



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR**

SILVIO MÁRCIO PEREIRA BOULHOSA

**Estruturas do olho do *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)
(CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE): Estudo utilizando microscopia
óptica e de varredura.**

**BELÉM
2011**

SILVIO MÁRCIO PEREIRA BOULHOSA

**Estruturas do olho do *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)
(CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE): Estudo utilizando microscopia
óptica e de varredura.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Neurociências e Biologia Celular como requisito para a
obtenção do título de Mestre, orientado pelo Prof. Dr. Manoel
da Silva Filho.

**BELÉM
2011**

SILVIO MÁRCIO PEREIRA BOULHOSA

**Estruturas do olho do *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862)
(CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE): Estudo utilizando microscopia
óptica e de varredura.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular como requisito para a obtenção do título de Mestre, orientado pelo Prof. Dr. Manoel da Silva Filho.

Data de aprovação:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Manoel da Silva Filho – ICB/UFPA – Orientador e Presidente da Banca

Prof^a. Dra. Jeannie Nascimento dos Santos - ICB/UFPA – Membro Titular

Prof^a. Dr. Wallace Gomes Leal - ICB/UFPA – Membro Titular

Prof^a. Dra. Silene Maria Araujo de Lima

*A mente que se abre a uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original.*
Albert Einstein

DEDICATÓRIA

A minha mãe, que sempre mostrou o caminho da honestidade.

A minha esposa, por toda compreensão e apoio.

A minha filha, por sua paciência e seu amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Manoel da Silva Filho, pela oportunidade e toda dedicação em seus ensinamentos e críticas nessa orientação.

A Profa.Sônia Grotzner, por sua incansável colaboração nas técnicas de microscopia eletrônica e de luz.

Ao Prof. Muniz, por disponibilizar o laboratório do Centro Nacional de Primatas.

Aos amigos Kauê Costa, Dayvison de Jesus, Daniel Valle , Marcelo Lobato e Marcelo Campos, pela colaboração nas coletas e aquisições de artigos e apoio em ferramentas gráficas.

As colegas Fernanda e Maritana no apoio para realização da Microscopia Eletrônica de Varredura.

Aos Professores do curso.

As instituições de ensino Colégio Acrópole, Colégio Santa Rosa, Colégio Gentil Bittencourt e Secretaria Estadual de Educação (SEDUC), por todo apoio.

RESUMO

O gênero *Macrobrachium* contém mais de 120 espécies e ocorre nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo (VALENTI, 1987). São camarões de água doce da família *Palaemonidae* e da ordem Decapoda (RAFINESQUE, 1815; LATREILLER, 1802). No Brasil existem 18 espécies, até agora classificadas, distribuídas ao longo da bacia amazônica (MELO 2003). Entre estas, o *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862) conhecido popularmente como camarão-sossego ou camarão-canela, amplamente empregados na carcinicultura. Os crustáceos dispõem de estruturas sensitivas localizadas no cefalotórax, que permitem receber estímulos do meio para localizar e capturar o alimento (BARNES, 1998). Os olhos compostos estão presentes em todas as classes de crustáceo. Assim, a hipótese levantada nessa pesquisa foi que no *Macrobrachium amazonicum*, estes olhos são do tipo de superposição reflexiva, onde o aparelho dióptrico e o rabdômero se estendem em camadas e está separado por uma zona clara não pigmentada. Neste trabalho temos como objetivos: Avaliar os aspectos morfológicos do olho do *Macrobrachium amazonicum* em microscopia eletrônica de varredura; Caracterizar a morfologia das células fotorreceptoras; Descrever as estruturas morfológicas do olho do *M. amazonicum*; Caracterizar as relações morfométricas entre o olho e as demais estruturas do *M. amazonicum*. Os animais foram adquiridos no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010, com pescadores no município de Santa Bárbara, área metropolitana de Belém, e transportados para o laboratório em caixas de isopor, sendo mantidos em quarentena em um recipiente contendo uma solução de permanganato de potássio a 1,3 mg/L (CARNEIRO *et al.*, 2005). Os animais foram fixados em Davidson e Karnovsky, em seguida os olhos de cada animal foram cuidadosamente seccionados e colocados em frascos plásticos. Nas relações biométricas foram realizadas a análise de variância com $\alpha = 0,05$, foi realizada com *Bio Estat 5.0* para os comprimentos do olho látero-lateral e ântero-posterior dos quatro morfotipos, e *SigmaPlot 11.0* e regressão linear simples, para as variáveis olho total e cefalotórax. Observou-se que o tamanho médio do cefalotórax, do corpo, do olho é respectivamente: 21,03 mm; 70,62 mm e 4,52 mm, sendo que, o peso médio do camarão foi de 7,97 g. Os valores máximos registrados dessas estruturas foram de 31,95 mm para o

