticos de 50 litros.



Fig. 4.a: *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons*. Notar a postura típica do corpo e a posição característica dos olhos (também em figura 4.b). A pupila tem forma de gota, com a porção mais estreita voltada para a região anterior.



Fig 4.b: *Trematomus newnesi* em posição de alerta, assumida principalmente em horários de alimentação.



Fig. 5: Vista lateral de *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons*. Notar o tamanho relativo e a posição dos olhos.

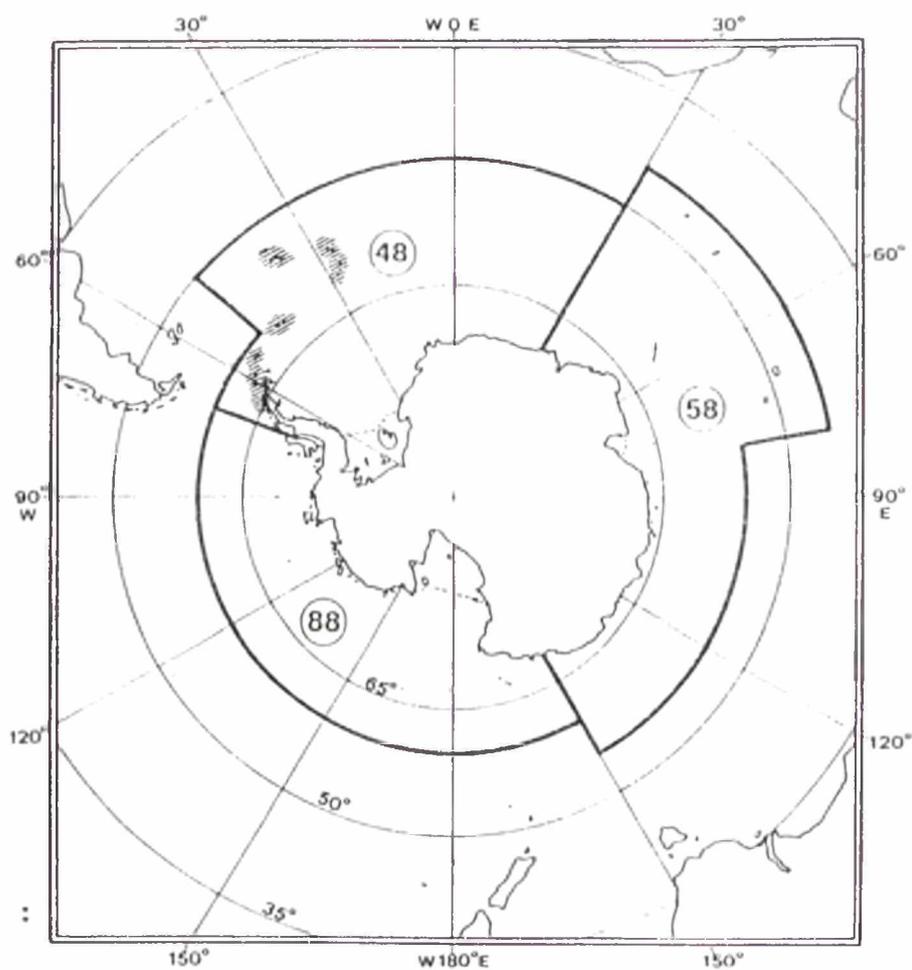


Fig. 6: Distribuição geográfica de *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons*.

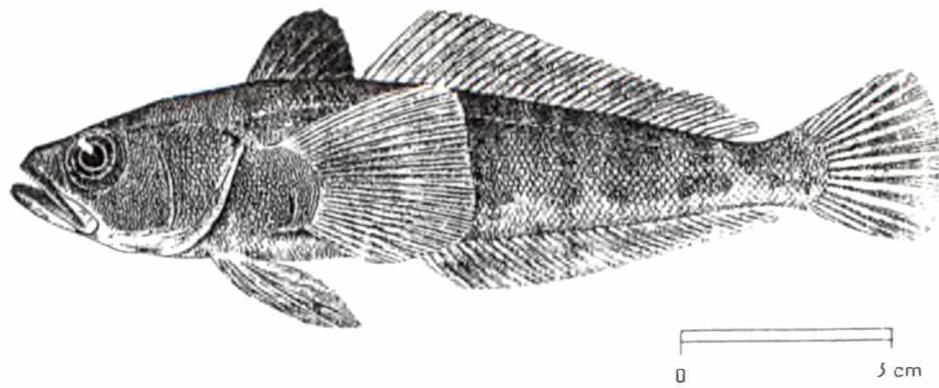


Fig.7: Vista lateral de *Trematomus newnesi*. Notar o tamanho relativo e a posição dos olhos.

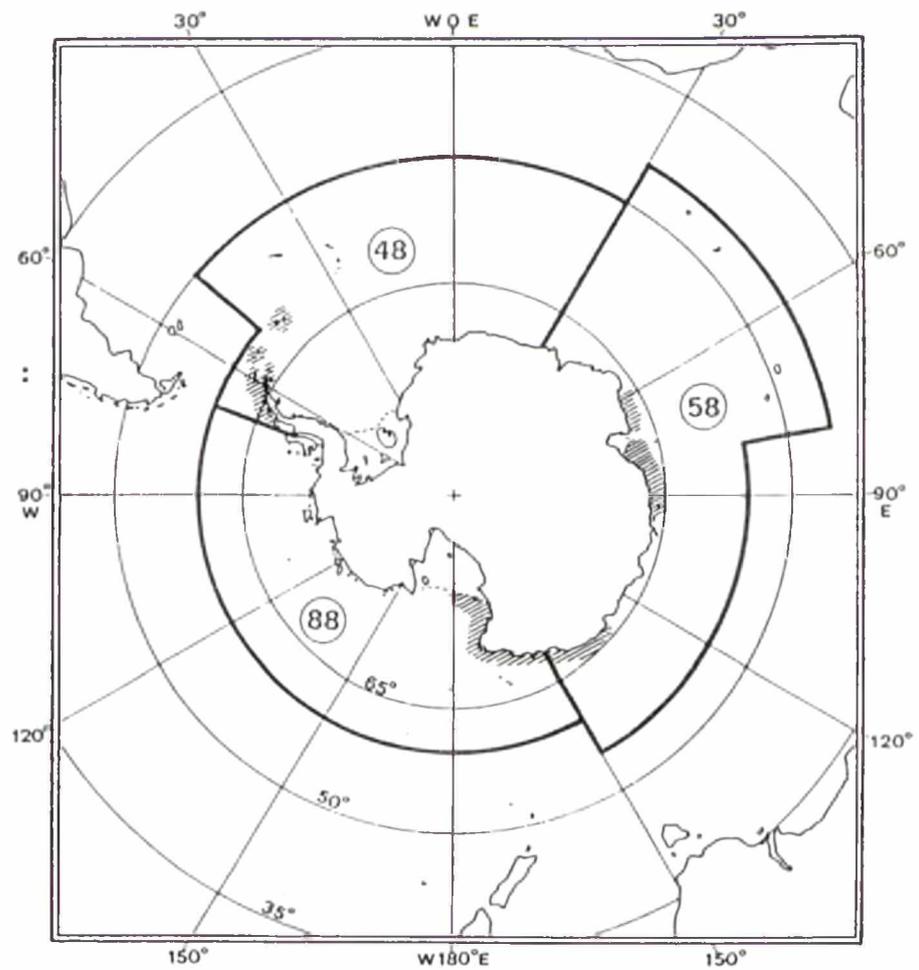
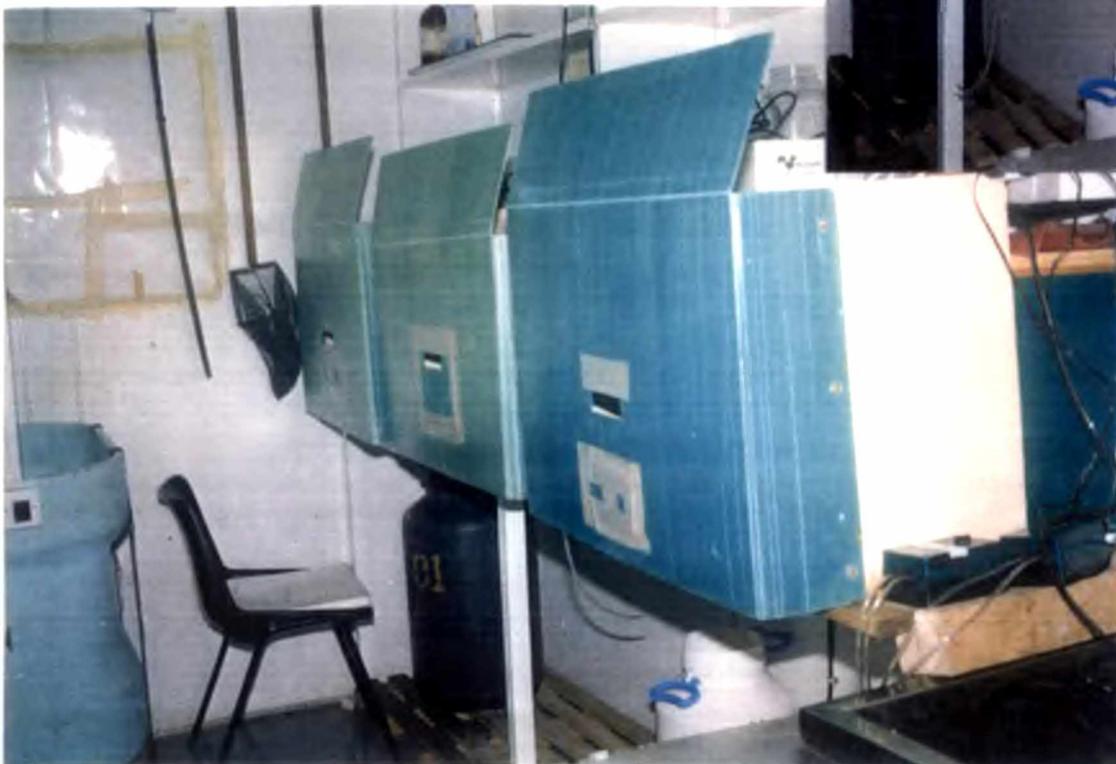


Fig. 8: Distribuição geográfica de *Trematomus newnesi*.



Fig 9: Acima, vista geral do Laboratório Frio da Estação Antártica Comandante Ferraz. Ao lado, detalhes dos aquários usados no experimento, com tampa de tela, funis de alimentação, placas de acrílico vermelho, cânula para sifonagem, aeradores e paredes verdes. Abaixo, o experimento em andamento, com anteparos com fresta de observação.



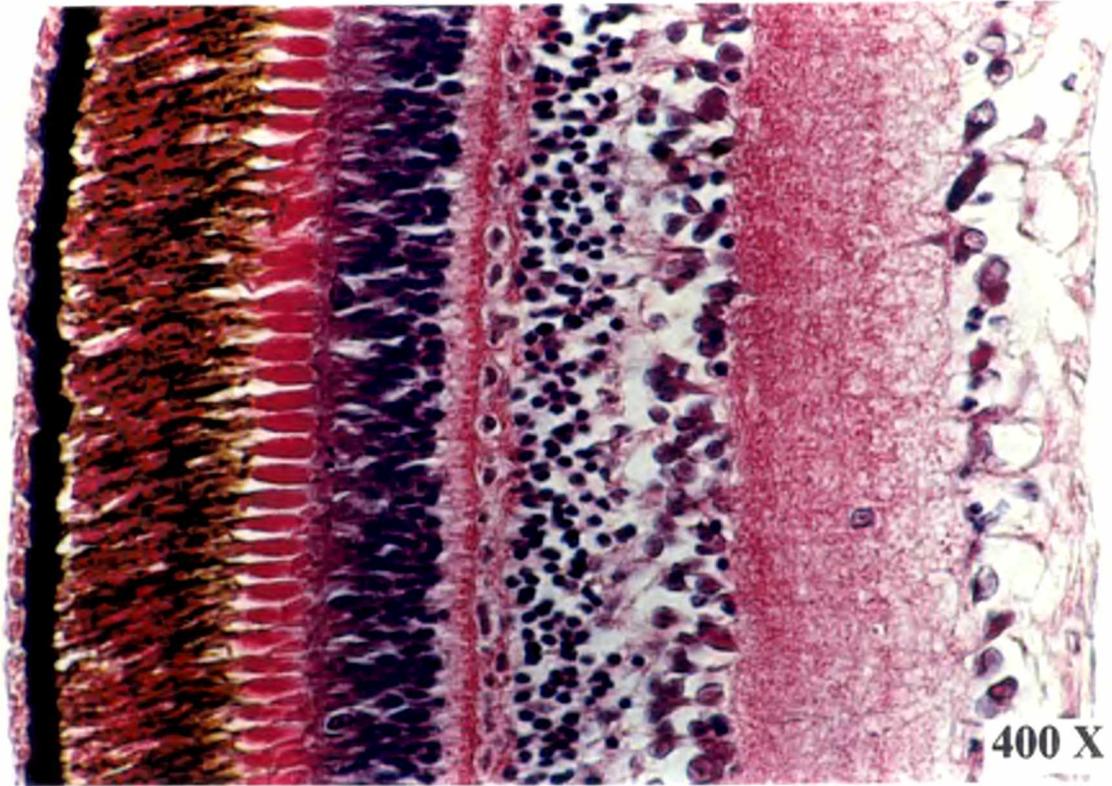


Fig. 10.a: Coloração com Hematoxilina - Eosina. Notar os núcleos corados em roxo e as porções citoplasmáticas e dendríticas em rosa.

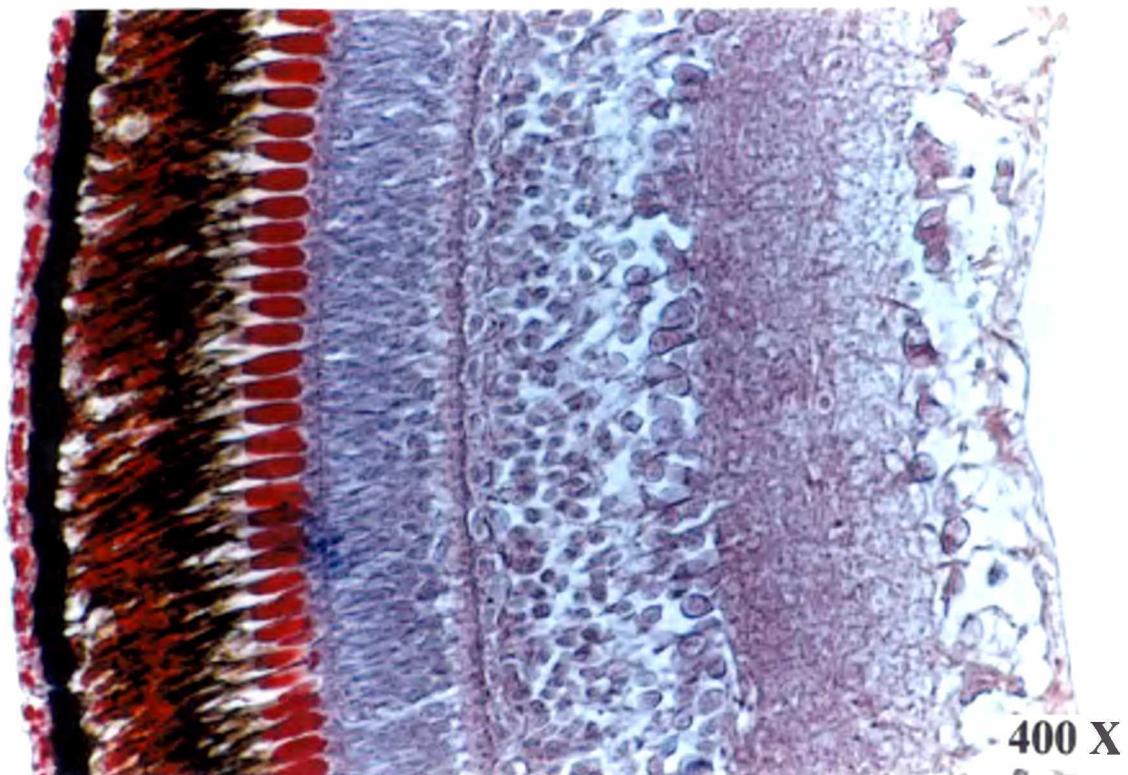


Fig. 10.b: Coloração com Tricrômico de Mallory, sem o uso de Hematoxilina. Notar os segmentos internos dos cones, corados em vermelho e o realce dado à maior parte da porção nervosa da retina.

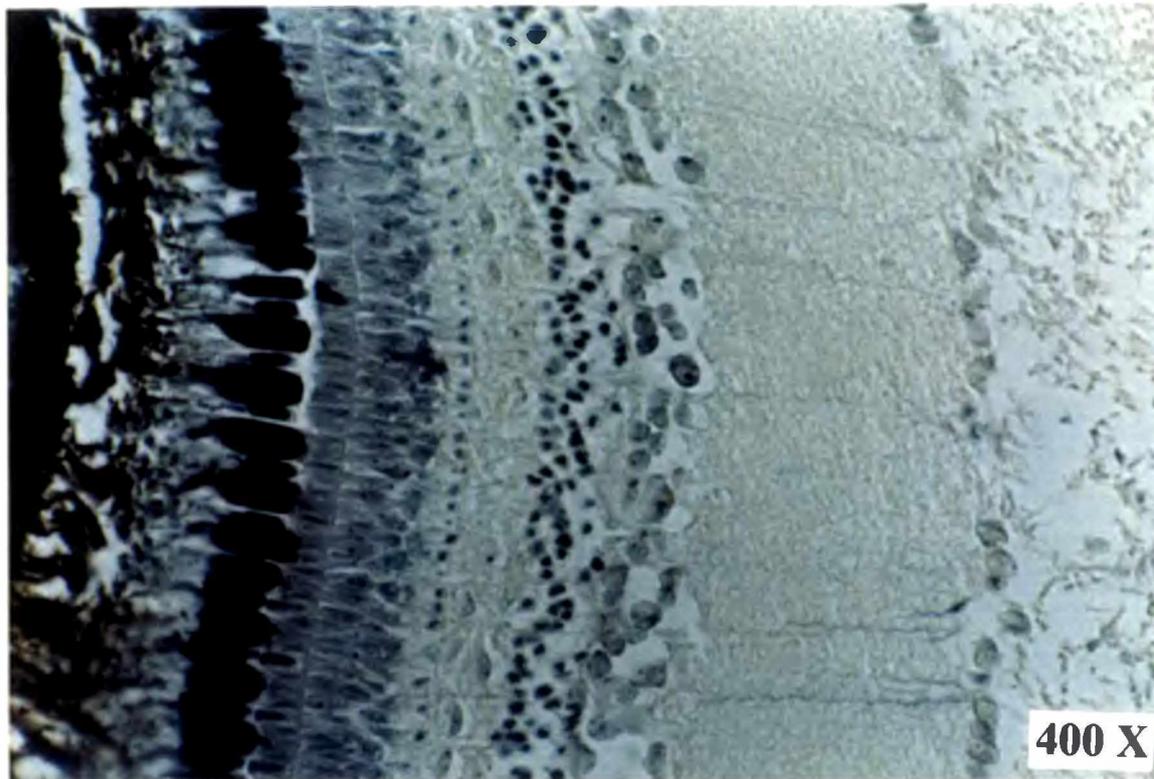


Fig 10 c: Coloração com Hematoxilina Férrica de Heidenhain. Observas o destaque dado às porções dendríticas e axônicas dos neurônios.

