

## Ultra-Estrutura de Células Fotorreceptoras de Peixes Antárticos do Estreito de Bransfield

(peixes antárticos | retina | ultra-estrutura)

MIKICO TOKUMARU PHAN

Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

(Trabalho realizado com apoio financeiro da Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (SECIRM)/PROANTAR/USP)

### INTRODUÇÃO

Estudos anteriores da retina de peixes antárticos revelaram que *Notothenia larseni* e *N. nudifrons* apresentam retina composta de cones e bastonetes, enquanto *Electrona antarctica* (peixe lanterna) e *Chionodraco rastrospinosus* (peixe gelo), pós-larva, apresentam retina somente de bastonetes (Phan, 1985). Outras espécies de peixes antárticos, incluindo as espécies por nós estudadas, possuem olhos grandes. Estas características implicam uma adaptação ao ambiente. Entretanto, são poucas as publicações sobre a visão de peixes antárticos (Eastman, 1981; Eastman & DeVries, 1985; Meyer-Rochow & Klyne, 1982; Phan, 1985). Também são raras as informações sobre a histologia da retina de peixes luminescentes (Meyer-Rochow *et al.*, 1982; Phan, 1985). Neste artigo apresentamos os resultados do estudo ultra-estrutural das células fotorreceptoras das espécies citadas, e discutimos as relações estruturais das células fotorreceptoras e do sistema visual.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes utilizados foram *Notothenia larseni* Lönnberg, 1905, *N. nudifrons* Lönnberg, 1905, *Chionodraco rastrospinosus* Bureau & DeWitt, 1979, pós-larva, e *Electrona antarctica* Günther, 1878. Detalhes sobre os peixes e a amostragem da retina foram publicados anteriormente (Phan, 1985).

As amostras de retina, fixadas em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato 0,12M,

pH 7,2, pós-fixadas em tetróxido de ósmio e acetato de chumbo, foram incluídas em araldite. Os cortes ultrafinos foram corados com acetato de uranila e citrato de chumbo, e as eletrón-micrografias foram obtidas ao microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM-9.

### RESULTADOS

As células fotorreceptoras de *N. larseni* e de *N. nudifrons* apresentam o mesmo aspecto ultra-estrutural. Cones simples e cones pareados não mostram diferenças evidentes. Os dois cones pareados estão em estreita aposição pelas superfícies de contacto, ao longo dos segmentos internos (Fig. 1). Devido à semelhança com o cone simples, foram considerados como unidade estrutural.

No segmento interno a maioria das mitocôndrias aparece concentrada no elipsóide (Fig. 1). As mitocôndrias apresentam ultra-estrutura e distribuição incomuns, conferindo ao elipsóide a "forma de barril", descrita por Ishikawa & Yamada (1969). Na periferia do elipsóide podem ser vistos vesículas do retículo endoplasmático, polirribossomos e microtúbulos. No mióide predominam as cisternas do retículo endoplasmático. A membrana plasmática do mióide, exceto nas superfícies de contacto, forma prolongamentos que se interdigitam com estruturas semelhantes de cones vizinhos, e pelos seus interstícios passam microvilos das células de Müller e mióides de bastonetes (Fig. 2). Junto às membranas plasmáticas das superfícies de contacto, notam-se



Fig. 1 – Eletron-micrografia de cones de *N. nudifrons* mostrando segmentos externos (E), elipsóides (e), mióides (m), fibras externas (f) e superfícies de contacto de cones pareados (seta), 3030x.