cefalotórax; 100,10 mm para o tamanho do corpo; 6,80 mm para o tamanho do olho e de 20,54 g para o peso do camarão. Após análise histológica foram identificadas as seguintes estruturas (Figs. 13 e 14 A-B): córnea, cone cristalino, pigmento distal, haste do cone, zona clara, cutícula, retina, rabdoma, fibras do nervo óptico e lamina. Com relação à microscopia eletrônica de varredura, foram selecionadas para observação as principais estruturas e especialmente o arranjo em seção transversal quadrada dos omatídeos (Figs. 16 A-B). As análises morfométrica e morfológica (por histologia e microscopia eletrônica de varredura) apontaram características próprias de *Macrobrachium amazonicum* adultos oriundos da região metropolitana de Belém. Estes achados incluem uma óptica de superposição reflexiva com olhos adaptados a percepção de estímulos luminosos.

PALAVRAS-CHAVE: *Macrobrachium*, olhos, superposição reflexiva, microscopia eletrônica de varredura.

ABSTRACT

The genus *Macrobrachium* contains more than 120 species and occurs in tropical and subtropical regions worldwide (VALENT, 1987). They are freshwater shrimp family *Palaemonidae* and order *Decapoda* (RAFINESQUE, 1815; LATREILLE, 1802). In Brazil there are 18 species, classified until now distributed throughout the Amazon Basin (MELO 2003). Among these, *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862) popularly known as *shrimp quiet* or *shrimp cinnamon*, widely used in shrimp farming. Crustaceans have sensory structures located on the cephalothorax, which allow them to receive the stimulus means to locate and capture food (BARNES, 1998). The compound eyes are present in all classes of crustacean. Thus, this research hypothesis was that in *Macrobrachium amazonicum*, these eyes are kind of overlay reflective, where the dioptric apparatus and rhabdom extend in layers and are separated by a clear non-pigmented area. In this work we have the following objectives: To evaluate the morphological aspects of the eye of *Macrobrachium amazonicum* scanning electron microscopy; characterize the morphology of the photoreceptor cells; describe the morphological structures of the eye of *M. amazonicum*; characterize the morphometric relationships between the eye and other structures of *M. amazonicum*. The animals were acquired in the district of 'Mosqueiro' in the rainy season, in March 2009 and March 2010, with fishermen in Santa Barbara city, the metropolitan area of Belém, and transported to the laboratory in polystyrene boxes, being held in quarantine in a vessel containing a solution of potassium permanganate at 1.3 mg / L (CARNEIRO et al., 2005). The animals were fixed in Davidson Karnovsky then the eyes of each animal were carefully sectioned and placed in plastic. Relations were performed in biometric analysis of variance with $\alpha = 0.05$, was performed with Bio Stats 5.0 for the lengths of the side of the eye and anterior-posterior of the four morphotypes, and SigmaPlot 11.0 and simple linear regression for the variables eye total and cephalothorax. It was observed that the average size of the cephalothorax, the body, the eye is respectively: 21.03 mm, 70.62 mm and 4.52 mm, and the average weight of shrimp was 7.97 g. The structures of these maximum values recorded were 31.95 mm for the cephalothorax; 100.10 mm body size, 6.80 mm for the size of the eye and 20.54 g for the weight of the shrimp. Histological analysis identified the following structures (Fig. 13:14 AB): cornea, crystalline cone, pigment distal shaft of the cone, clear zone, cuticle, retina,

rabdome, optic nerve fibers and laminates. With respect to scanning electron microscopy, were selected to observe the main structures and especially the arrangement of ommatidia square cross section (Figs. 16 AB). The morphological and morphometric analysis (by histology and scanning electron microscopy) showed characteristics of *Macrobrachium amazonicum* adults from the metropolitan region of Belém. These findings include a reflective optical superposition eyes fitted with the perception of light stimuli.