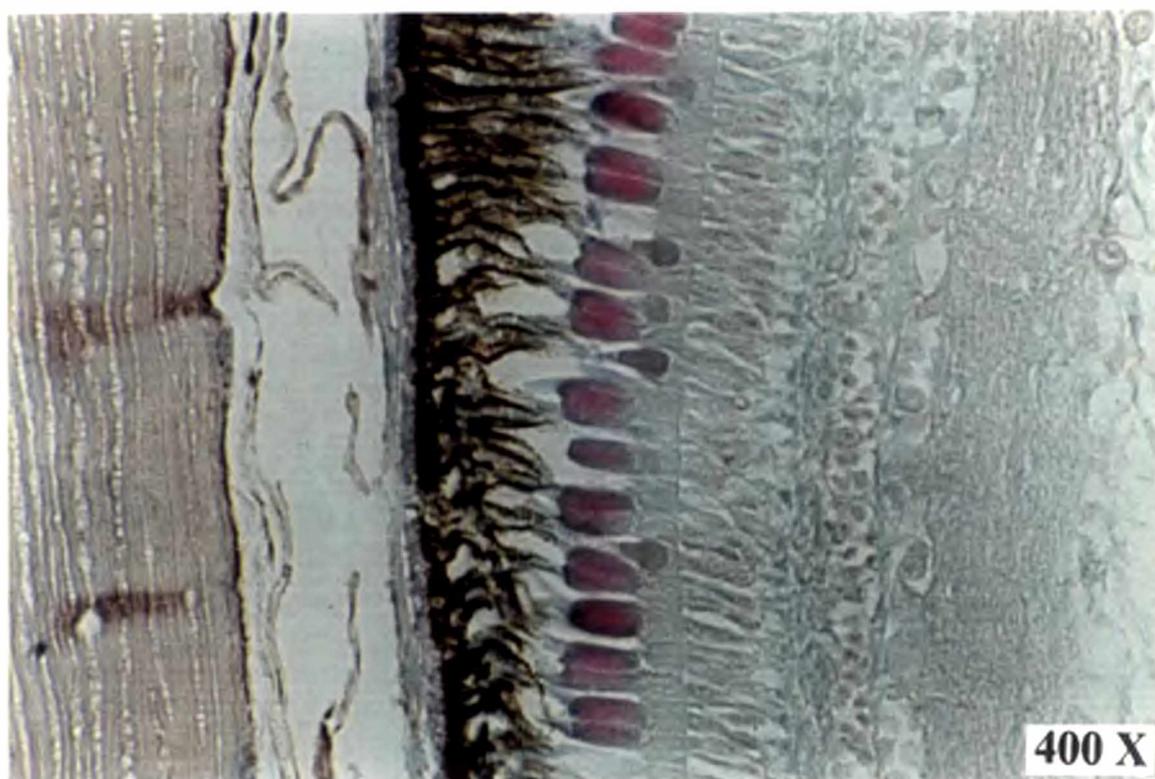
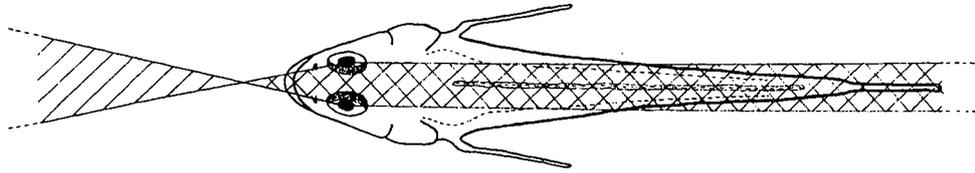
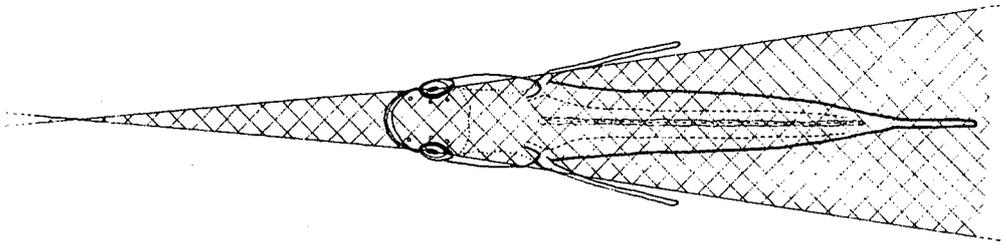


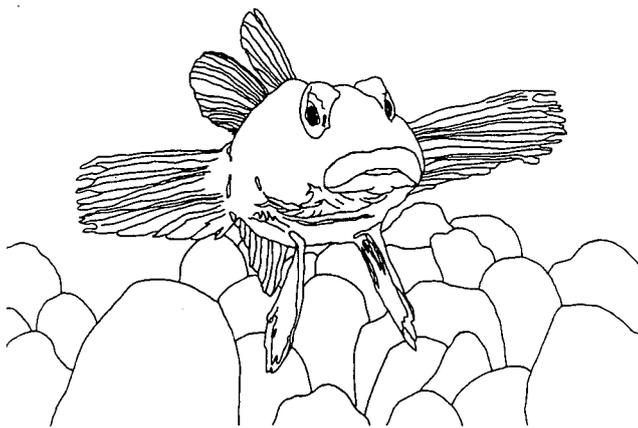
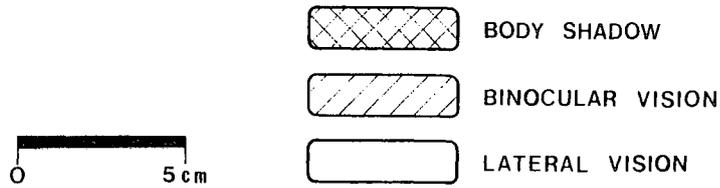
Fig 10 d: Coloração com o Método de Novelli. Observar a reação positiva para mitocôndrias nos segmentos internos dos elipsóides dos cones.



Notothenia (G.) gibberifrons

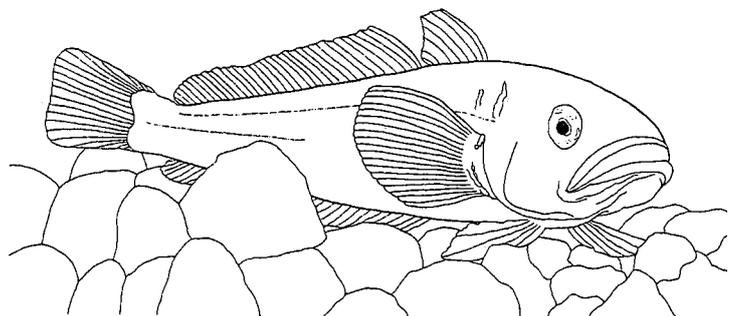


Trematomus newnesi



Notothenia (G.) gibberifrons

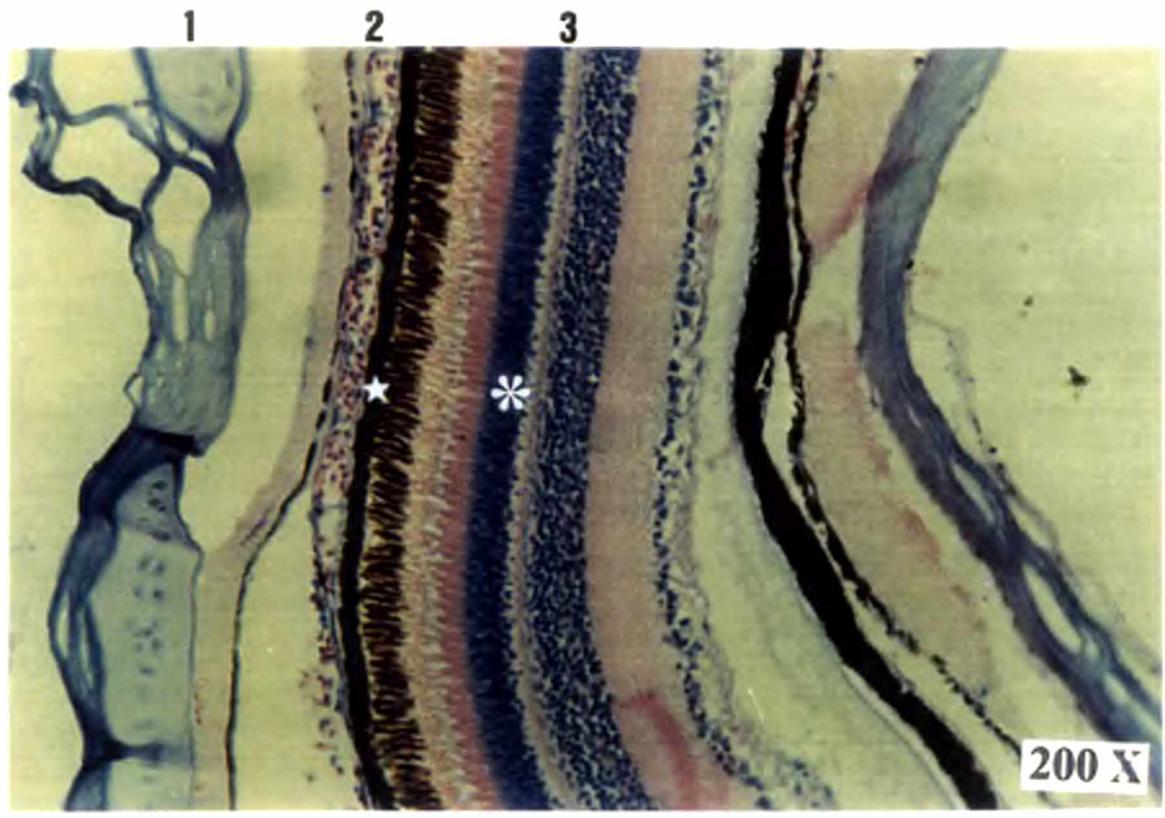
Fig.11: Acima, os campos visuais de *N. (G.) gibberifrons* e *T. newnesi*. Observar a diferença das distâncias interorbitais entre ambos, assim como o tamanho relativo e posição dos olhos. Ao lado e abaixo, notar a postura característica de cada espécie no substrato, e a posição dos olhos, com relação aos tipos de visão binocular e visão lateral de cada um.



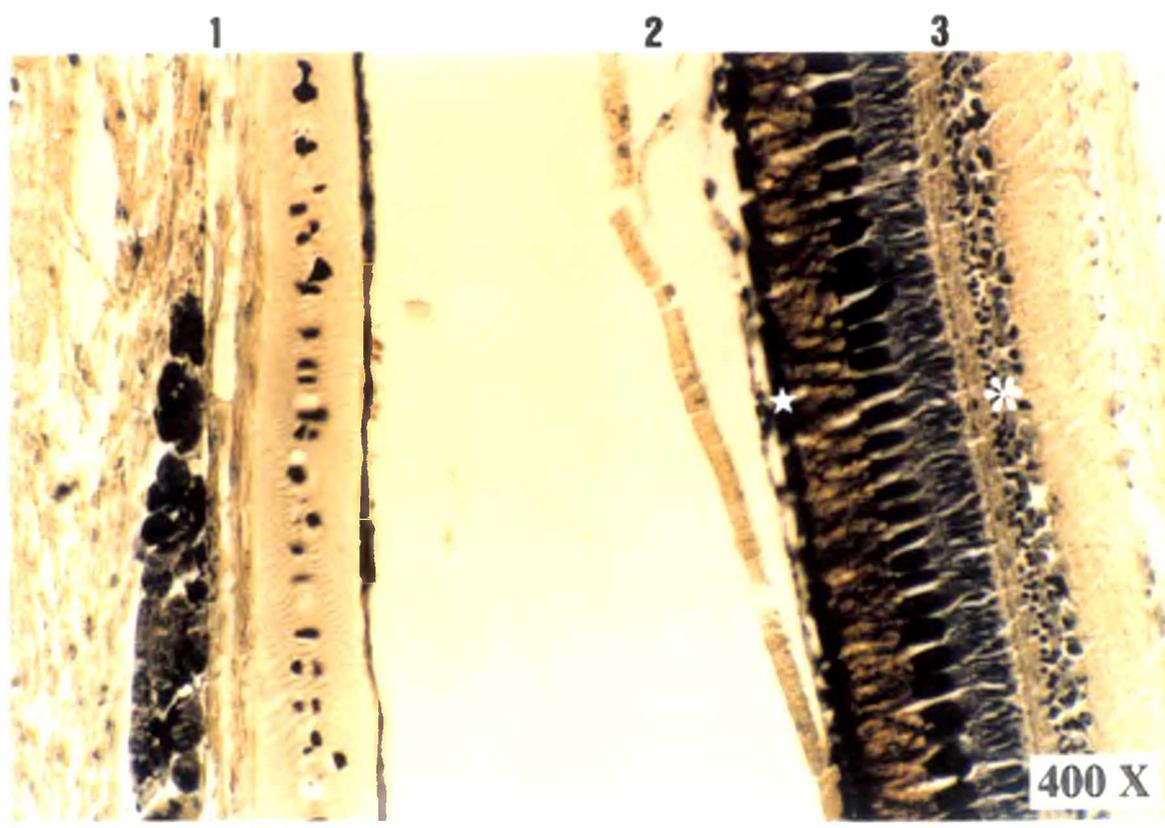
Trematomus newnesi



Fig. 12: Observar detalhe dos olhos de *Notothenia (G.) gibberifrons*. As pupilas em forma de gota, com a porção mais estreita voltada para a frente e os olhos acompanhando este formato de gota, com a porção lateral mais larga. A porção lateral posterior está mais profundamente inserida na órbita ocular.

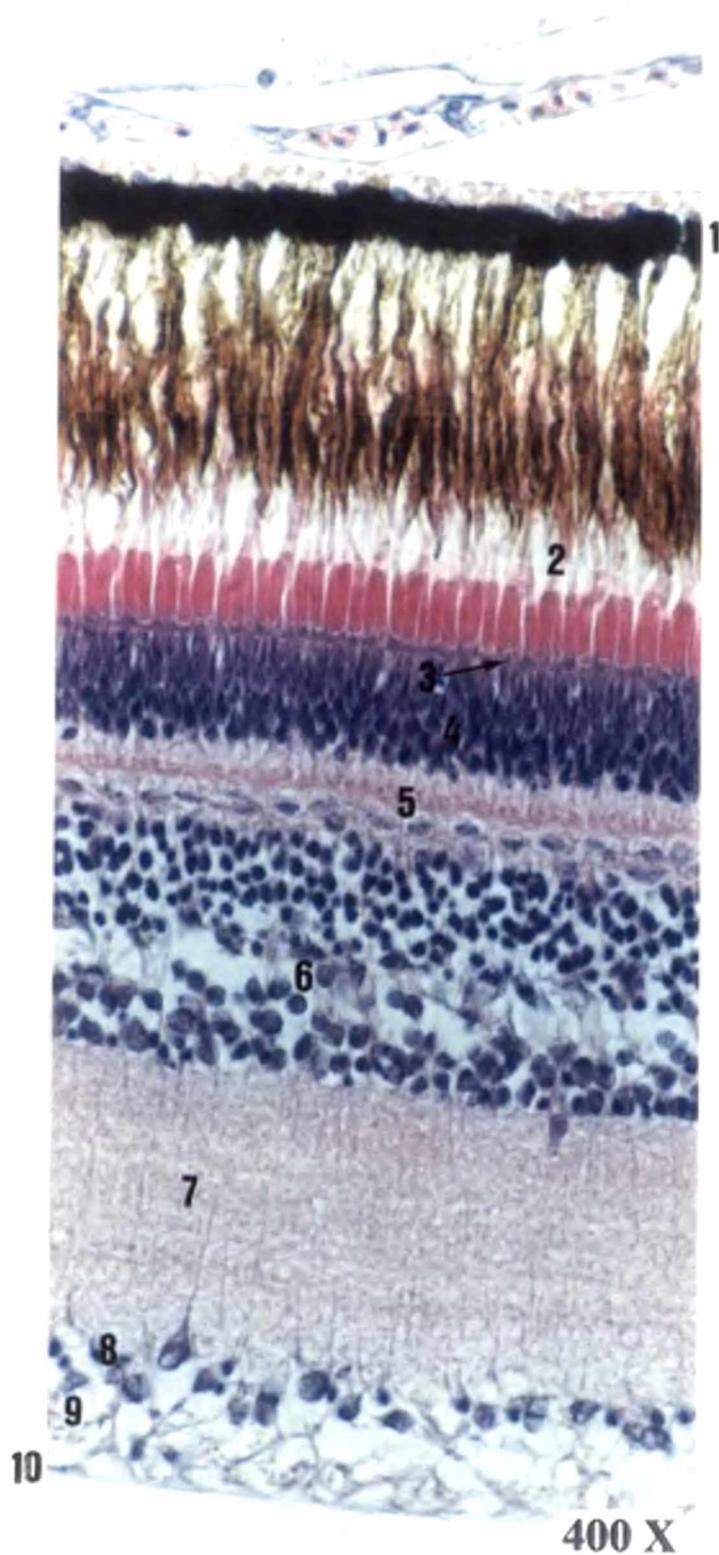


Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons



Trematomus newnesi

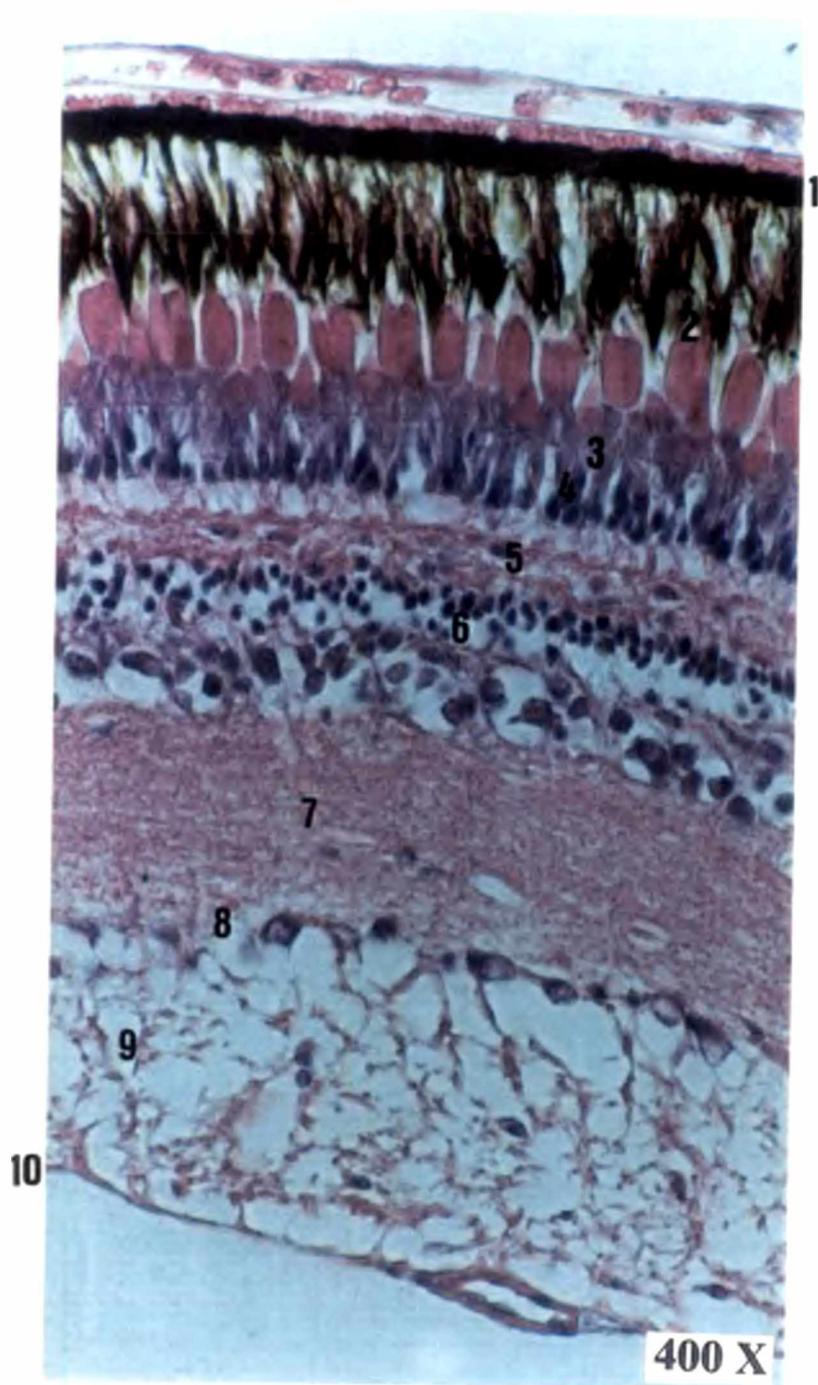
Fig. 13: Observar que as duas espécies possuem as três camadas ou túnicas concêntricas do olho. 1. Uma camada externa, a túnica fibrosa, constituída pela esclera, sendo que em ambas as espécies ocorre internamente à porção fibrosa uma porção de cartilagem hialina. Em *N. (G.) gibberifrons* a porção fibrosa sofreu descolamento. 2. Uma camada média, a túnica vascular ou úvea, constituída pela coróide, e 3. A camada mais interna, a retina, constituída por uma porção pigmentar (epitélio pigmentar) (★), e uma porção nervosa interna (*).