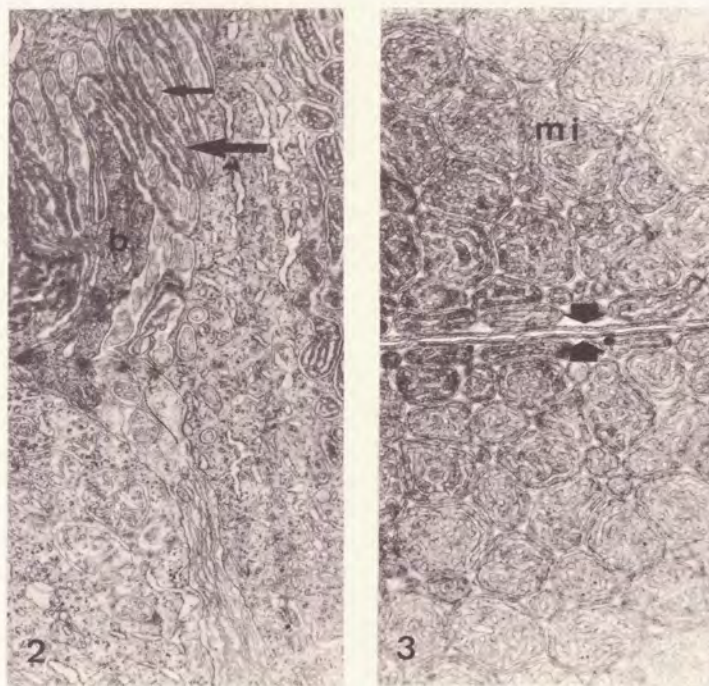


Fig. 2 – Apresenta os prolongamentos (seta maior) das membranas plasmáticas de mióides de cones; entre os mesmos aparecem microvilos (seta menor) das células de Müller e mióide de bastonete (b), 7830x. Fig. 3 – Superfície de contacto de cones pareados evidenciando as estruturas membranosas (setas), junto às membranas plasmáticas e mitocôndrias (mi), 14430x.

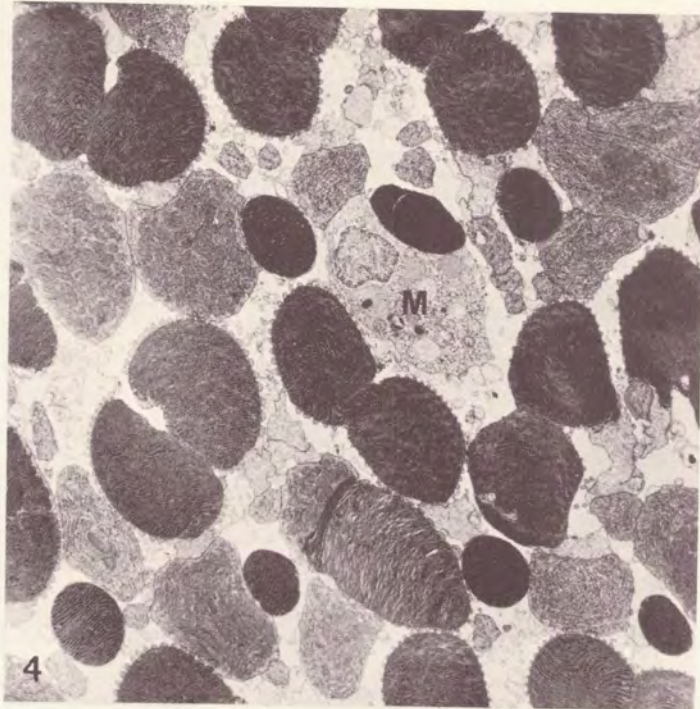


Fig. 4 – Eletron-micrografia da retina de *N. nudifrons* apresentando macrófago (M) entre as células fotorreceptoras, 3110x.

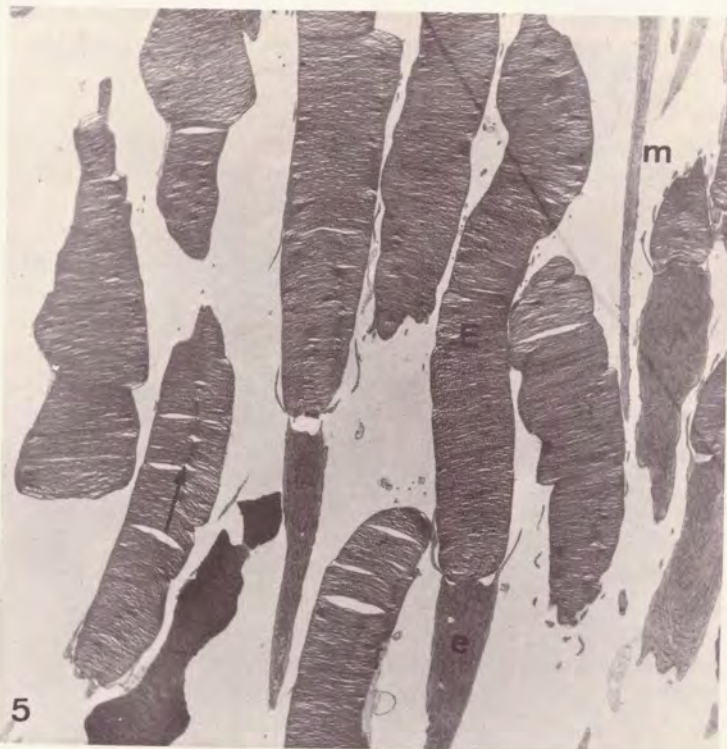


Fig. 5 – Eletron-micrografia de bastonetes de *N. larseni* mostrando segmentos externos (E), elip-sóides (e), mióides (m). Nos segmentos externos aparecem as incisuras (seta), 2930x.