KEY- WORDS: *Macrobrachium*, eyes, overlay reflective, scanning electron microscopy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – *Macrobrachium amazonicum*. A - Vista dorsal. B – Vista lateral. 16
- Figura 2 – Aspecto geral histológico esquemático do omatídeo em crustáceos decápodes. Adaptado de Bernhard e Ottoson, 1964. 18
- Figura 3 – Esquema dos tipos de olhos em animais: A) olho simples tipo pupila. B) olho com lente esférica. C) olho com córnea. D) olho com espelhos. Retina em roxo. Adaptado de Land, 2000. 20
- Figura 4 – Desenho esquemático dos principais tipos de olhos compostos de crustáceos. A) o olho de aposição, mostrando o isolamento do omatídeo. B) olho de superposição, mostrando o redirecionamento da luz de muitas facetas para o rabdômero alvo. C) O olho de superposição neural, em que a luz de um feixe paralelo estimula os receptores diferentes no omatídeo adjacente. Adaptado de Nilsson, 1990. 21
- Figura 5 – A) Princípio dos cantos refletores. B) Caixa com espelhos e incidência dos raios refletidos C) Posicionamento em círculo das caixas espelhadas e direcionamento dos raios para um mesmo plano de foco, formando imagem de superposição. Adaptado de Land, 2000. 24
- Figura 6 – Aquário de plástico com aproximadamente 150 litros; Filtro orgânico para limpeza; Bomba de diafragma (Betta super 2, FRISKA) para oxigenação. 26
- Figura 7 – Morfotipos para machos de *M. amazonicum*. Adaptado de Moraes-Riodades e Valenti, 2004. 27
- Figuras 8 – Parâmetros morfométricos gerais do corpo de *M. amazonicum*: A linha vermelha corresponde ao comprimento total do corpo enquanto que alinha amarela corresponde ao comprimento do cefalotórax. 27

Figura 9 – Parâmetros morfométricos gerais utilizados para a morfometria do olho de *M. amazonicum*: A linha amarela corresponde ao tamanho total do olho; a linha vermelha corresponde ao comprimento ântero-posterior e a linha azul ao comprimento látero-lateral. 28

Figura 10 A-B – Comprimentos ântero-posterior e látero-lateral em olhos dos quatro morfotipos de machos de *M. Amazonicum*. APTC e LLTC; APCC e LLCC; APGC1 e LLGC1; APGC2 e LLGC2. As medidas nos dois gráficos são estatisticamente diferentes, para o valor de $p < 0,0001$. * diferenças estatísticas. 30

Figura 11 – Diagramas de dispersão de machos de morfotipos TC, CC, GC1 e GC2 de *Macrobrachium amazonicum* para as variáveis olho total e cefalotórax do camarão, coletadas no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010. 32

Figura 12 – Diagrama de dispersão de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* para as variáveis olho total e cefalotórax do camarão coletadas no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010. 33

Figura 13 – Imagem panorâmica de corte transversal do olho do camarão *M. amazonicum*: observe a extensão da retina em corte radial, na região do maior diâmetro do olho. Coloração: hematoxilina e eosina. 34

Figuras 14 A-B – Detalhes dos componentes celulares e estruturais do olho do *Macrobrachium amazonicum* – Omatídeos. 35

Figura 15 – Seção transversal da região que corresponde ao cristalino, onde se observa o formato em ângulo reto do perímetro celular dos omatídeos, conferindo que estas estruturas têm uma seção transversal quadrada. 36

Figura 16 A-B – Detalhes da superfície da cutícula esquelética do olho de *M. amazonicum*. Observar o formato de quadrado do perímetro em ângulos retos dos omatídeos. 38

Figura 17 – Visão transversal de olho de *M. amazonicum*, mostrando: 1 – Esqueleto externo, 2 – Cutícula esquelética, 3 – Omatídeos. 39