Notothenia (G.) gibberifrons

Fig. 14 a - Camadas da Retina:

1. Epitélio pigmentar
2. Camada de cones e bastonetes
3. Membrana limitante externa
4. Camada nuclear externa
5. Camada plexiforme externa
6. Camada nuclear interna
7. Camada plexiforme interna
8. Camada de células ganglionares
9. Camada de fibras do nervo óptico
10. Membrana limitante interna



Trematomus newnesi

Fig. 14 b - Camadas da Retina:

1. Epitélio pigmentar
2. Camada de cones e bastonetes
3. Membrana limitante externa
4. Camada nuclear externa
5. Camada plexiforme externa
6. Camada nuclear interna
7. Camada plexiforme interna
8. Camada de células ganglionares
9. Camada de fibras do nervo óptico
10. Membrana limitante interna

Fig. 14. c - *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons*

38

1000 X

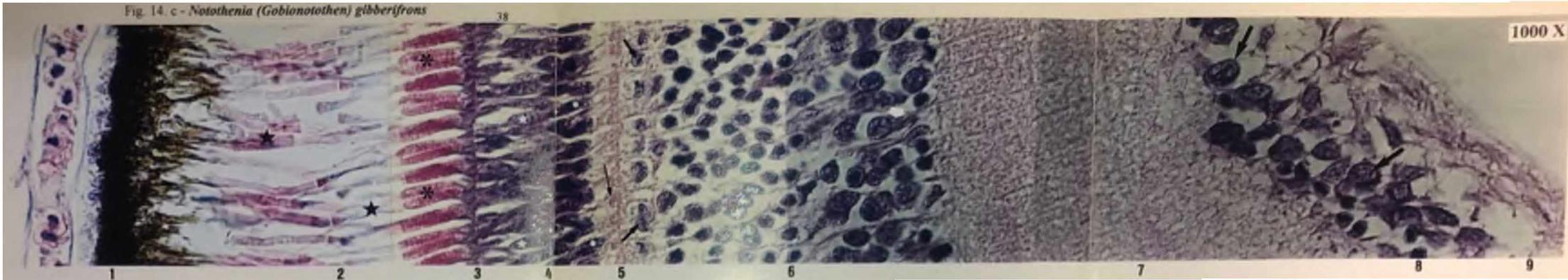


Fig 14 c,d Cortes longitudinais às células fotossensoriais da retina da duas espécies, ambas em regiões laterais. Observar comparativamente entre as duas espécies as espessuras relativas à cada uma das dez camadas da retina.

1. Epitélio pigmentar
2. Camada de cones e bastonetes
3. Membrana limitante externa
4. Camada nuclear externa
5. Camada plexiforme externa
6. Camada nuclear interna
7. Camada plexiforme interna
8. Camada de células ganglionares
9. Camada de fibras do nervo óptico
10. Membrana limitante interna

E notar que, do número 1 ao 5 temos na realidade a total extensão dos cones e bastonetes. Do número 5 ao 7 temos a total extensão das células condutoras bipolares e que, do número 7 ao 10 temos também a total extensão das células ganglionares. Também pode-se observar com muita facilidade os núcleos das células condutoras horizontais e das células condutoras amácrinas, além de outras estruturas. Desta forma, observar também

- ★ Segmentos externos de cones e bastonetes
- ✱ Elipsóides de cones
- ★ Núcleo de cone
- Núcleo de bastonete
- Pedículo sináptico de cone
- Núcleo de célula condutora horizontal
- Corpo celular e núcleo de célula condutora amácrina
- Corpo celular e núcleo de célula ganglionar

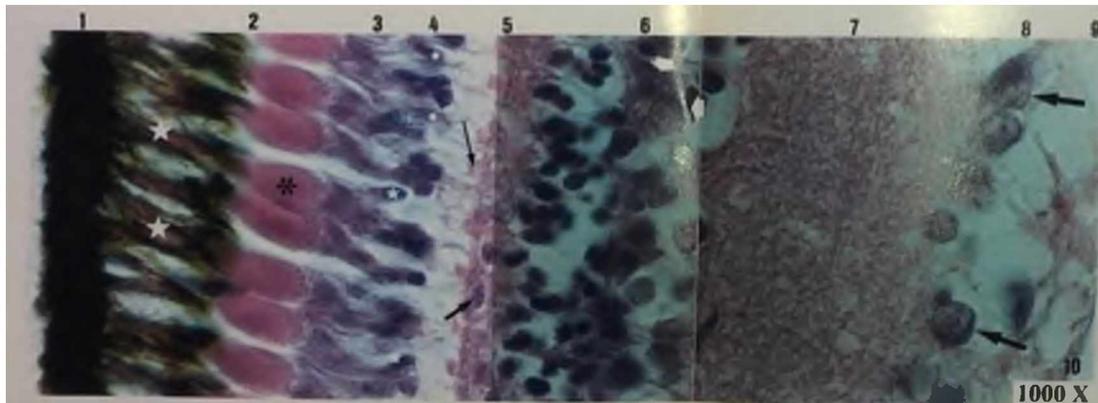
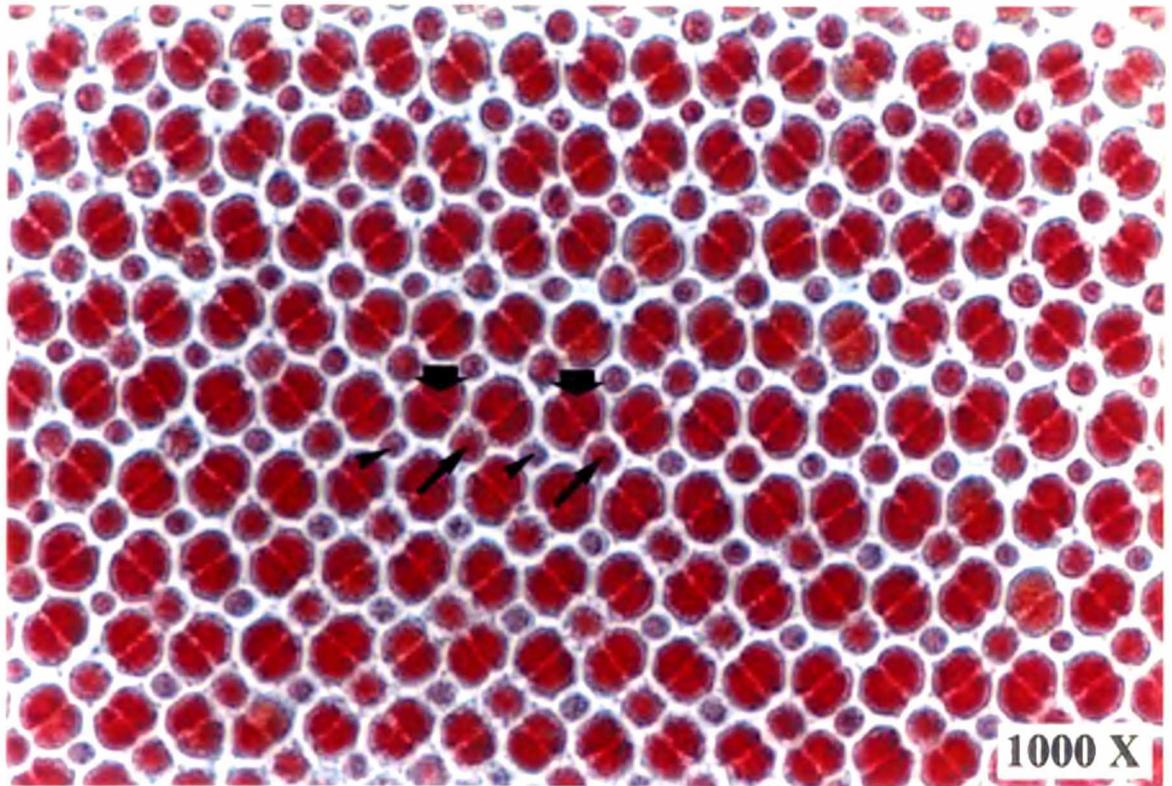


Fig. 14. d - *Trematomus newnesi*

1000 X

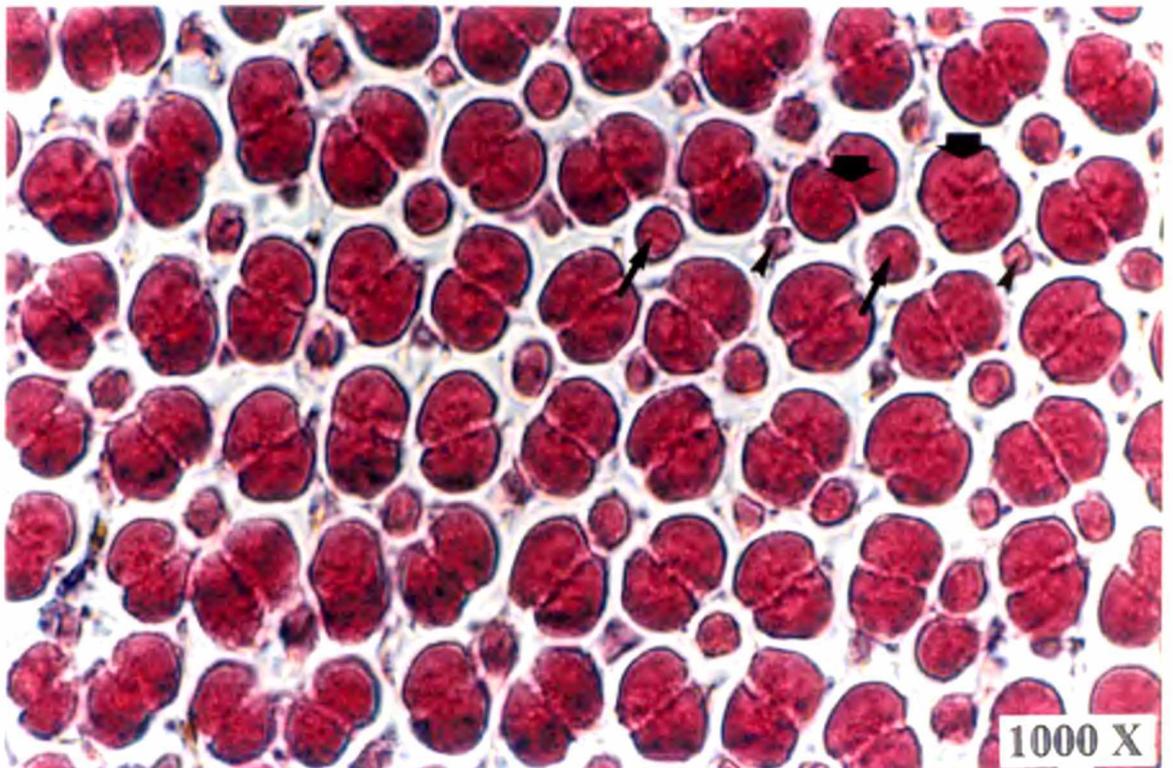


Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons

Fig. 15: Corte transversal aos segmentos internos dos cones das duas espécies. Em ambas as espécies o mosaico de cones é em forma de quadrado e três tipos de cones foram identificados:

- cones duplos simétricos ()
- cones simples longos ()
- cones simples curtos ()

Trematomus newnesi



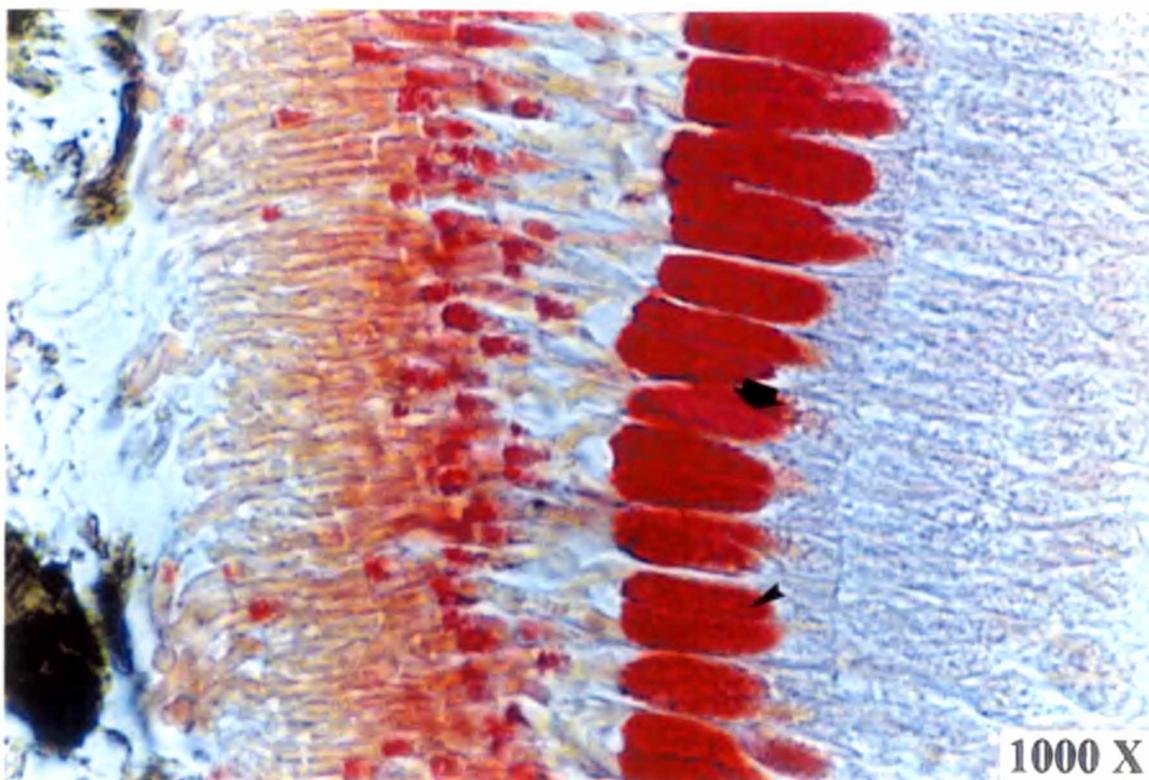


Fig. 16.a: Corte longitudinal às células fotossensoriais da região do fundo da retina de *Notothenia (G.) gibberifrons*, onde pode-se observar o segmento interno dos cones duplos (►) e suas respectivas altura, largura e leve torção ao longo do eixo maior (◄). Coloração: Mallory (sem hematoxilina).

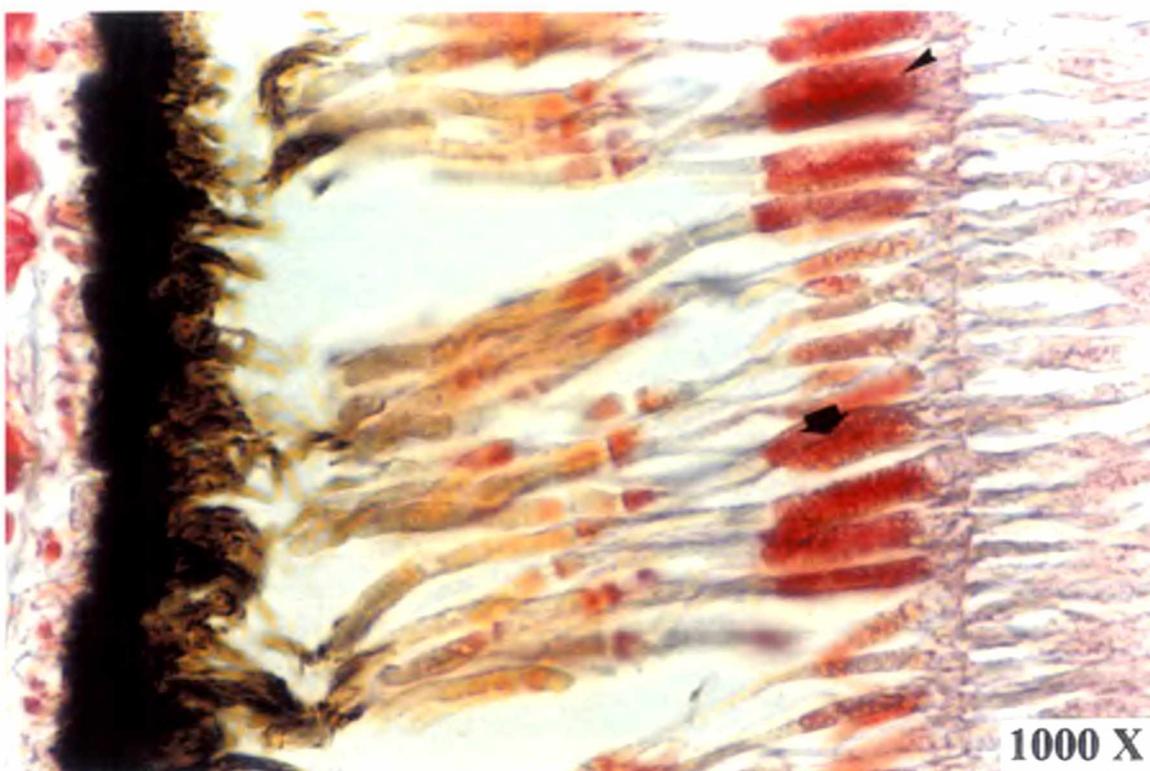


Fig. 16.b: Corte longitudinal às células fotossensoriais de região lateral da retina de *Notothenia (G.) gibberifrons*, observando-se a diminuição do diâmetro do segmento interno dos cones duplos, com seu respectivo alongamento (►). A torção longitudinal ainda ocorre (◄), mas de forma mais suave. Coloração: Mallory (sem hematoxilina).