Fig. 6 - Eletron-micrografia de bastonetes de *C. rastrispinosus* com segmentos externos (E), elipsóides (e), mióides (m), fibras externas (f), núcleos (n) e dilatações sinápticas (s), 3030x.

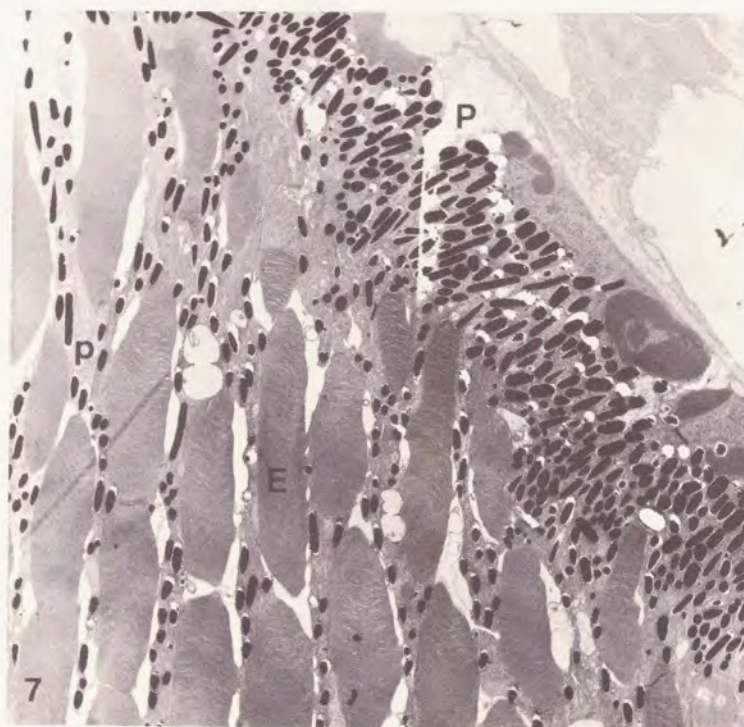


Fig. 7 - Mostra segmentos externos (E) de bastonetes de *C. rastrispinosus*, interdigitados com prolongamentos (p) das células do epitélio pigmentar (P), com grânulos de pigmento, 3030x.