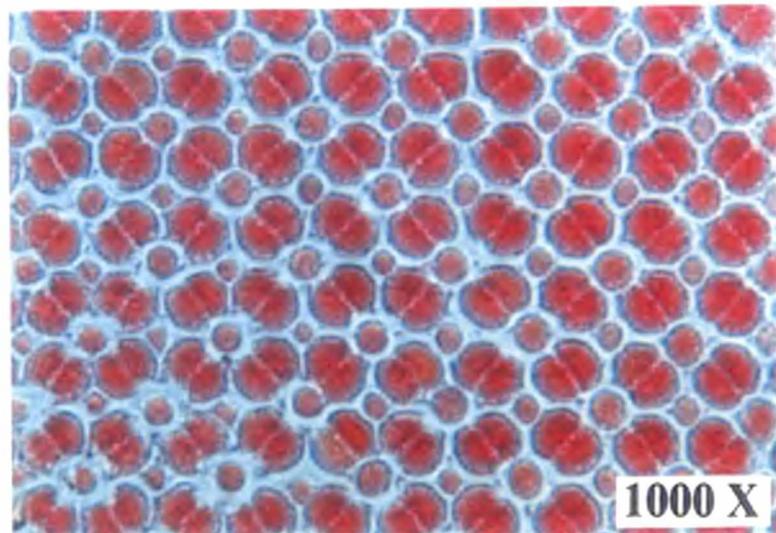
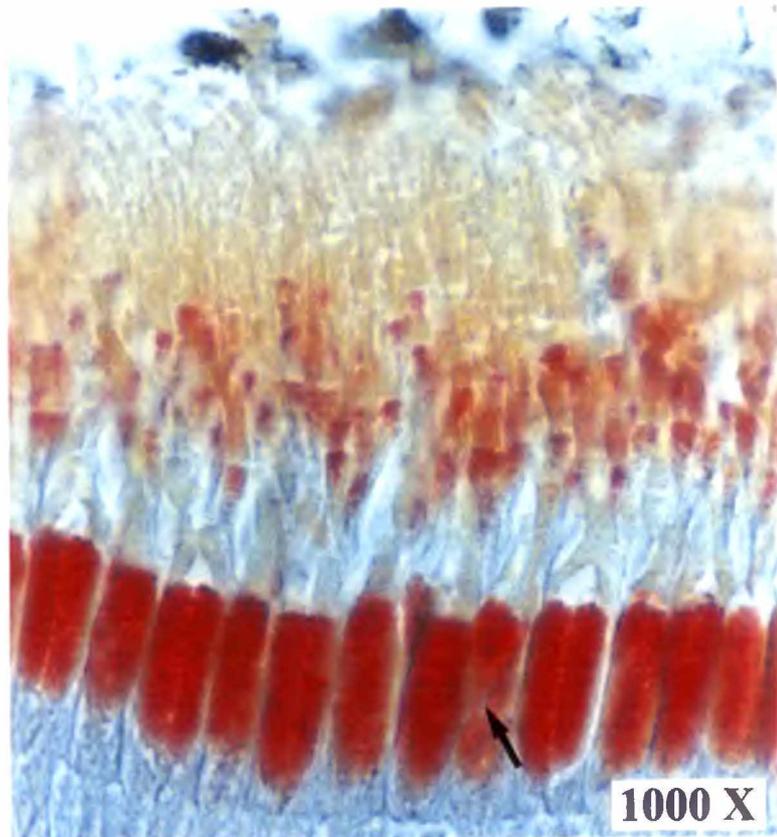


Fig. 17: *Notothenia (G.) gibberifrons*. Observa-se acima, corte longitudinal aos segmentos internos dos cones. Apesar de muitas vezes serem observadas torções ao longo do seu eixo maior (→), a sua simetria é comprovada por cortes transversais à mesma região, como está ilustrado abaixo. Coloração: Tricrômico de Mallory (sem hematoxilina).

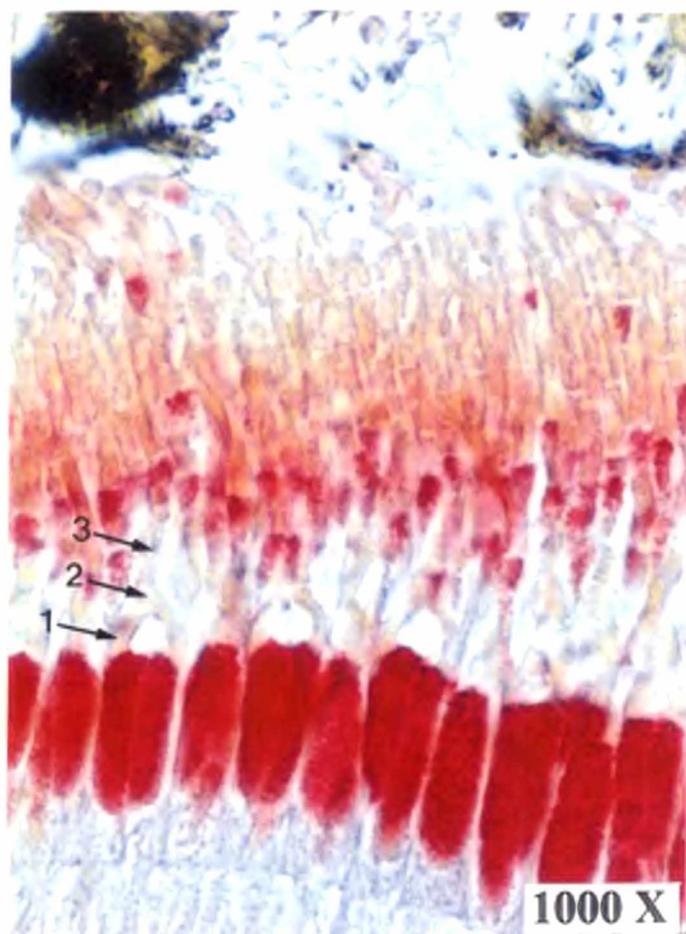


Fig. 18.a

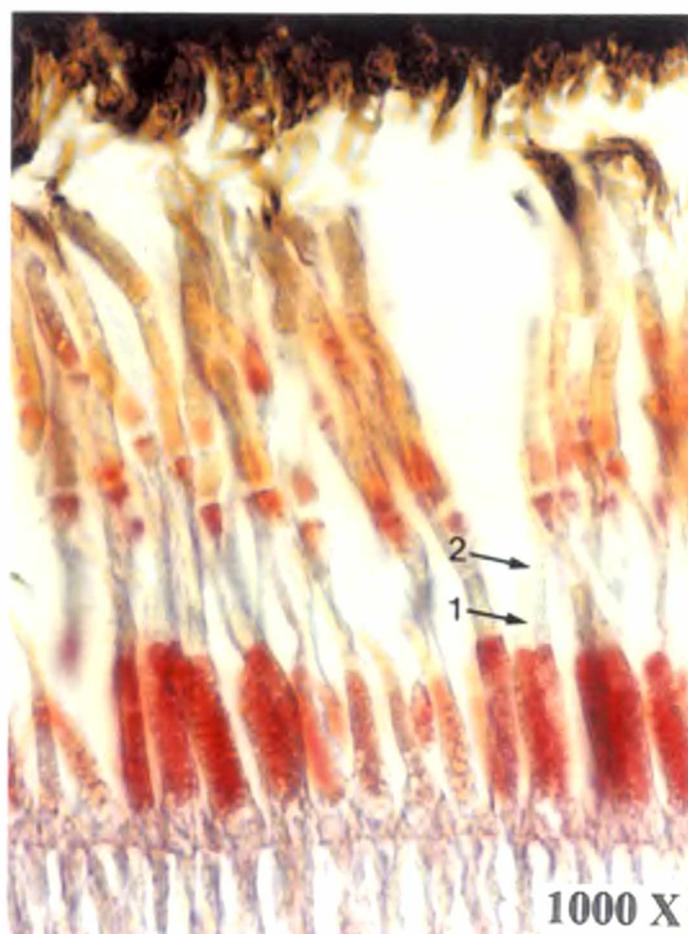


Fig. 18.b

Fig. 18.a: Corte longitudinal aos cones da região de fundo da retina de *Notothenia (G.) gibberifrons*. Observar a região de saída dos segmentos externos dos cones (1) à partir da porção apical dos mesmos. A sua junção logo acima (2), dando-lhes um aspecto de estribo e sua posterior torção (3). Coloração: Tricrômico de Mallory (sem hematoxilina).

Fig. 18.b: Situação verificada em região lateral da retina de *Notothenia (G.) gibberifrons*: Percebe-se que o característico aspecto em estribo apresentado pelos segmentos externos dos cones duplos do fundo do olho desaparece (1), assim como a torção (2).

Fig. 19 a: Em *Notothenia (G.) gibberifrons*, os segmentos externos, nas regiões laterais da retina, representam praticamente a metade do comprimento total de um cone.

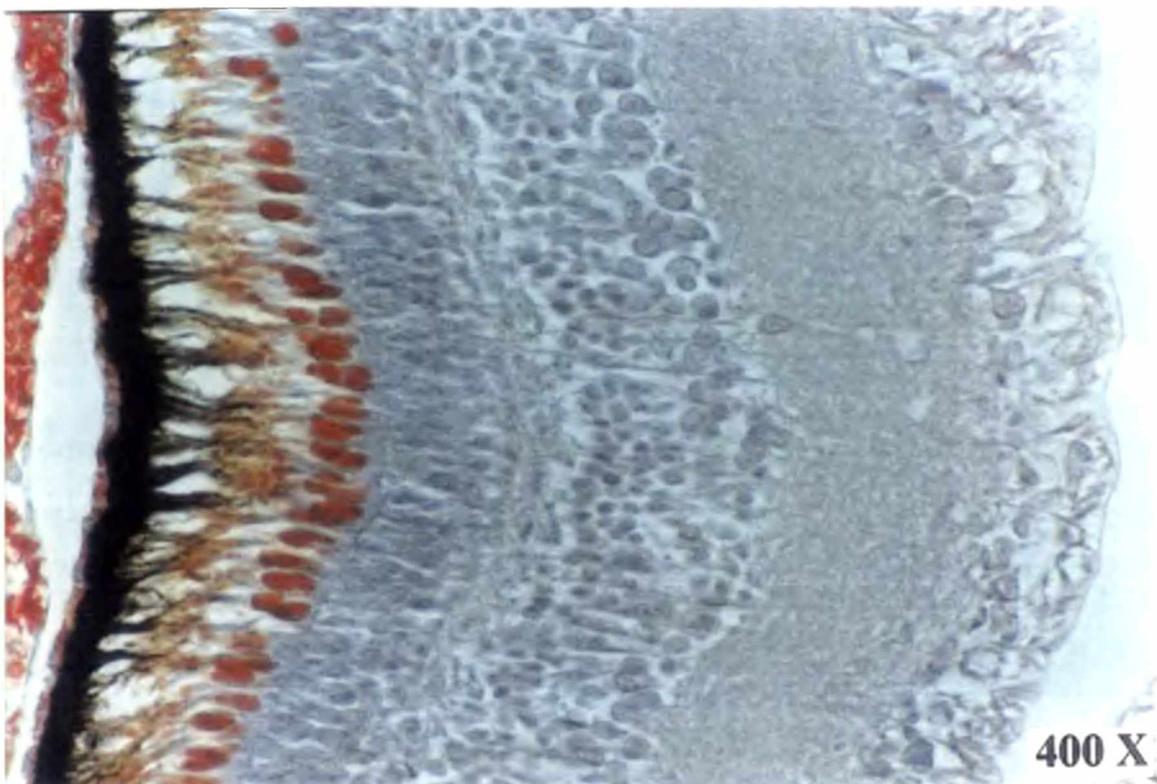
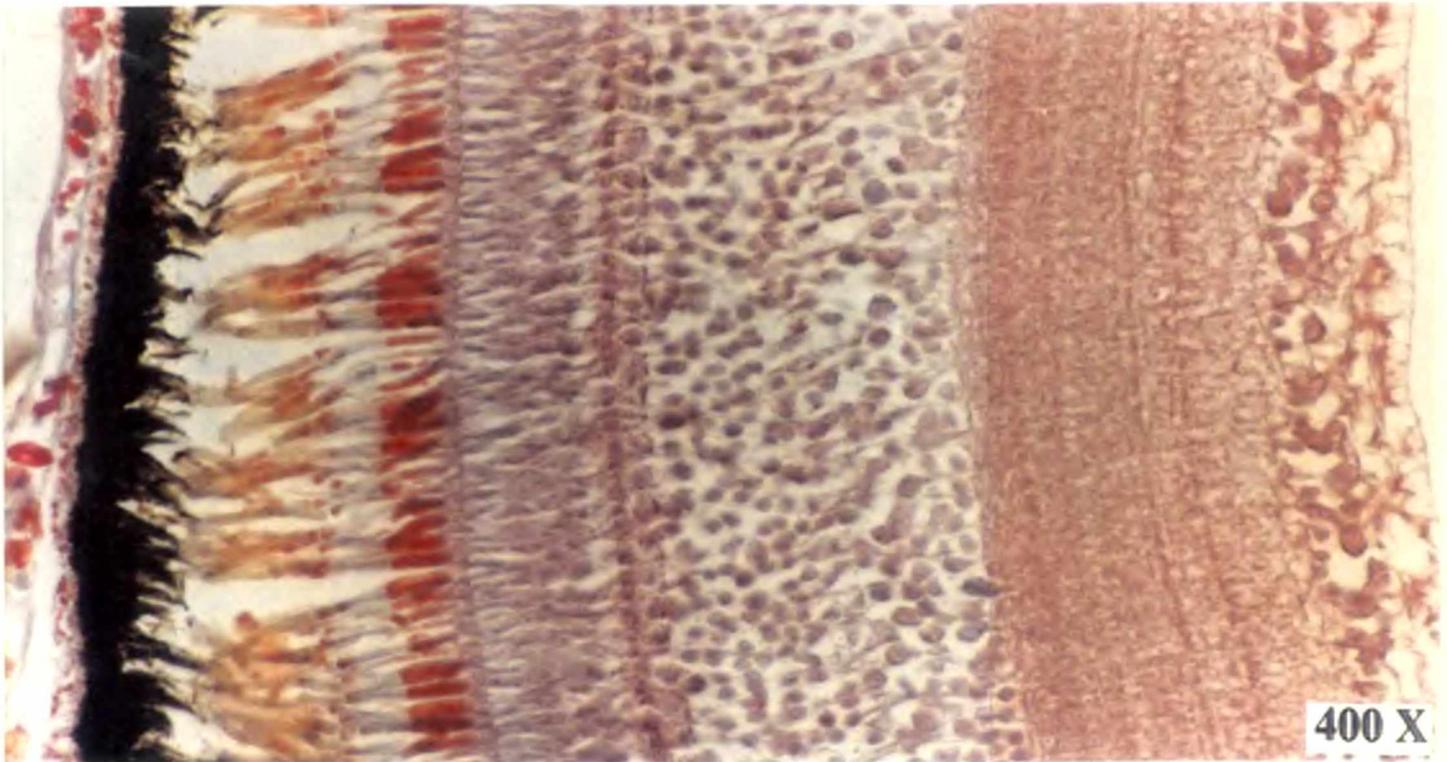


Fig. 19.b: Comparativamente, na mesma espécie, na região do fundo da retina, os segmentos externos das células fotossensoriais são sempre mais curtos.

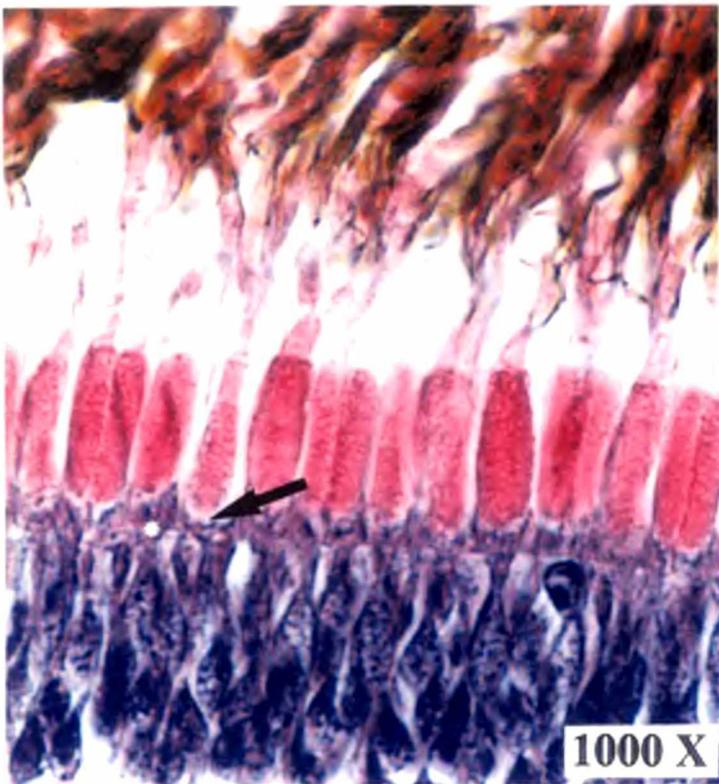


Fig 20.a

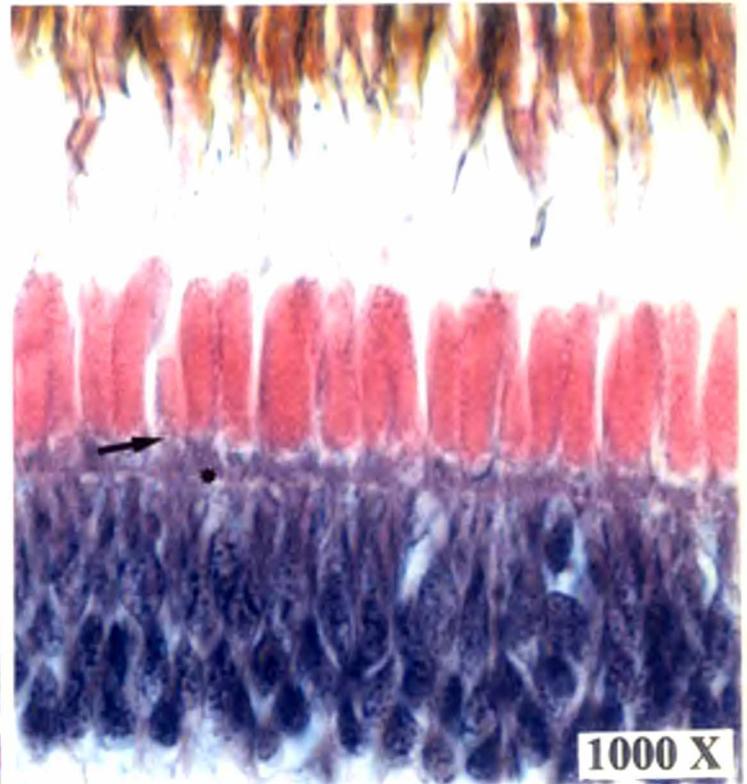


Fig. 20.b

Fig. 20.a: Observar a região basal do segmento interno dos cones simples longos de *N. (G.) gibberifrons* (—▶) e sua localização mais baixa do que nos cones duplos, em relação à membrana limitante externa (*).

Fig. 20.b: Observar que para os cones simples curtos, esta localização é na mesma altura em relação aos cones duplos (—▶) e também em relação à membrana limitante externa (*).

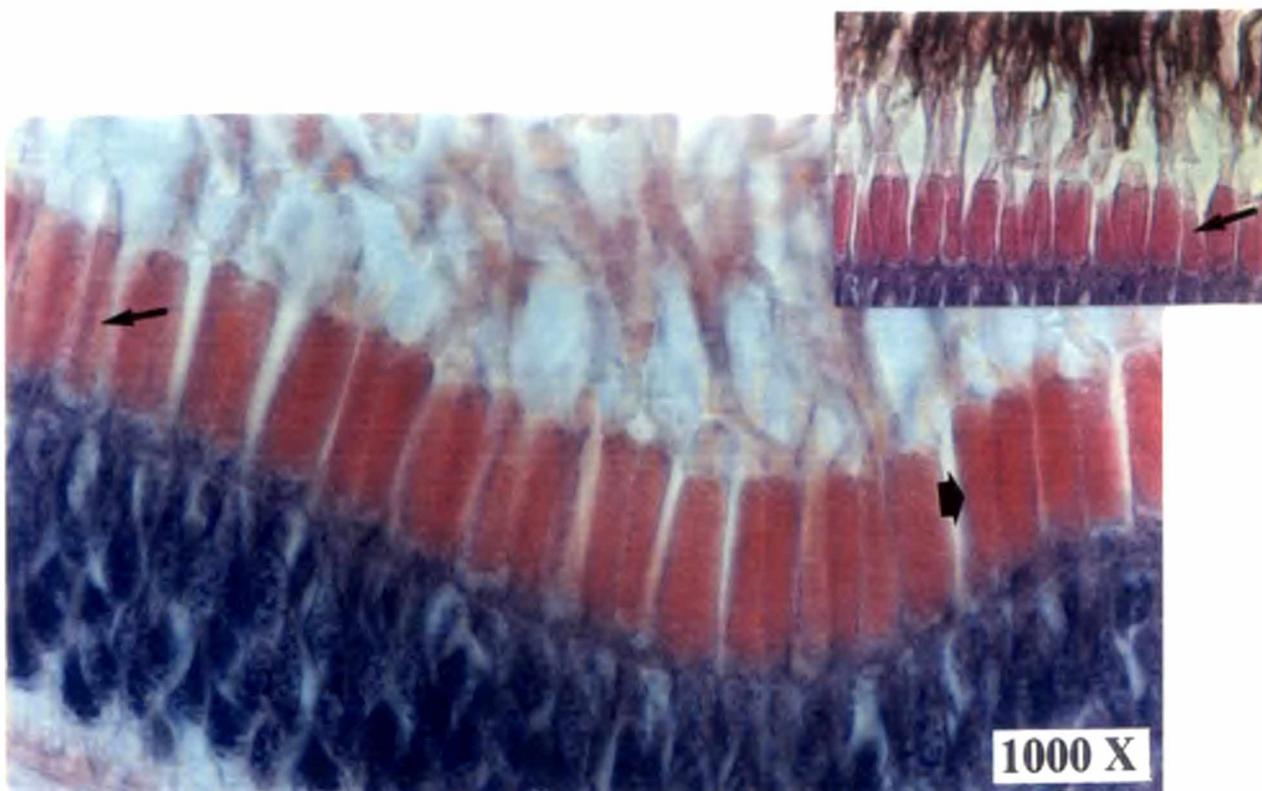


Fig. 21.a



Fig 21.b

Fig. 21.a: Em *N. (G.) gibberifrons*, os cones duplos simétricos têm o seu elipsóide com o segmento interno subdividido, como dois cilindros pareados (↔). Os cones simples longos, por sua vez, são os que mais se aproximam da forma cônica nesta espécie (←). Coloração: H.E.

Fig. 21.b: Observar que nesta espécie, os cones simples curtos são completamente cilíndricos, com uma estrutura de extrema delicadeza (←). Coloração: Tricrômico de Mallory (sem hematoxilina).

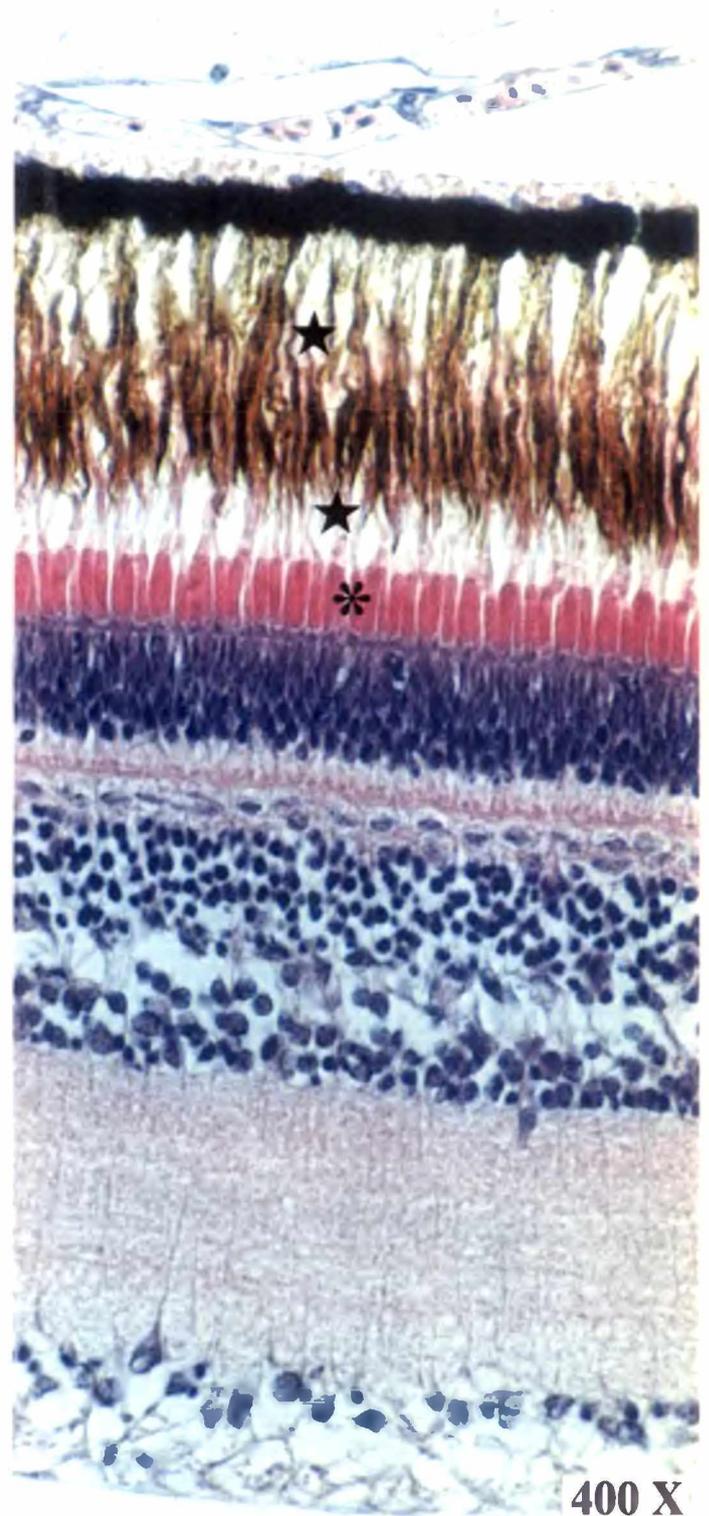
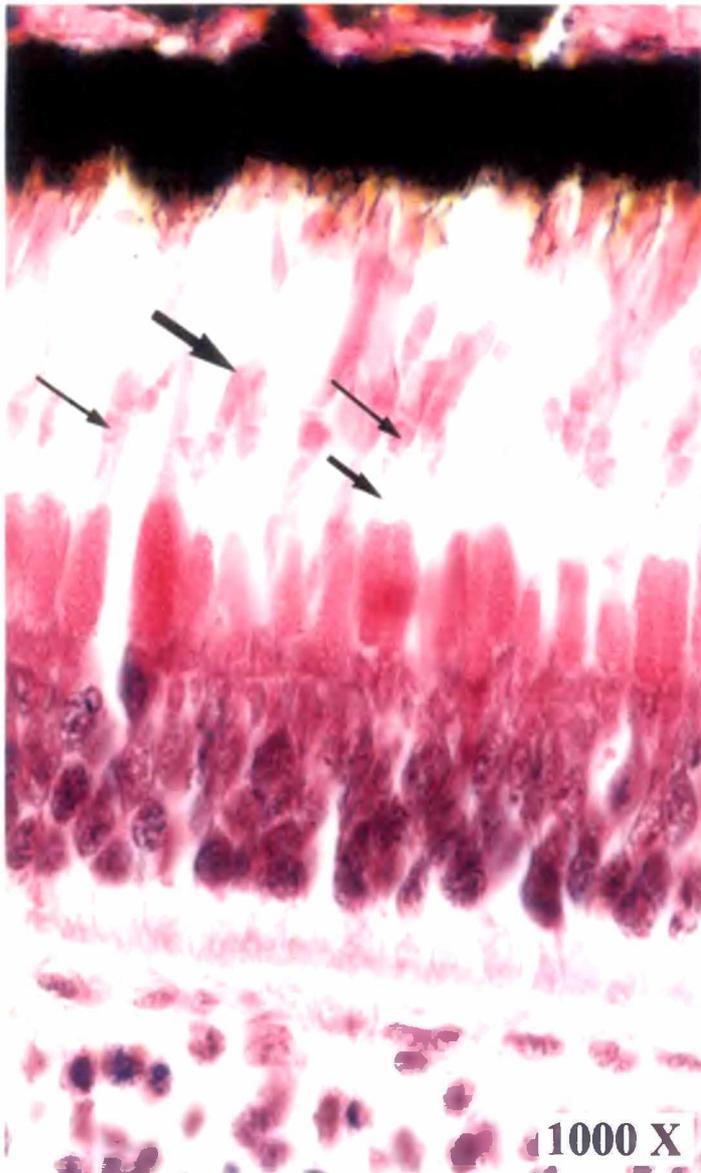


Fig. 22.a: Notar que o elipsóide dos bastonetes (—→), assim como os seus segmentos externos (—→), confundem-se com os segmentos externos dos cones (→).

Fig. 22.b: Nas regiões laterais da retina de *N. (G.) gibberifrons*, os segmentos externos de cones e bastonetes (★), se somados aos segmentos internos dos cones (*), representam a camada mais larga da retina.

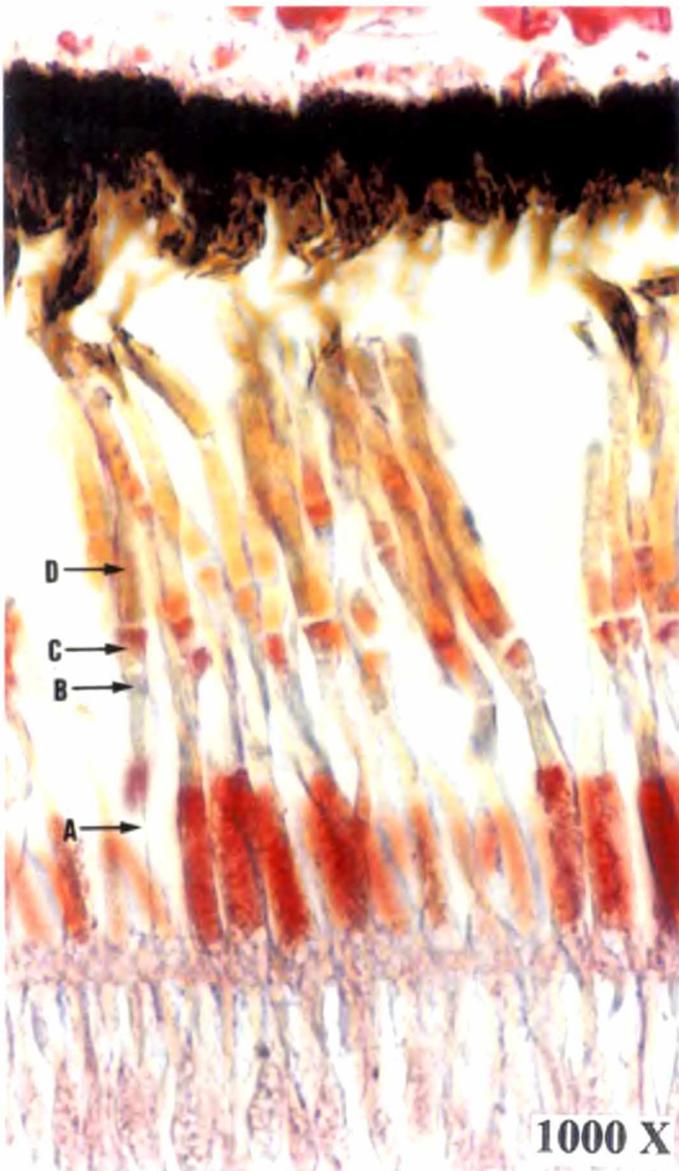


Fig. 23.a

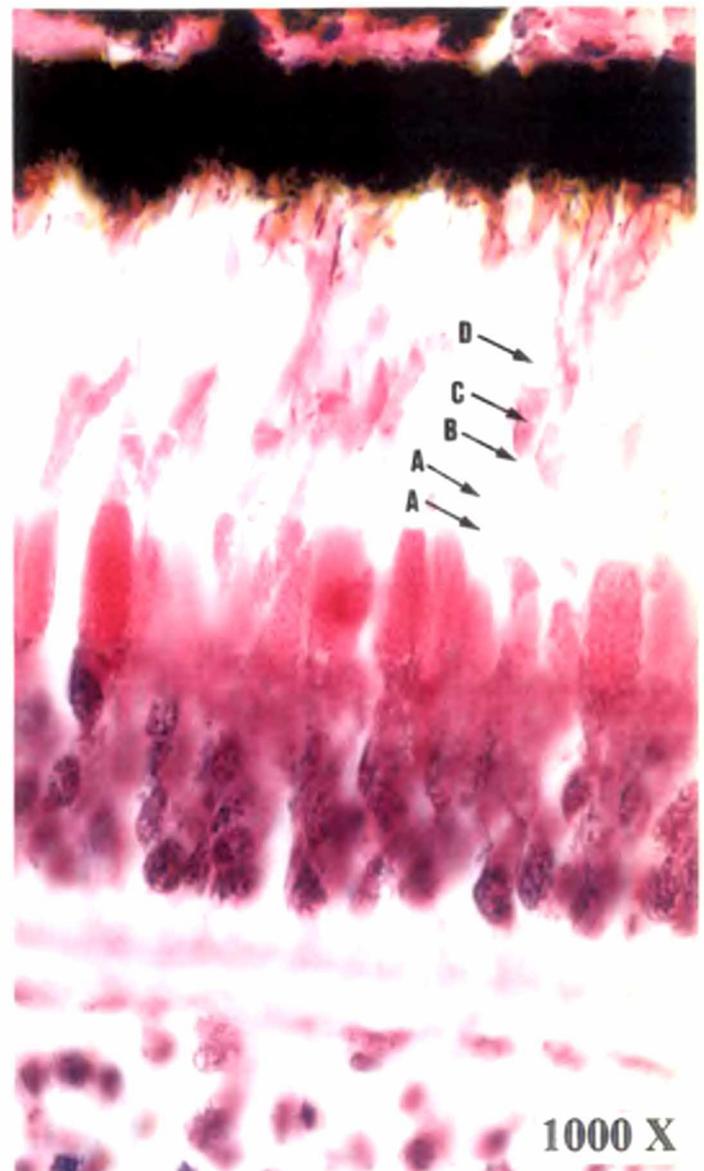


Fig. 23.b

Fig. 23: Observar na fig 23.a (coloração: Tricrômico de Mallory) e na fig. 23.b (coloração: H.E.) as seguintes partes dos bastonetes que podem ser visualizadas com estas colorações :

- A. Fibra interna do bastonete
- B. Mióide
- C. Segmento interno
- D. Segmento externo

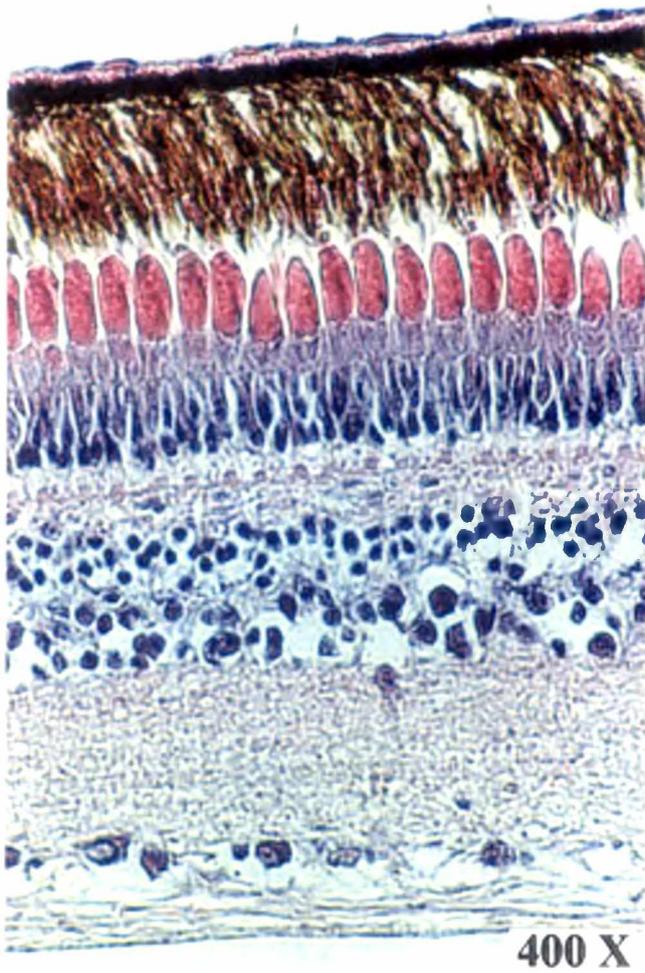


Fig. 24.a

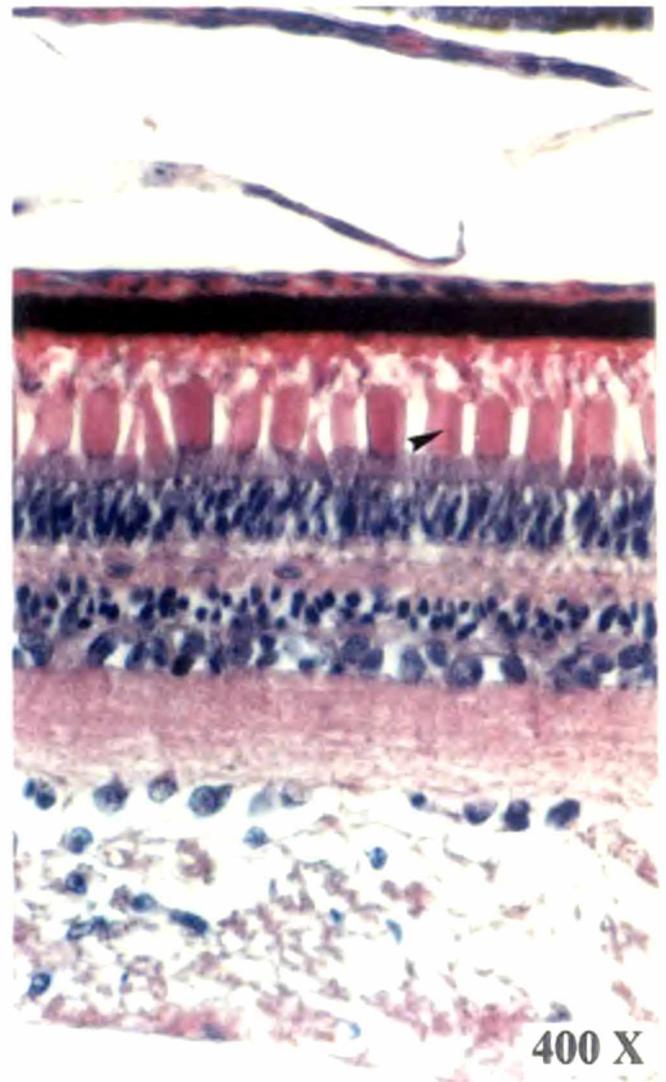


Fig. 24.b

Fig. 24.a: As porções laterais da retina de *Trematomus newnesi* também se apresentam mais espessas do que na região do fundo do olho. Coloração: H. E.

Fig. 24.b: Porém, nesta espécie, o que mais se evidencia é a morfologia do segmento interno dos cones duplos simétricos, na porção do fundo do olho (►). Coloração: H. E.