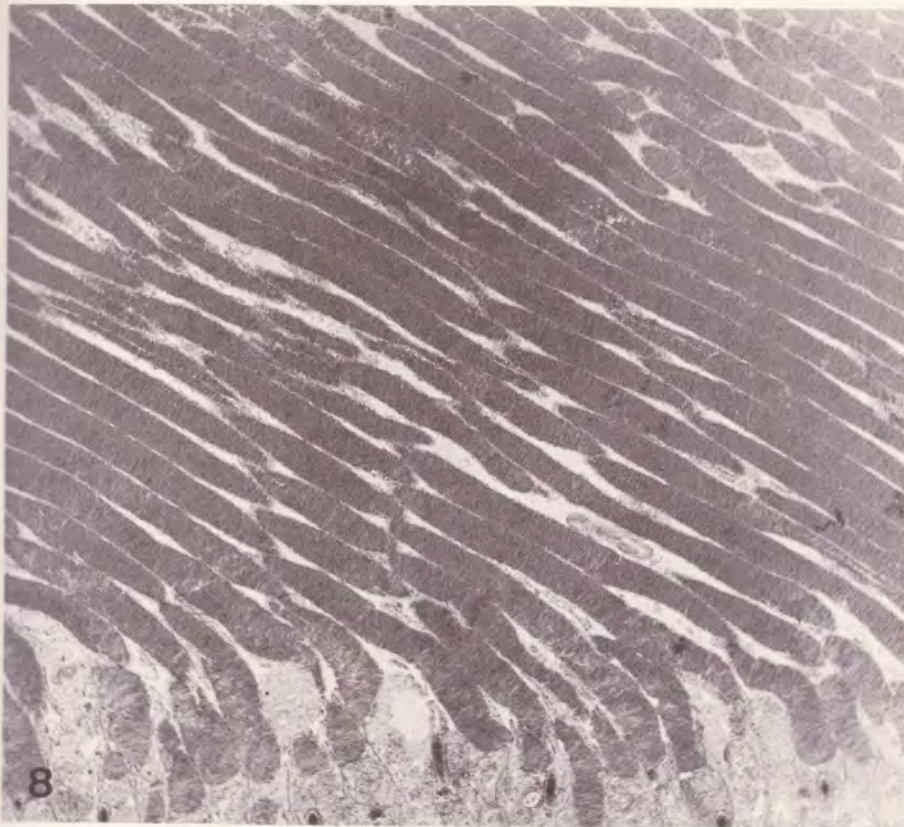


Fig. 8 - Eletron-micrografia de bastonetes de *E. antarctica* com segmentos externos (E) delgados, em grande densidade, 3760x.

estruturas membranas, aparentemente delimitando estreitos espaços luminiais descontínuos (Fig. 3).

Os bastonetes de *N. larseni* e de *N. nudifrons* apresentam aspectos ultra-estruturais semelhantes aos de *Pagothenia borchgrevinki*, descritos por Meyer-Rochow & Klyne (1982), mas com algumas particularidades. Na interface dos bastonetes e do epitélio pigmentar estão presentes macrófagos (Fig. 4) e microvilos das células do epitélio pigmentar, com grânulos de pigmento. Os segmentos externos apresentam variações bruscas de diâmetro e estrutura similares a incisuras, descritas por Yoshida (1978). Os mióides são longos e finos e os elipsóides, tipicamente repletos de mitocôndrias, são afunilados (Fig. 5).

Os bastonetes de *C. rastrispinosus* exibem segmentos externos e segmentos internos de diâmetros aproximados (Fig. 6) Os segmentos externos ocupam todo o espaço sub-retinal, e entre os mesmos estão prolongamentos das células do epitélio pigmentar, com

grânulos de pigmento (Fig. 7). Nos segmentos internos predominam as mitocôndrias volumosas e atípicas, semelhantes às descritas por Ishikawa & Yamada (1969), enquanto cisternas elaboradas do retículo endoplásmico caracterizam o mióide (Fig. 6). Os núcleos mostram heterocromatina irregularmente distribuída. As fibras externas, mais longas e grossas do que as fibras internas, são semelhantes aos mióides. Os bastonetes terminam em dilatações sinápticas, com numerosas sinapses (Fig. 6).

Os bastonetes da retina de *E. antarctica* são mais delgados e numerosos do que os de *C. rastrispinosus*. No espaço sub-retinal, não aparecem nem microvilos das células do epitélio pigmentar nem grânulos de pigmento (Fig. 8). Os segmentos externos, que tomam todo o espaço sub-retinal, apresentam discos membranosos dilatados, e prováveis incisuras (Fig. 9). Os segmentos internos contêm mitocôndrias grandes, claras, com poucas cristas. Algumas mitocôndrias parecem dobradas so-