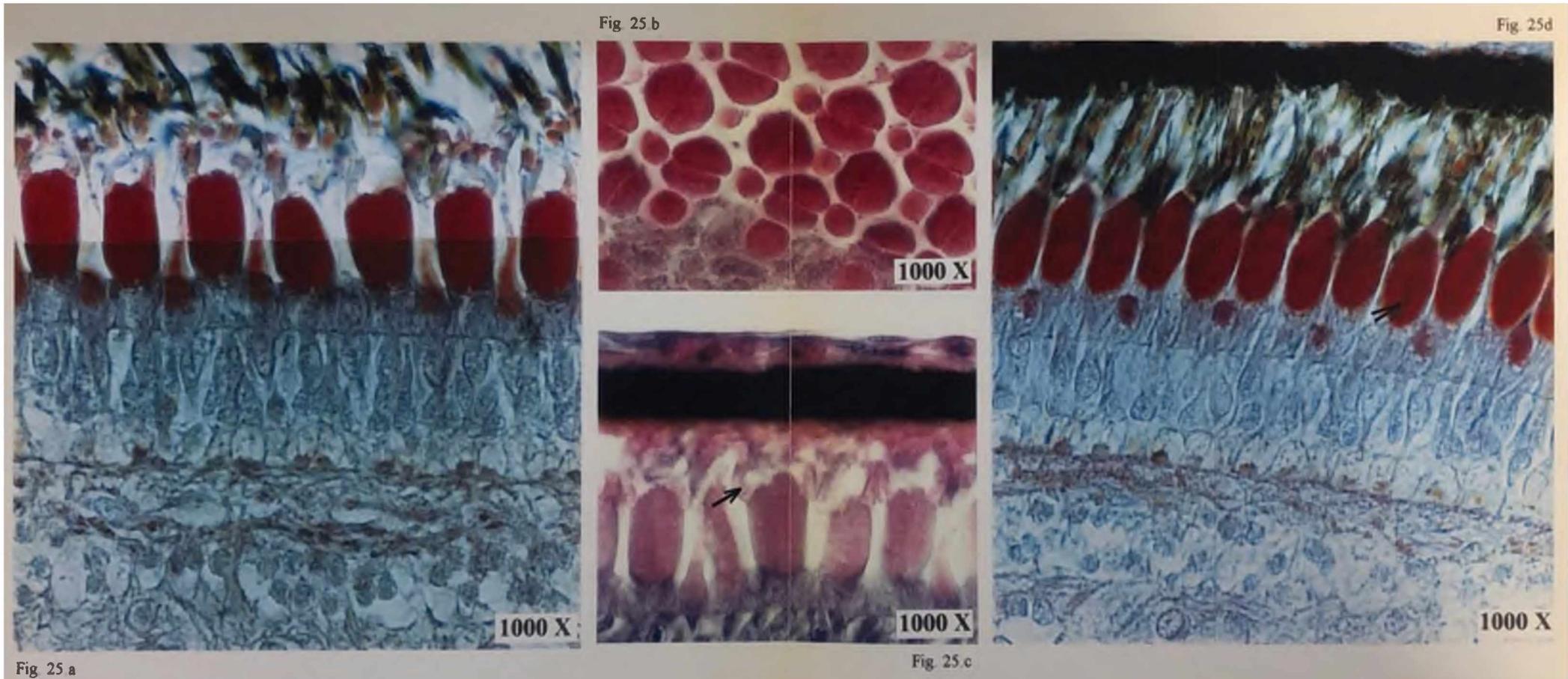


Fig. 25 a (Coloração: Tricrômico de Mallory, sem hematoxilina). Na região de fundo de olho de *Trematomus newnesi*, em corte longitudinal à retina, observar que os segmentos internos dos cones duplos são proeminentes, largos e baixos, em forma de barril. Apresentam torção muito sutil, porém, a sua simetria é comprovada pelos cortes transversais (Fig. 25 b Coloração: Hematoxilina - Eosina).

Fig. 25.c Notar a espessura dos segmentos externos dos cones e a sua saída das porções apicais dos segmentos internos. Também apresentam a forma de estribo e torção (→), porém em um trajeto bem mais curto (coloração: Hematoxilina - Eosina, corte longitudinal). Na Fig. 25.d, em porção lateral da retina e corte longitudinal à mesma, observar o formato oval dos segmentos internos dos cones duplos (≡), ainda com torção visível, porém não em seus segmentos externos (coloração: Mallory, sem hematoxilina).

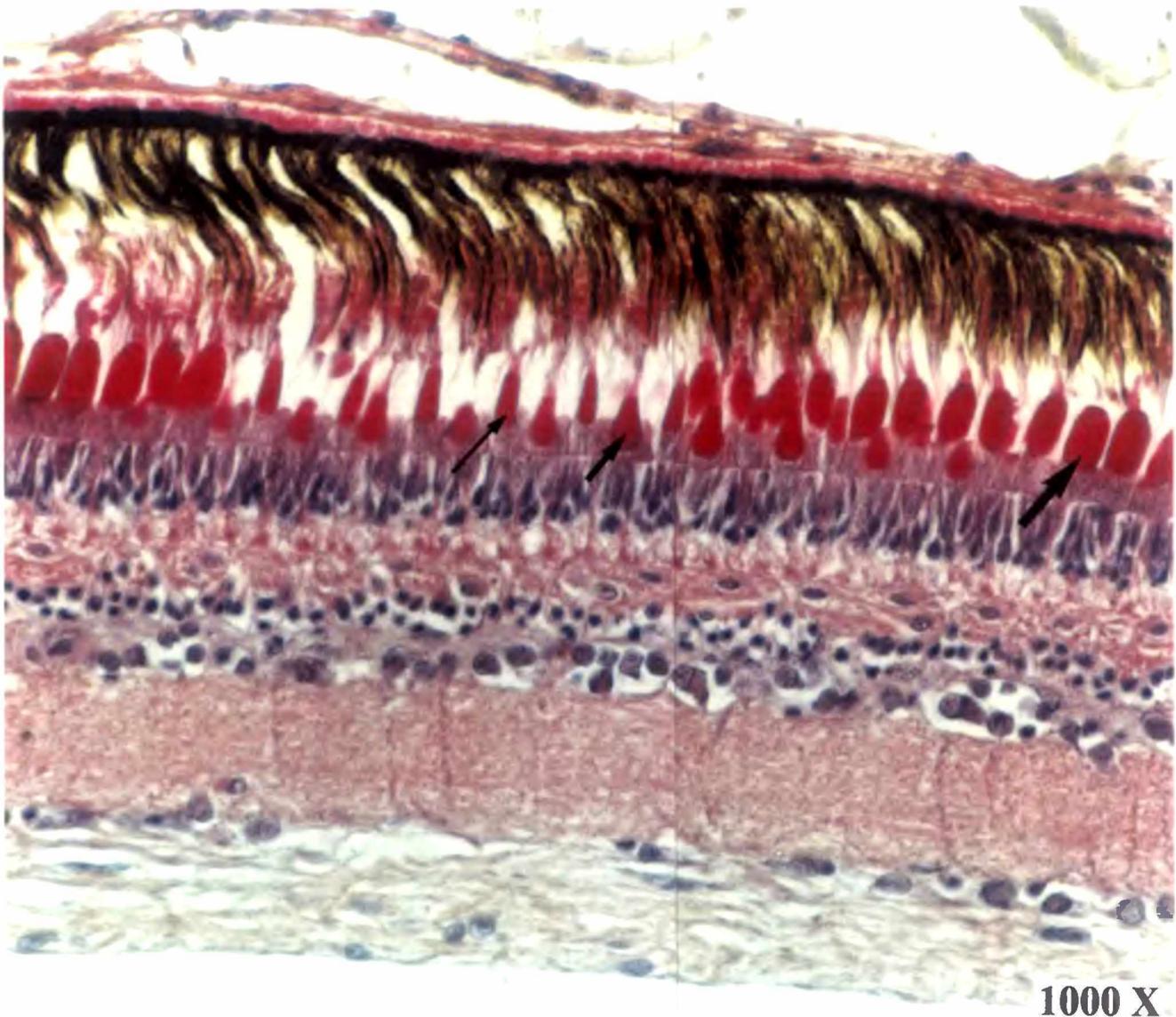


Fig 26: Aqui pode-se observar os três tipos de cones de *Trematomus newnesi*:

(↔) Cones duplos simétricos

(→) Cones simples longos

(↔) Cones simples curtos

Coloração. Tricrômico de Mallory (com hematoxilina). Corte: oblíquo à retina.



Fig. 27: Aqui pode-se observar detalhes de certas estruturas dos bastonetes.

- (→) Fibra interna do bastonete
- (→) Mióide
- (→) Elipsóide
- (→) Segmento externo



Fig. 28 a (Coloração H.E.)

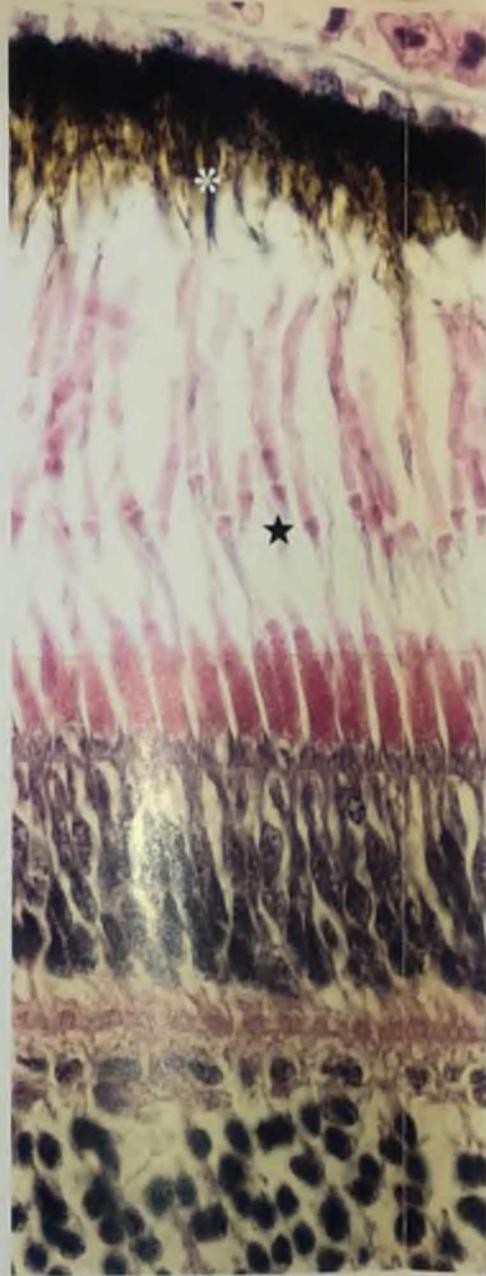


Fig. 28 b (Coloração H.E.)

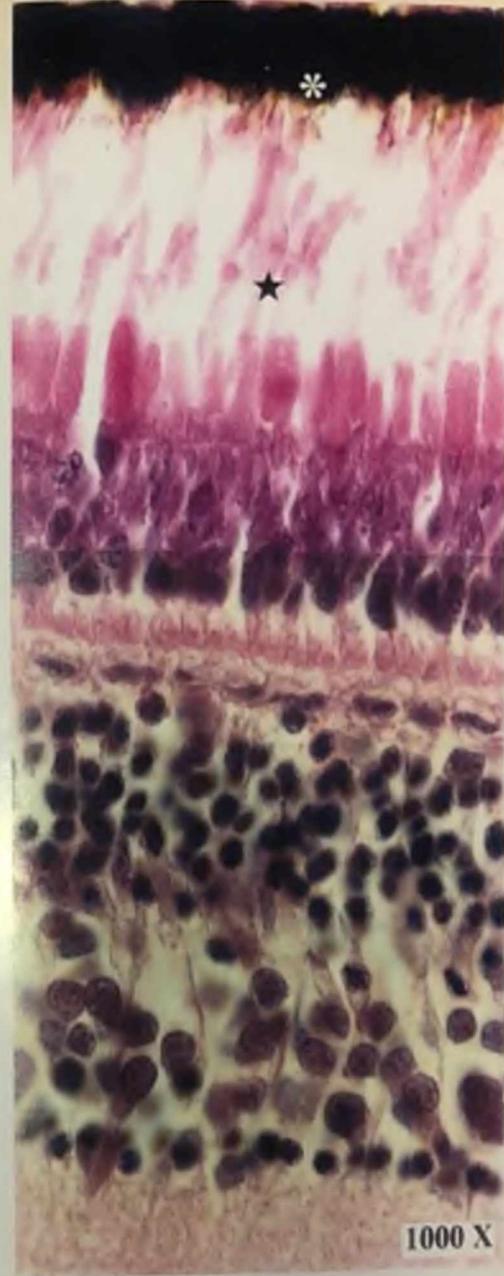


Fig. 28 c (Coloração H.E.)

Fig. 28. Observar nesta figura, para *Notothenia (G.) gibberifrons*, a migração de pigmentos de melanina (*) ao redor dos segmentos externos de cones e bastonetes (★), em cada fotoperíodo a que foram submetidos os animais.

Fig. 28 a: 24 h luz. Dispersão dos grânulos de melanina para os prolongamentos citoplasmáticos, protegendo principalmente os segmentos externos dos bastonetes (*).

Fig. 28 b: 12 horas luz / 12 horas escuro. Pigmentos de melanina em fase de dispersão ou agregação (*).

Fig. 28 c: Migração dos pigmentos de melanina para as regiões supranucleares das células epiteliais pigmentares da retina, ao agregando-se, expondo principalmente os segmentos externos dos bastonetes (*). Fotoperíodo: 24 horas escuro.



Fig. 29 a (Coloração Hematoxilina Férrica)

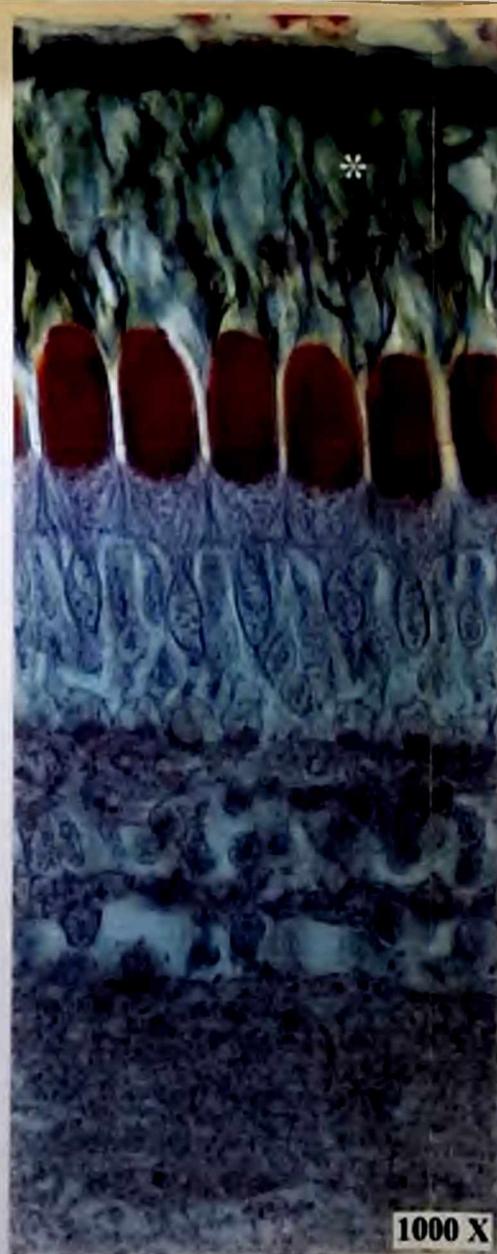


Fig. 29 b (Coloração Mallory, sem hematoxilina)

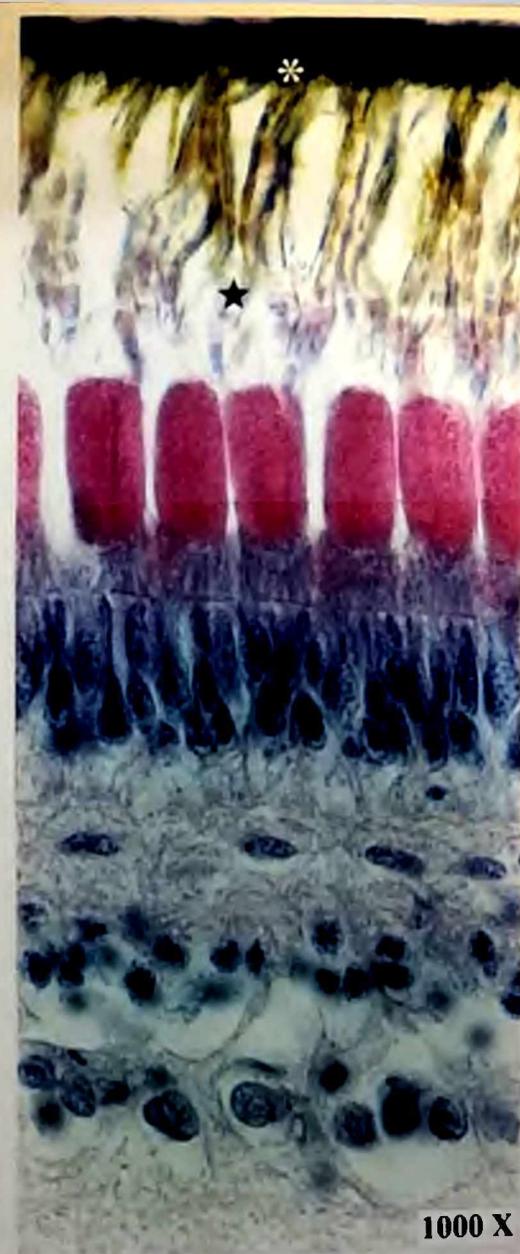


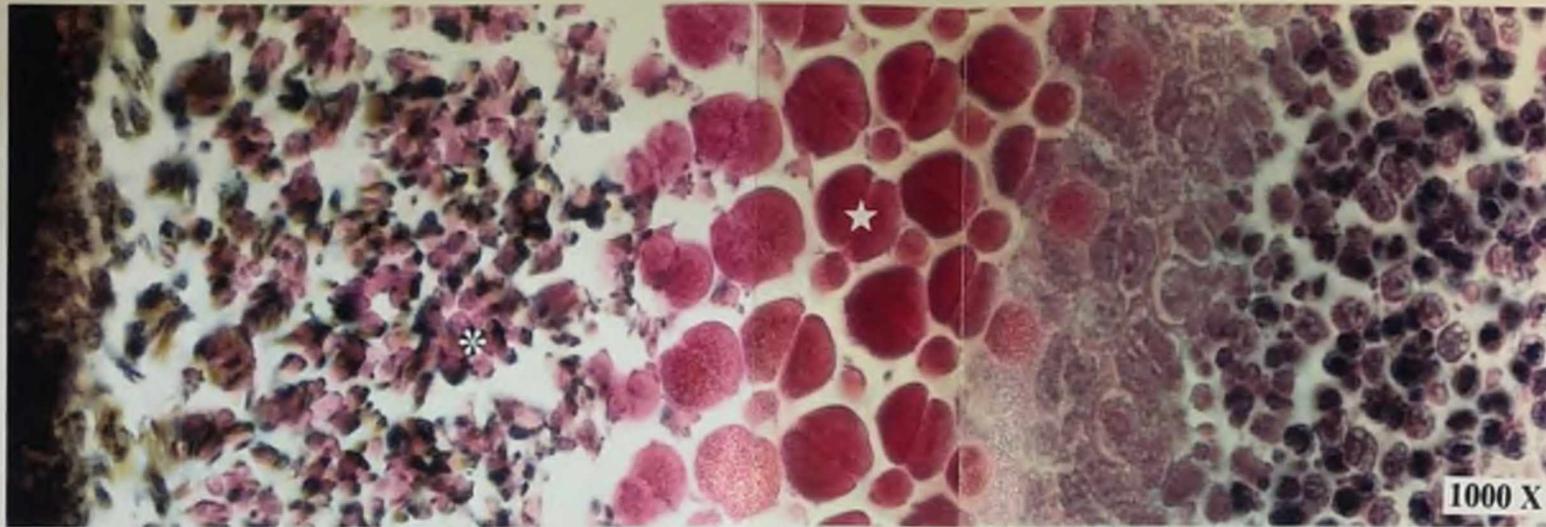
Fig. 29 c (Coloração H.E.)

Fig. 29 Observar para *Trematomus newnesi*, a migração de pigmentos de melanina (*) ao redor dos segmentos externos de cones e bastonetes (*), em cada fotoperíodo a que foram submetidos os animais.

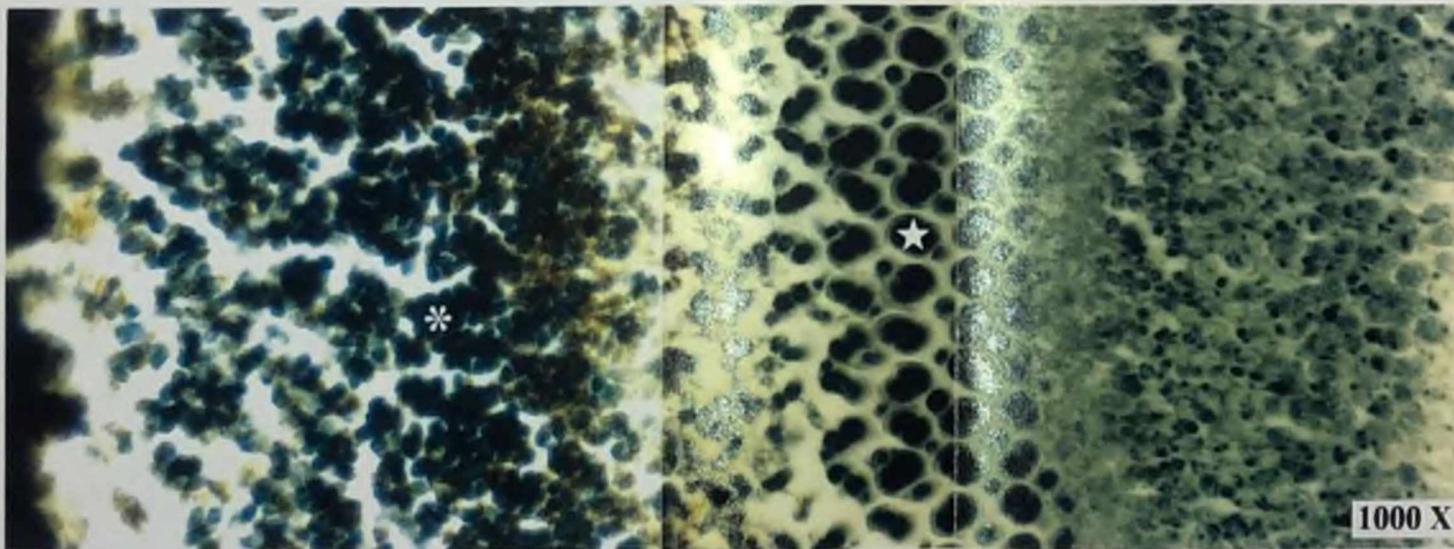
Fig. 29 a: 24 h luz. Dispersão dos grânulos de melanina para os prolongamentos citoplasmáticos, protegendo principalmente os segmentos externos dos bastonetes (*).

Fig. 29 b: 12 horas luz / 12 horas escuro. Pigmentos de melanina em fase de dispersão ou agregação (*).

Fig. 29 c: Migração dos pigmentos de melanina para as regiões supranucleares das células epiteliais pigmentares da retina, aí agregando-se, expondo principalmente os segmentos externos dos bastonetes (*). Fotoperíodo: 24 horas escuro.



Trematomus newnesi



Notothenia (G.) gibberifrons

Fig. 30. Corte transversal às células fotorreceptoras da retina, em condições de iluminação total ao longo do dia. Observar para as duas espécies, que os pigmentos de melanina concentram-se em maior quantidade ao redor das porções iniciais dos segmentos externos dos bastonetes (*). Observar também, comparativamente, o diâmetro dos segmentos externos dos elipsóides dos cones (★) (Colorações H E em *T. newnesi* e Hematoxilina Férrica de Heidenhain em *N. (G.) gibberifrons*)

Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons

Esta espécie descreve uma estratégia para obtenção de alimento bastante característica:

1. O peixe, parado no fundo do aquário, toma postura de ALERTA: apoia-se nas nadadeiras pélvicas e levanta a região anterior do corpo.
2. Com a cabeça mais afastada do fundo, realiza movimentos oculares em direção às pedras e a sua volta.
3. Quando detecta o alimento, no fundo do aquário, desloca-se até ele, realiza um rápido movimento de curvatura do corpo direcionando a cabeça para o fundo e captura-o.
Porém, nem sempre consegue capturá-lo.
4. Quando este último passo finaliza-se com êxito, o peixe mastiga o alimento com movimentos bruscos, bastante pronunciado, durante alguns segundos.

Após a captura e mastigação do alimento o peixe pode ainda rejeitar o alimento que ingeriu. Esta rejeição pode ou não ser seguida por nova tentativa de captura.

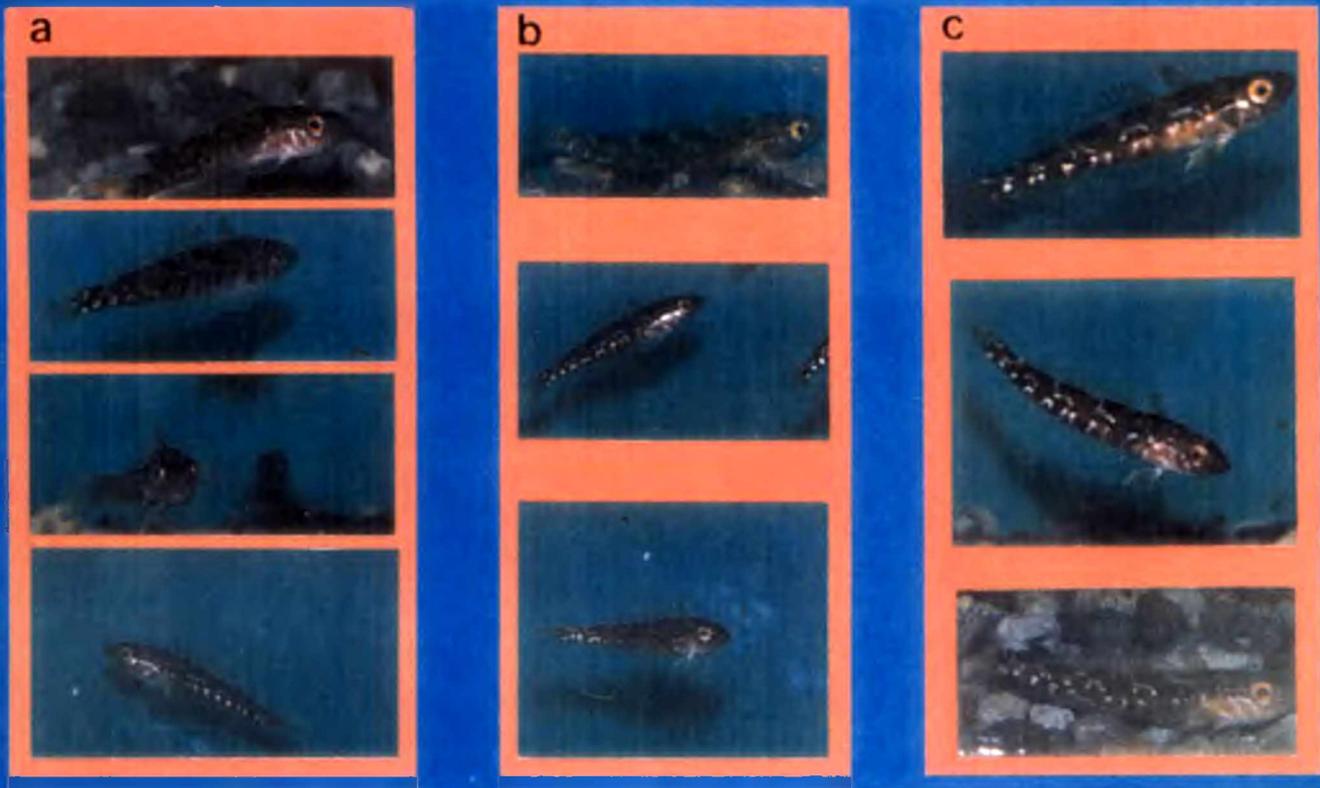


T. newnesi captura o alimento geralmente na superfície e/ou meia água do aquário, raras vezes o faz no fundo.

O peixe entra em natação após visualizar o alimento, dirigindo-se a ele rapidamente; apresenta um alto índice de acerto.

Durante a natação mais de uma presa pode ser capturada, através de três tipos de movimentos distintos:

- a) Após capturar a primeira presa, o peixe pode voltar até quase o fundo e dirigir-se novamente à superfície para nova captura.
- b) Partindo do repouso, captura mais de uma presa na superfície e na meia água.
- c) Nadando na superfície ou meia água, o peixe detecta o alimento no fundo, direciona-se a ele, capturando-o sobre as pedras.



Observou-se que *T. newnesi* apresenta no fotoperíodo 24 horas luz, o maior índice de alimentação no fundo, quando comparado com os outros fotoperíodos. Contudo, o índice do número de vezes de alimentação total é menor do que no 12 h luz / 12 h escuro.

No fotoperíodo 12 h luz / 12 h escuro observou-se o índice mais alto de alimentação, sendo este, decorrente do número de vezes em que o peixe alimentou-se nas 12 horas de luz, já que nas 12 horas escuro não se observou alimentação nesta espécie.

No aquário 24 horas escuro não se observou nenhum tipo de alimentação para *T. newnesi* nas observações realizadas.

5. DISCUSSÃO

A estrutura dos olhos, e mais especificamente da retina, foi descrita através de técnicas que vão desde Microscopia Óptica até Microscopia Eletrônica de Transmissão, Criofratura e Varredura.

Para a Microscopia Óptica, os métodos de preparação da retina para inclusão normalmente usados, são realizados após a enucleação do olho, usando-se apenas pedaços ou fragmentos retangulares recortados da retina já fixada, para inclusão em parafina (ENGSTRÖM, 1963; PHAN, 1986), o que permite a obtenção de secções de 4 à 7 micrômetros de espessura. Já a inclusão em resina (LEVINSON & BURNSIDE, 1981), permite a obtenção de cortes mais finos, de 2,5 micrômetros de espessura. ENGSTRÖM (1963) reafirma a necessidade de secções tangenciais à retina, já enfatizada por FRIIS (1879), para a obtenção de cortes transversais, ou levemente oblíquos às células fotossensoriais da retina. Esta direção de corte facilita a identificação dos tipos de cones e a sua estrutura, assim como a sua distribuição dentro da retina. Isto é especialmente importante no caso dos cones duplos, havendo ainda cones triplos e quádruplos (LYALL, 1956), que o autor considera ainda mais difíceis de identificar nas secções transversais à retina, que fornecem cortes longitudinais às células fotossensoriais.

Já para LEVINSON e BURNSIDE (1981), os cortes longitudinais às células fotossensoriais e às células do epitélio pigmentar da retina, são ideais para o acompanhamento dos movimentos retinomotores dos cones e da migração dos pigmentos de melanina, em condições de fraca e intensa luminosidade. Neste caso, os autores citam a dificuldade de obtenção de cortes realmente longitudinais à estas células, devido ao seu método de inclusão, o que motiva o uso de um método matemático para correção das medidas obtidas em cortes em ângulo.

Entretanto, no presente trabalho, todos esses problemas foram facilmente solucionados, com o método de inclusão direcionada dos olhos inteiros aqui desenvolvido (Material e Métodos, 3.6.3), pois com este método temos a certeza de serem obtidos cortes totalmente transversais ao mosaico de cones, cortes levemente oblíquos e totalmente oblíquos aos mesmos e também, cortes seguramente longitudinais às células fotorreceptoras da retina. O meio de inclusão utilizado, "Paraplast Plus^(R)", permite inclusive cortes de 2 à 3 micrômetros de espessura, o que possibilitou os dois tipos de análise utilizando-se um mesmo método. Certamente é um processamento mais demorado e trabalhoso, porém os resultados mostraram ser altamente vantajosos.

Para estudos da retina, utilizando-se a Microscopia Óptica como ferramenta principal para a obtenção de resultados significativos, percebeu-se no decorrer desta pesquisa, que uma técnica cuidadosamente elaborada deve ser utilizada e, associada à esta técnica, uma cuidadosa avaliação das estruturas também se faz necessária. Mas, foi notado que alguns autores descrevem apenas superficialmente a metodologia utilizada, o que dificulta ou confunde o seu entendimento.

Quando são citadas secções da retina, muitas vezes usam-se termos como "cortes transversais" ou "tangenciais à retina" (ENGSTRÖM, 1963), sem explicar que estes cortes transversais à retina, na verdade irão produzir cortes longitudinais às células fotorreceptoras da mesma, assim como das outras células componentes da retina e que os cortes tangenciais à retina podem resultar em cortes totalmente transversais ou com vários graus de obliquidade à todas as células da retina. Portanto, se o que se quer é localizar o mosaico de cones da retina, além da exatidão do tipo de corte a ser feito, também deveria ser enfatizada a região da célula a ser cortada para a obtenção de tal resultado, que no caso são os elipsóides dos segmentos internos dos cones.

No caso dos bastonetes, sua correta identificação através deste tipo de microscopia mostra-se difícil. Supõem-se que não basta apenas indicar a região onde diz a literatura que os segmentos externos destas células são encontrados (PHAN, 1986). A fibra externa dos

bastonetes, ligada ao mióide do segmento interno, que por sua vez tem o seu elipsóide ligado ao segmento externo, devem ser localizados e documentados devidamente. Portanto, ao se trabalhar com células tão especializadas, fisiológica e morfológicamente, deveria ser tomado um maior cuidado ao se referir às suas estruturas específicas.

Para documentação fotográfica do material histológico, o uso do máximo aumento fornecido pelo microscópio óptico, geralmente 1000 x (com objetiva de imersão em óleo), mostrou-se fundamental para a avaliação das estruturas, elucidando dúvidas quanto a detalhes das células fotossensoriais, especialmente entre os tipos de cones, sendo possível até a localização de outros tipos celulares como as Células de Müller, Células Horizontais e Células Amácrinas, em colorações de rotina. No caso dos bastonetes, permitiu não só a sua localização como também a identificação de suas partes componentes. Os menores aumentos, normalmente utilizados pela maioria dos autores, geralmente fornecem apenas detalhes quanto ao arranjo da retina como um todo.

As duas espécies estudadas, da família *Nototherniidae*, pertencem ao grupo da ictiofauna Antártica que é dominada por espécies pequenas (crescendo até aproximadamente 25 cm de comprimento), sendo restritas apenas ao mar antártico (EVERSON, 1984).

Os espécimes utilizados neste estudo estavam na mesma faixa de tamanho, levando-se em conta suas variações morfológicas. Portanto, considerou-se que os seus olhos estivessem aproximadamente na mesma etapa de crescimento, sendo comparáveis.

Tanto *Notothernia (G.) gibberifrons* quanto *Trematomus newnesi* apresentam retinas complexas e com intrincadas intercomunicações celulares, o que é característico de vertebrados inferiores (DOWLING, 1968). Ambos apresentam o mesmo tipo de mosaico de cones em forma de quadrado, constituído por cones duplos simétricos, cones simples longos e cones simples curtos, além de grande quantidade de bastonetes e todas as outras células componentes de uma retina complexa. Porém, as diferenças morfológicas são muito grandes, tanto em relação ao tamanho e formato dos cones, diâmetro e comprimento dos bastonetes como quanto a espessura da retina.

Notothenia (G.) gibberifrons, considerado um peixe bentônico quando adulto, chega a viver em profundidades de até 750 metros, sendo porém facilmente encontrado em pequenas profundidades durante o verão. Apresenta cones duplos bem menores ou mais estreitos do que *Trematomus newnesi*, que os apresenta muito grandes. Segundo TAMURA, (1957), os peixes de profundidade apresentam cones duplos bem maiores do que aqueles que vivem mais próximos à superfície. Este fato não se verifica nestas duas espécies de peixes antárticos, onde se observa o oposto. Cones duplos são sensíveis à luz verde, enquanto que os cones simples são sensíveis à luz azul (JANUSCHKA *et al.*, 1986). Neste caso há coerência com o observado para as duas espécies estudadas, uma vez que a luz verde penetra quase tão profundamente quanto a luz azul na água, ou seja, até uma profundidade aproximada de 75 m, enquanto que a luz vermelha atinge apenas a profundidade de 25 m e seria absorvida por um terceiro tipo de cone, também presente em ambas as espécies.

A visão de todos os animais encontrados em nosso mundo é adaptada a seu habitat e hábito, sendo scotópica e fotópica (HOAR, 1971; BLOOM & FAWCETT, 1975; KIRSCH, WAGNER & DOUGLAS, 1988; WHITERS, 1992). Na visão scotópica, para exposição em luz fraca ou escuro, há a presença de bastonetes em sua totalidade ou em porcentagens variadas em relação aos cones. Na visão fotópica, a adaptação ocorre para os vários comprimentos de onda da radiação luminosa diurna nos cones.

Sabe-se que a distribuição de cones e bastonetes não é uniforme dentro do reino animal. Há a ocorrência de retinas apenas com cones, em alguns poucos animais diurnos e retinas apenas com bastonetes em algumas espécies estritamente noturnas (TANSLEY, 1965). Entre os peixes, ocorrências similares já foram citadas, havendo casos extremos de peixes cegos que habitam as águas de cavernas fechadas, como o peixe mexicano *Astyanax hubbsi* (TEYKE and SCHAEERER, 1993), que possuem apenas vestígios de olhos. MUNZ, (1971), verificou que certos elamobrânquios e teleósteos de águas profundas possuem retinas apenas com bastonetes. Entre outras espécies de peixes, pode haver variados

mosaicos de cones, os quais têm sido correlacionados com os seus diferentes hábitos alimentares (AHLBERT, 1969; FANTA et al., 1994).

Entre os teleósteos, há uma distinção funcional entre cones simples e cones duplos e sua proporção está relacionada com a profundidade em que vivem: menor quantidade de cones simples ocorrem, por exemplo, em salmões que vivem em profundidades enquanto que uma quantidade maior é observada nos que vivem mais próximos à superfície (LYALL, 1957); maior abundância de cones simples ocorre em espécies reconhecidamente de águas superficiais. Quantidades iguais de cones duplos e simples são reconhecidos em peixes que vivem em profundidades moderadas ou em distâncias moderadas da superfície; já em espécies capturadas entre 100 à 300 m de profundidade há somente cones duplos (TAMURA, 1957). Para LYALL (1957), os cones duplos parecem ser tipos intermediários entre cones e bastonetes, devido à sua aparente maior sensibilidade.

Tradicionalmente, a retina é dividida em dez camadas, do ponto de vista histológico (ROSS e ROMRELL, 1993). Ambas as espécies estudadas as possuem, de forma bastante evidente, sendo facilmente distinguíveis. Porém, esta divisão, que vem sendo usada há muito tempo, quando ainda não existiam os recursos ópticos e eletrônicos atuais, já deveria ter sido revista, uma vez que a retina, na verdade é formada por três camadas celulares: células fotorreceptoras, células bipolares e células ganglionares.

Hoje já se sabe, também, que as células bipolares não são as únicas a fazer conexão direta entre as células fotorreceptoras da retina e as células ganglionares. Existem, além delas, outros dois tipos de células condutoras: as células horizontais e as células amácrinas.