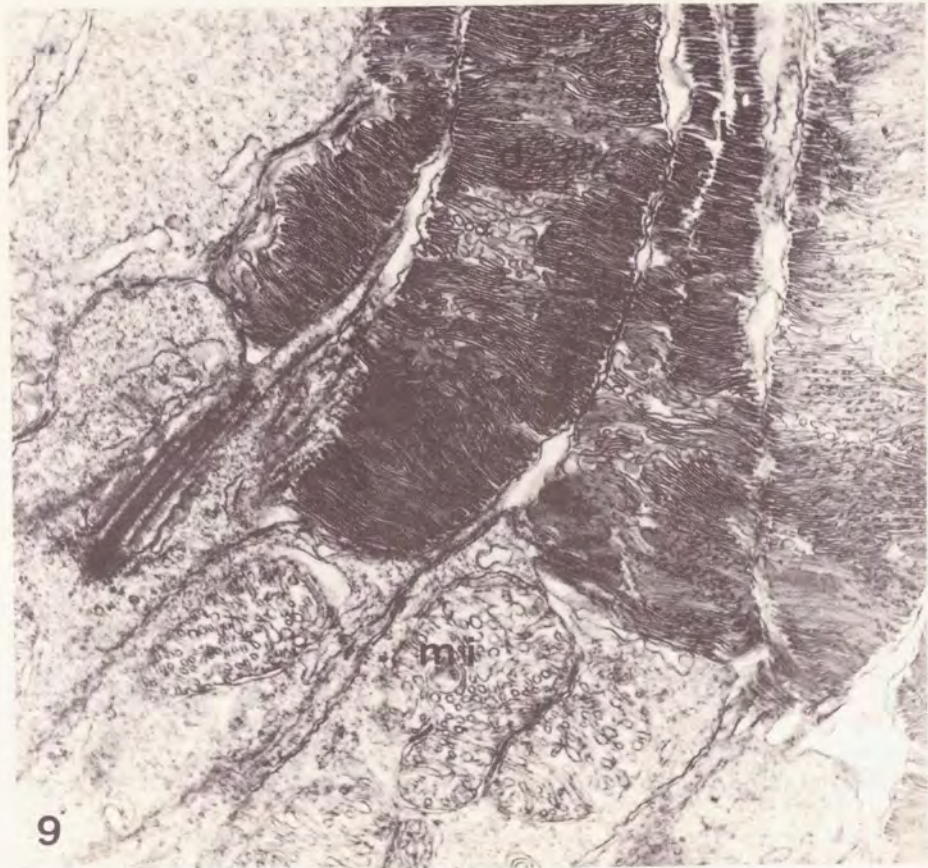


Fig. 9 – Detalhes de bastonetes de *E. antarctica*. Observar os discos membranosos (d), incisuras (i), mitocôndrias (mi) e cílio de conexão (c), 18920x.

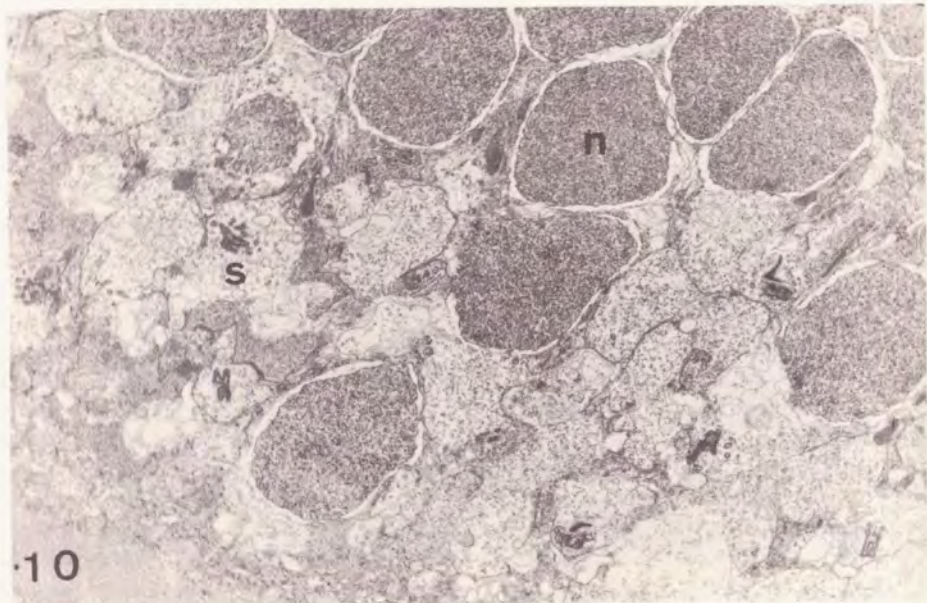


Fig. 10 – Mostra os núcleos (n) e dilatações sinápticas (s) de bastonetes de *E. antarctica*, 3760x.

... si mesmas, outras mostram aparente fusão de suas membranas externas, entre as extremidades dobradas, ou com as de mitocôndrias vizinhas (Fig. 9). Mióides típicos não foram observados, mas os cílios de conexão são muito mais proeminentes do que nas outras espécies (Figs. 8 e 9). Os núcleos, com cromatina uniformemente dispersa, formam uma compacta camada nuclear externa. As fibras externas e internas são pouco evidentes e as lâminas terminais mostram poucas sinapses (Fig. 10).

#### DISCUSSÃO

*N. larseni* e *N. nudifrons* exibem retina composta de cones e bastonetes, dispostos em mosaico quadrado (Phan, 1985). O arranjo cristalino de cones em teleósteos é uma provável seleção adaptativa para aumentar a acuidade visual (Fernald, 1985). Por outro lado, o aspecto de unidade estrutural observado nos cones pareados de *N. larseni* e *N. nudifrons* sugere um acoplamento funcional dos mesmos, conforme Loew & Lythgoe (1978) já haviam sugerido. Embora não seja clara a presença de sinapses nos segmentos internos de cones pareados, as estruturas membranosas observadas, junto às membranas plasmáticas das superfícies de contacto, podem representar uma especialização local. A grande concentração de mitocôndrias e o aspecto atípico das mesmas, nos elipsóides, podem ser relacionados com as exigências metabólicas da retina (Bartley *et al.*, 1968).

Os cones contraídos, com a formação de pregas das membranas plasmáticas (Burnside, 1978; Burnside *et al.*, 1982), e os bastonetes alongados, com mióides longos e finos (O'Connor & Burnside, 1981), indicam movimento foto-mecânico dos mesmos.

As nossas observações indicam que *N. larseni* e *N. nudifrons* possuem visão fótica, com capacidade de discriminar objetos tanto escuros quanto claros contra a claridade (Levine & MacNichol, 1982) e visão escotópica. Também são capazes de adaptação temporal a variações de luz ambiente, com resposta retino-motora, com participação do epitélio pigmentar.

O exame ultra-estrutural de bastonetes evidenciou diferenças entre as espécies. As particularidades observadas nos segmentos externos podem estar relacionadas com a for-

mação de discos membranosos, à semelhança com o que foi descrito em anfíbios (Besharse *et al.*, 1977; Moody & Robertson, 1960; Yoshida, 1978). Os diversos aspectos das mitocôndrias e dos núcleos refletem as necessidades energéticas das células (De Robertis & De Robertis, 1985; Junqueira & Carneiro, 1983) e as atividades das mesmas (De Robertis & De Robertis, 1985). Essas observações foram interpretadas como diferenças no ritmo de renovação de discos membranosos nos segmentos externos, e diferentes níveis de atividade nos bastonetes das espécies estudadas.

Segundo Yefremenko (1979), as larvas e pós-larvas das espécies da família Chaenichthyidae são pelágicas. Bastonetes grandes, em pequena densidade, são menos adaptados para atividades noturnas ou em águas turvidas (Ali *et al.*, 1977). Os grânulos de pigmento, presentes nos prolongamentos das células epiteliais, sugerem migração oclusiva dos mesmos em ambiente claro. Assim, a retina apresentada por *C. rastrospinosus* jovem sugere, não só vida pelágica para os mesmos, mas também atividades ou hábitos diurnos, de preferência. No entanto, não sabemos se os bastonetes respondem com movimentos foto-mecânicos. Acredita-se que os adultos desta família são habitantes de fundo (DeWitt & Hureau, 1979). Nós capturamos exemplares adultos de *Chaenocephalus aceratus* no fundo de águas costeiras da Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Arquipélago Shetland do Sul, e verificamos que a retina dos mesmos é composta de cones e bastonetes (observação não publicada). Não está claro se a diferença verificada é inter-específica ou se é devida a diferentes etapas da vida dos animais.

*E. antarctica* é conhecida como espécie noturna (Marshall, 1965; Munz, 1971). Sua retina, composta de bastonetes delgados, em grande densidade, representa visão escotópica. A falta de pigmentos no epitélio retinal parece ser compensada pela presença de uma coróide intensamente pigmentada. As células observadas na membrana de Brück são, provavelmente macrófagos migrando da camada corio-capilar para o espaço sub-retinal.

Nossos resultados mostram que as diferenças estruturais apresentadas pela retina refletem diferenças nas condições de luz do ambiente de preferência, e no comportamento das espécies estudadas. Entretanto, mais estudos

são necessários para compreender a importância do sistema visual de peixes antárticos na ecologia do oceano antártico.

#### SUMMARY

Retina of *Notothenia larseni*, *Notothenia nudifrons*, *Electrona antarctica* and post-larva of *Chionodraco rastrospinosus* were examined under an electron microscope to establish the correlation between habitat and retinal organization.