Deste modo, em última análise, teríamos apenas cinco camadas, que são camadas celulares, ao invés das dez camadas referentes à regiões das células citadas: 1. Camada de Células Fotossensoriais; 2. Camada de Células Condutoras Horizontais; 3. Camada de Células Condutoras Bipolares; 4. Camada de Células Condutoras Amácrinas; 5. Camada de Células Ganglionares (Figs. 14. c e 14. d).

A capacidade visual de um animal depende não só da distribuição de cones e bastonetes na retina, mas também da organização sináptica das camadas plexiformes interna e externa (HOAR, 1971). Em geral, as interconexões da retina são mais intrincadas ou complexas em animais vertebrados inferiores, como sapos ou peixes, do que em animais como primatas ou gatos. Com a maior encefalização dos vertebrados superiores, houve a transferência da atividade integrativa dos mais baixos para os mais altos centros nervosos e assim, correspondentemente, a retina de animais onde o córtex cerebral é mais desenvolvido, teve a sua organização sináptica simplificada (DOWLING, 1969).

Observou-se nas duas espécies em estudo, retinas espessas, principalmente no caso de *Notothenia (G.) gibberifrons*. Em ambas as espécies, é alto o grau de complexidade das camadas plexiformes e, inclusive, na camada plexiforme interna, pode-se perceber uma região das células de sustentação de Müller. Na camada nuclear interna, as células horizontais são facilmente identificáveis com a metodologia utilizada e existem em grande quantidade, assim como as células amácrinas e as células bipolares. Porém, as mais evidentes são as células fotossensoriais, devido às suas dimensões, morfologia e localização características, já mencionadas anteriormente (Resultados, 4.3.1.1 e 4.3.1.2).

A organização sináptica das camadas plexiformes é muito complexa. A camada plexiforme externa de ambas as espécies é bastante semelhante, com relação a alguns pontos de sinapse que podem ser visualizados. A espessura desta camada é bem menor do que a da camada plexiforme interna, em ambas as espécies. As porções dendríticas das células bipolares não são as únicas a fazerem sinapses com os terminais axônicos de cones e bastonetes nesta camada.

Nos cones, após a região citoplasmática que contém o núcleo, há um estreitamento que constitui a fibra interna do cone, o seu axônio, e que, imediatamente após, alarga-se, formando o pedículo sináptico, visível na documentação fotográfica apresentada (Figs. 14.c e 14.d). Este pedículo tem forma alargada, em ambas as espécies, e seguramente é um local

de conexão sináptica com centenas de terminais nervosos de células bipolares, horizontais e também com alguns terminais nervosos de células amácrinas.

Os bastonetes, por sua vez, na porção final da sua fibra interna ou axônio, provavelmente também sofrem um alargamento, porém muito mais reduzido e estabelecendo um número menor de sinapses. Porém, em ambas as espécies a sua visualização não é possível. Apenas identifica-se o local de sinapses. ROSS e ROMRELL (1993), descrevem este terminal axônico dos bastonetes como tendo forma esférica e daí dando-lhe o nome de esférula sináptica, mas, o material usado como exemplo é de mamífero.

Os núcleos das células horizontais, localizam-se em uma mesma linha ao longo da porção externa da camada nuclear interna. Em *Notothenia (G.) gibberifrons*, apresentam-se bem mais visíveis, ovalados e fortemente basofílicos, quando usada a coloração Hematoxilina - Eosina. Em *Trematomus newnesi*, os seus núcleos são menores, mais achatados e menos corados. Sabe-se que estas células contém muitos e longos prolongamentos, que fazem sinapse apenas na camada plexiforme externa, com os pedículos dos cones, as esférulas dos bastonetes e com as células bipolares, ampliando e auxiliando no fluxo de sinais nervosos no sentido horizontal da retina, o que colabora para uma melhor transmissão de informações entre os cones, os bastonetes e as células bipolares.

Estas células, por sua vez, estabelecem sinapses através de suas porções axônicas com os dendritos das células ganglionares, na camada plexiforme interna, e é possível ser identificada a sua região nuclear em ambas as espécies, na região mediana da camada nuclear interna, abaixo dos núcleos das células horizontais. São as células condutoras com os menores núcleos e os mais fortemente basofílicos. Em *Notothenia (G.) gibberifrons*, a camada nuclear das células bipolares é bem mais larga dentro da camada nuclear interna do que em *Trematomus newnesi*. E além da maior quantidade, seus núcleos também são maiores e mais evidentes.

Na mesma camada nuclear interna, encontramos os núcleos das células amácrinas, dispostos ao longo do seu trajeto horizontal interno. Estas células têm função semelhante às

células horizontais, porém, são muito ramificadas, com prolongamentos que fazem sinapses com as extremidades axônicas das células bipolares e com os dendritos das células ganglionares. No caso de *Notothenia (G.) gibberifrons*, os núcleos estão próximos aos das células bipolares, tendo aproximadamente a mesma forma e aumentando gradativamente de tamanho em direção ao interior do olho, preenchendo quase todos os espaços, e estabelecendo um limite muito claro com a camada plexiforme interna.

Esta camada, nuclear interna, é muito mais larga em *Notothenia (G.) gibberifrons* do que em *Trematomus newnesi* e nesta espécie, os núcleos das células amácrinas são bem maiores, em menor número numa camada muito fina e localizados em grandes espaços, o que estabelece um limite irregular com a camada plexiforme interna. Os seus prolongamentos são por vezes bem visíveis, saindo de grandes corpos celulares, que contém os núcleos, grandes e claros.

Cones volumosos foram considerados como um dos recursos para aumentar a visão scotópica, ou seja, com pouca luz (WALLS, 1942; BLOOM & FAWCETT, 1975; ALI *et al.*, 1977). *N. (G.) gibberifrons* vive entre profundidades de 5 à 750 metros e apresenta cones menores ou mais estreitos, porém mais longos do que os de *T. newnesi* que habita profundidades entre 0 e 160 metros e apresenta realmente cones volumosos, porém em menor quantidade em uma mesma área. Os peixes teleósteos, entre outros vertebrados (primatas, aves, lagartos, tartarugas e sapos), já tiveram demonstrada com certeza a sua capacidade para a distinção de cores (HOAR, 1971).

LIALL, (1957), afirma que os peixes de superfície apresentam bastonetes longos e grandes, menos sensíveis à pouca luz, do que os bem finos, típicos de peixes de profundidade. Verificou-se que *N. (G.) gibberifrons* possui os segmentos externos dos bastonetes muito longos e finos sendo peixes de profundidade, devendo ter um número muito maior de discos fotossensíveis do que *T. newnesi*, que apresenta bastonetes mais grossos e curtos e, portanto, com menor número de discos fotossensíveis.

É possível que haja bastonetes acumulados em certas regiões para melhorar a acuidade visual, dependendo do hábito do animal . Isto ocorre em *N. (G.) gibberifrons* nas regiões laterais da retina, o que lhe garante maior eficiência ao perscrutar o ambiente em áreas localizadas lateral e posteriormente ao seu corpo.

Verifica-se, portanto, uma grande coerência não só com relação à posição relativa dos olhos, como também entre a complexidade estrutural da retina, a capacidade de discernimento visual e a rapidez de reação das duas espécies: a mais rápida, *T. newnesi* tem visão binocular, que parece ser um dos fatores determinantes para desencadeamento de estímulo visual, assim como uma quantidade relativamente pequena de cones por área, sendo êstes, porém, comparativamente muito grandes; já *N. (G.) gibberifrons* que é lenta em suas reações e muitas vezes se alimenta no fundo, tem boa visão espacial, mas monocular. Possui muitos cones por área, mas êstes são finos e longos, o que parece não proporcionar muita eficiência na detecção de presas, levando algumas vezes a enganos ou insucessos (FANTA et al., 1994).

Além disto, na Antártica, devido à variação sazonal no regime de iluminação a que o continente está sujeito, os peixes têm que se adaptar. Assim, encontramos em períodos de iluminação constante , durante o verão, uma adaptação de retina nas duas espécies, que leva à proteção dos segmentos externos dos bastonetes com pigmentos de melanina, dispersos à partir das células do epitélio pigmentar da retina.

Em situação oposta, em períodos de escuro constante, durante o inverno, estes mesmos pigmentos de melanina agregam-se nas porções supranucleares das células do epitélio pigmentar da retina, favorecendo a exposição dos segmentos externos dos bastonetes.

Nos períodos intermediários, situações intermediárias de dispersão e agregação são observadas. Em nenhum caso foi observada migração de cones, relatada para inúmeras espécies de peixes, e que teriam a mesma finalidade ou seja, maior ou menor proteção aos

elementos fotossensíveis pelos pigmentos de melanina do epitélio pigmentar (LEVINSTONE & BURNSIDE, 1981; KUNZ, 1980; KIRSCH *et al.*, 1968).

Foi possível verificar, portanto, que inúmeras variáveis, desde específicas até ambientais, determinam a estrutura e a capacidade funcional da retina dos peixes, sendo temerário estabelecer generalizações. Por outro lado, estas estruturas por sua vez permitem ou explicam determinados padrões comportamentais observados nos peixes.

6. Conclusões

1. *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* tem olhos proeminentes, com movimentos independentes, o que lhe permite visão geral do ambiente, ao contrário de *Trematomus newnesi*, que tem olhos laterais, de movimentos paralelos, tendo portanto boa visão binocular próxima e à distância, em região anterior e superior, o que explica a região preferencial de alimentação das duas espécies.

2. A retina de ambas as espécies têm 5 tipos celulares que se organizam em dez camadas histologicamente, sendo em *Notothenia (Gobionotothen) gibberifrons* bem mais espessa do que em *Trematomus newnesi*, o que é inversamente proporcional à rapidez de discernimento visual.

3. O mosaico de cones é formado por cones duplos, cones simples curtos e simples longos dispostos em forma de quadrado, nas duas espécies. *N. (G.) gibberifrons* tem cones mais finos e longos e em maior quantidade por área, sendo mais lento em suas reações visuais, enquanto que *T. newnesi* tem cones extremamente espessos e em menor quantidade por área, apresentando reações rápidas.

4. Durante o verão, a luz presente durante as 24 horas do dia, determina uma migração dos pigmentos para maior proteção dos bastonetes nas duas espécies. Durante o inverno, em escuro constante, os pigmentos sofrem retração, o que leva a uma maior exposição dos bastonetes. Em nenhum caso foi verificada migração de cones nas duas espécies.

5. As características morfológicas que permitem a detecção rápida de alimento à frente, em meia água ou superfície, e um discernimento visual que permite 100% de sucesso e reações visuais rápidas são: olhos laterais e uma visão binocular anterior; presença de cones grandes, mesmo que em pequeno número e bastonetes curtos. Isto foi comprovado em *Trematomus newnesi*.

6. Grande campo visual mas sem visão binocular, muitos cones e bastonetes finos e longos por área e concentração de bastonetes na região lateral da retina explicam a capacidade de distinguir objetos junto ao fundo em ampla área, mas sem nitidez suficiente para levar a reações visuais rápidas, o que leva o animal a detectar suas presas sem sucesso garantido e com lentidão, como é o caso em *Notothenia (G.) gibberifrons*.

Referências Bibliográficas

- AHLBERT, I. - B. - **Organization of the Cone Cells in the Retinae of Salmon (*Salmo salar*) and Trout (*Salmo trutta trutta*) in Relation to their Feeding Habits.** Acta Zool. Stockholm, 57: 13-35, 1976.
- ALI, M. A.; RYDER, R. A. & ANCTIL, M. - **Photoreceptors and Visual Pigments as Related to behavioral Responses and Preferred Habitats of Perches (*Perca spp.*) and Pikeperches (*Stizostedion spp.*).** J. Fish. Res. Board Can., 34: 1475-1480, 1977.
- BEÇAK, W. Y. & VANRELL, J. P. - **Técnicas de Citologia e Histologia.** São Paulo: Nobel, 1970.
- BLOOM, W. & FAWCETT, D. W. - **A Text Book of Hystology.** 10th ed. Philadelphia: Saunders Company, 1975.
- BRETT, J. R. - **The Sense Organs: The Eye.** In: BROWN, M. E. (Ed.) **The Physiology of Fishes**, vol. II, Behavior: 121 - 154. New York, Academic Press, 1957.
- BRETT, J. R. & ALI, M. A. - **Some Observations on the Structure and Photomechanical Responses of the Pacific Salmon Retina.** J. Fisheries Res. Board Can. 15: 815 - 829, 1958.
- BÜCHERL, W. - **Técnicas Microscópicas.** São Paulo: Polígono, 1962.

- CLARK, G (ed) - **Staining Procedures**. 4. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1981.
- CULLING, C. F. A.; ALLISON, R. T. & BARR, W. T. - **Cellular Pathology Technique**. London: Butterworth & Co., 1985.
- DOWLING, J. E. & WERBLIN, F. S. - **Organization of Retina of the Mudpuppy, *Necturus maculosus*. I. Synaptic Structure**. J. Neurophysiol. 32: 315 - 338, 1969.
- ENGSTRÖM, K. - **Cone Types and Cone arrangement in the Retina of Some Cyprinids**. Acta Zool. 41 : 277 - 295, 1960.
- ENGSTRÖM, K. - **Cone Types and Cone Mosaic in the Retina of Some Gadids**. Acta Zool. 42 : 227 - 243, 1961.
- ENGSTRÖM, K. - **A New Component of the Visual Cells in Fishes**. Köpenhamn: Reports from the Third Scandinavian Conference on Cell Research, 1962.
- ENGSTRÖM, K. - **Structure, Organization and Ultrastructure of the Visual Cells in the Teleost Family Labridae**. Acta Zool. 44 : 1 - 41, 1963 a.
- ENGSTRÖM, K. - **Cone Types and cone Arrangements in Teleost Retinae**. Acta Zool, 44: 179-243, 1963 b.
- ENGSTRÖM, K., & AHLBERT, J- B. - **Cone Types and Cone Arrangement in the Retina of Some Flatfishes**. - Acta Zool. 44 : 119 - 129, 1963.

ENGSTRÖM, K., & ROSSTORP, E. - **Photomechanical Responses in Different Cone Types of *Leuciscus rutilus***. Acta Zool. 44 : 145 - 160, 1963.

ENGSTRÖM, K. - **Cone Types and Cones Arrangement in Teleost Retinae**. Acta Zool. 44 : 179 - 243, 1963.

EVERSON, I. - **Fish Biology**. In: LAWS, R. M., (Ed.) **Antarctic Ecology**, vol. II, Academic Press; London, 491 - 532, 1984.

FANTA, E.; LUCCHIARI, P. H. & BACILA, M. - **Circadian Rhythm of Oxygen Consumption and Oxygen levels in the muscle of *Notothenia neglecta* (Pisces, Teleostei)**. Comp. Biochem. Physiol., 96 (C): 151 - 155, 1990.

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* (Lönnberg, 1905) (Pisces, Nototheniidae) under Different Light Conditions**. Antarctic Record, vol. 38, No. 1, 13 - 29, 1994.

FISCHER, W. (Ed.) - **FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes: Southern Ocean**. v. 2: Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations, 1985.

GRUBER, S. H.; HAMASAKI, D. H. & BRIDGES, C. D. B. - **Cones in the Retina of the Lemon Shark (*Negaprion brevirostris*)**. Vision Res. 3: 397 - 399.

- HAMASAKI, D. I. & GRUBER, S. H. - **The Photoreceptors of the Nurse Shark, *Ginglymostoma cirratum*, and the Sting-Ray, *Dasyatis sayi*.** Bull. Marine Sci. Gulf Caribbean 15: 1051 - 1059, 1965.
- HOAR, W. S. & RANDALL, D. J. (Ed.) - **Fish Physiology.** Vol. V: New York: Academic Press, 1971.
- INGLE, D. - **Vision: The experimental Analysis of Visual Behavior.** In: HOAR, W. S. & RANDALL, D. J. (Ed.) **Fish Physiology**, vol V: 59 - 78. New York, Acad. Press, 1971.
- JACOBSON, M. & GAZE, R. M. - **Types of Visual Responses from Single Units in the Optic Tectum and Optic Nerve of the Goldfish.** Quart. J. Expt. Physiol. 49: 199-209, 1964.
- JANUSCHKA, M. M.; BURHARDT, D. A.; ERLANDSEN, S. L. & PURPLE, R. L. - **The Ultrastructure of Cones in the Walleye Retina.** Vision Res., 27 (3): 327 - 341, 1987.
- KIRSCH, M.; WAGNER, H. - J. & DOUGLAS, R. H. - **Rods Trigger Light Adaptive Retinomotor movements in all Spectral Cone Types of a Teleostean Fish.** Vision Res., 29 (4): 382 - 396, 1989.
- KUNZ, Y. W. - **Cone Mosaics in a Teleost Retina: Changes During Light and Dark Adaptation.** Experientia 36 (12): 1371 - 1374, 1980.

- LEVINSTONE, G. & BURNSIDE, B. - **Circadian Rhythms in Teleost Retinomotor Movements.** Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 3: 294 - 303, 1981.
- LYALL, A. H. - **Ocurrence of Triple and Quadruple Cones in the Retina of the Minnow (*Phoxinus laevis*).** London: Nature 177: 1086 - 1087, 1956.
- LYALL, A. H. - **Cone Arrangements in Teleost Retinae.** Quart. J. Micr. Sci., 98 (2): 189 - 201, 1957.
- MUNZ, F. W. - **Vision: Visual Pigments.** In: HOAR, W. S. & RANDALL, D. J. (Ed.) **Fish Physiology.** vol. V. 1 - 32. New York: Academic Press, 1971.
- NICOL, J. A. C. - **Some Aspects of Photoreception and Vision in Fishes.** Advan. Marine Biol. 1: 171 - 208, 1963.
- O'CONNEL, C. P. - **The Structure of the Eye of *Sardinops caerulea*, *Engraulis mordax*, and Four Other Pelagic Marine Teleosts.** J. Morphol. 113: 287 - 329, 1963.
- PRINCE, J. H. - **Comparative Anatomy of the Eye.** Springfield: Thomas, 1956.
- ROCHON-DUVIGNEAUD, A. - **Les Yeux et la Vision des Vertébrés.** Paris: Masson, 1943.
- ROCHON-DUVIGNEAUD, A. - **L'oeil et la Vision.** In: GRASSÉ, P. - P. (Ed.) **Traité De Zoologie**, vol. 13: 1099 - 1142. Paris: Masson, 1958.

SCHELLART, N. A. M. - **Interrelations Between the Auditory, the Visual and the Lateral Line Systems of Teleosts; a Mini - Review of Modelling Sensory Capabilities.** Netherlands Journ. Zool. 42 (2-3): 459 - 477, 1992.

STORER, T. I.; USINGER, R. L.; STEBBINGS, R. C. & NYBAKKEN, J. W. - **Zoologia Geral.** 6. ed. São Paulo: Editora Nacional, 1984.

TAMURA, T. - **A Study of Visual Perception in Fish Especially on Resolving Power and Accomodation.** Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 22 (9): 536 - 557, 1957.

TAMURA, T. & NIWA, H. - **Spectral Sensitivity and Color Vision of Fish as Indicated by S - Potential.** Comp. Biochem. Physiol. 22: 745 - 754, 1967.

TOMITA, T. - **Vision: Electrophysiology of the Retina.** In: HOAR, W. S. & RANDALL, D. J. (Eds.) - **Fish Physiology.** Vol. V: New York: Academic Press, 1971.

WALLS, G. L. - **The Vertebrate Eye and its Adaptative Radiation.** Michigan: Cranbrook Institute of Science Bull., 1942.

WELSH, J. H. & OSBORN, C. M. - **Diurnal Changes in the Retina of the Catfish, *Ameiurus nebulosus*.** J. Comp. Neurol. 66: 349 - 359, 1937.

WHITERS, P. C. - **Comparative Animal Physiology.** Florida: Saunders College Publishing, 1992.