Retina of *N. larseni* and *N. nudifrons* contained rods plus paired and single cones while those of *C. rastrospinosus* and *E. antarctica* presented rods only. Paired cones are ultrastructurally similar to single cones suggesting a functional coupling between their members. The ellipsoids are large and closely packed with atypical mitochondria. The myoids have the characteristic ultrastructure of contracted ones. Rods are present in retina of all examined fish. Their interspecific differences in ultrastructure are correlated with cell activity and the rhythm of the turnover of membranous disks.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, M.A., RYDER, R.A. & ANCTIL, M., (1977), 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.
- BARTLEY, W., BIRT, L.M. & BANKS, P., (1968), *The biochemistry of the tissues*. John Wiley & Sons Ltd., London.
- BESHARSE, J.C., HOLLYFIELD, J.G. & RAYBORN, M.E., (1977), Turnover of rod photoreceptor outer segments. II. Membrane addition and loss in relation to light. *J. Cell Biol.*, **75**: 507-527.
- BURNSIDE, B., (1978), Thin (actin) and thick (myosinlike) filaments in cone contraction in the teleost retina. *J. Cell Biol.*, **78**: 227-246.
- BURNSIDE, B., SMITH, B., NAGATA, M. & PORRELLO, K., (1982), Reaction of contraction in detergent-lysed teleost retinal cones. *J. Cell Biol.*, **92**: 199-206.
- DE ROBERTIS, E.D.P. & DE ROBERTIS, E.M.F., (1985), *Bases da Biologia Celular e Molecular*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- DEWITT, H.H. & HUREAU, J.C., (1979), Fishes collected during "Hero" cruise 72-2 in the Palmer Archipelag, Antarctica, with the description of two new genera and three new species. *Bull. Mus. natn. Hist. nat.*, Paris, 4<sup>e</sup> sér., **1** (3): 775-820.
- EASTMAN, J.T., (1981), Morphological specializations in antarctic fishes. *Antarctic J.U.S. Review*, **16** (5): 146-147.
- EASTMAN, J.T. & DEVRIES, A.L., (1985), Adaptation for cryopelagic life in the Antarctic notothenioid fish *Pagothenia borchgrevinki*. *Polar Biol.*, **4**: 45-52.
- FERNALD, R.D., (1985), Growth of the teleost eye: novel solutions to complex constraints. *Env. Biol. Fish.*, **13** (2): 113-123.
- ISHIKAWA, T. & YAMADA, E., (1969), Atypical mitochondria in the ellipsoid of the photoreceptor cells of vertebrate retinas. *Invest. Ophthalm.*, **8** (3): 302-316.
- JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J., (1983), *Biologia Celular e Molecular*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- LEVINE, J.S. & MACNICHOL., E.F., (1982), Color vision in fishes. *Sci. Am.*, **246**: 140-149.
- LOEW, E.R. & LYTHGOE, J.N., (1978), The ecology of cone pigments in teleost fishes. *Vision Res.*, **18**: 715-722.
- MARSHALL, N.B., (1965), *The life of fishes*. Weidenfeld and Nicolson, London.
- MEYER-ROCHOW, V.B., BAUBURINA, V. & SMIRNOV, S., (1982), Histological observations on the eye of the two luminescent fishes *Photoblepharus palpebratus* (Boddaert) and *Anomalops katoptron* (Blkr.). *Zool. Anz.*, Jena, **209**, 1/2, S: 65-72.
- MEYER-ROCHOW, V.B. & KLYNE, M.A., (1982), Retinal organization of the eyes of three Notothenioid fishes from the Ross Sea (Antarctica). *Gegenbaue morph. Jahrb.*, Leipzig, **128**: 5, S: 762-777.
- MOODY, M.F. & ROBERTSON, J.D., (1960), The fine structure of some retinal photoreceptors. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, **7** (1): 87-92.
- MUNZ, F.W., (1971), Vision: visual pigments. In: HOAR, W.S. AND RANDAL, D.J. (Editors). *Fish Physiology*. Academic Press, New York; vol. V, 1-32.
- O'CONNOR, P. & BURNSIDE, B., (1982), Actin-dependent cell elongation in teleost retinal rods: requirement for actin filament assembly. *J. Cell Biol.*, **92**: 517-524.
- PHAN, M.T., (1985), Histologia da retina de peixes antárticos do Estreito de Bransfield. *An. Acad. bras. Ci.*, (prelo).
- YEFREMENKO, V.N., (1979), Description of the larvae of six species of the family Chaenichthyidae from the Scotia Sea. *J. Ichthyol.*, **16** (3): 65-75.
- YOSHIDA, M., (1978), Some observations of the patency of the outer segments of photoreceptors of the nocturnal gecko. *Vision Res.*, **18**: 137-143.