Figura 18 – Visão longitudinal de omatídeos: 1 – Cutícula esquelética, 2 – Células corneágenas (desprendidas do cone cristalino), 3 – Cone cristalino 4 – Haste do cone cristalino, 5 – Células retinulares, 6 – Rabdômero, 7 – Fibras do nervo óptico39

Figura 19 – Superfície dos omatídeos: 1 – Células do cone cristalino (quatro células por omatídeo), 2 – Cone cristalino. 40

Figura 20 – Visão longitudinal de omatídeos: 1 – Cutícula esquelética; 2 – Córnea; 3 – Cone cristalino; 4 – Haste do cone cristalino. 40

Figura 21 – Visão superior da região anterior do olho em amostra:1 – Cutícula esquelética (observar o arranjo em quadrados), 2 – Córnea, 3 – Células do cone cristalino (quatro células por omatídeo), 4 – Cone cristalino , 5 – Haste do cone cristalino 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios de morfometria de machos *Macrobrachium amazonicum* para as variáveis cefalotórax, tamanho do corpo, comprimento total olho e peso do camarão coletados no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010. 31

Tabela 2 – Valores médios de morfometria de fêmeas *Macrobrachium amazonicum* para as variáveis cefalotórax, tamanho do corpo, comprimento total olho e peso do camarão coletados no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010. 33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TC (quela translúcida)

CC (quela canela)

GC1 (quela verde claro)

GC2 (quela verde intenso)

APTC e LLTC = ântero-posterior e látero-lateral para morfotipo queela translúcida;

APCC e LLCC = ântero-posterior e látero-lateral para morfotipo queela canela;

APGC1 e LLGC1 = ântero-posterior e látero-lateral para morfotipo queela verde claro;

APGC2 e LLGC2 = ântero-posterior e látero-lateral para morfotipo queela verde escuro

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	16
1.1 - O CAMARÃO (<i>Macrobrachium amazonicum</i>)	16
1.2 - ÓPTICA DE SUPERPOSIÇÃO REFLEXIVA	17
1.3 – OBJETIVOS	25
1.3.1 – Objetivos gerais	25
1.3.2 - Objetivos específicos	25
2 - MATERIAL E MÉTODOS	26
2.1 - MORFOMETRIA	26
2.2 - PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO	28
2.2.1- Protocolos de fixação e processamento para microscopia de luz	28
2.2.2 - Protocolos de fixação e processamento para microscopia de varredura	29
3 - RESULTADOS	30
3.1 - MORFOMETRIA (olho de <i>Macrobrachium amazonicum</i>)	30
3.1.1- Morfometria de Machos de <i>Macrobrachium amazonicum</i>	31
3.1.2 -Morfometria de Fêmeas de <i>Macrobrachium amazonicum</i>	32
3.2 - HISTOLOGIA DO OLHO DE <i>M. amazonicum</i>	34

4 - DISCUSSÃO	42
5 - CONCLUSÃO	46
6 - REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

1.1 O CAMARÃO (*Macrobrachium amazonicum*)

São camarões de água doce, do subfilo Crustacea, da classe Malacostraca, da ordem Decapoda e da família *Palaemonidae* (LATREILLER, 1802; RAFINESQUE, 1815).

O gênero *Macrobrachium* contém mais de 120 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo (VALENTI, 1987). No Brasil existem 18 espécies, até agora classificadas, distribuídas ao longo da bacia amazônica (MELO, 2003). Entre estas, o *Macrobrachium amazonicum* (HELLER, 1862) conhecido popularmente como *camarão-sossêgo* ou *camarão-canela*, amplamente empregados, tanto na carcinicultura, como também, explorados comercialmente em mercados populares (COELHO *et al.*, 1982).

Entre as espécies que ocorrem no Brasil, *M. amazonicum* (Fig. 01) é a mais indicada para o cultivo. Está presente nos lagos e represas, onde se desenvolve com sucesso (VALENTI, 1985). Além da rusticidade, apresenta comportamento pouco agressivo e se reproduz durante todo o ano. No Estado do Pará, essa espécie é também conhecida como camarão regional (VALENTI, 1985; MORAES-RIODADES e VALENTI, 2001), amplamente explorada pela pesca artesanal com fins comerciais (ODINETZ-COLLART, 1993).

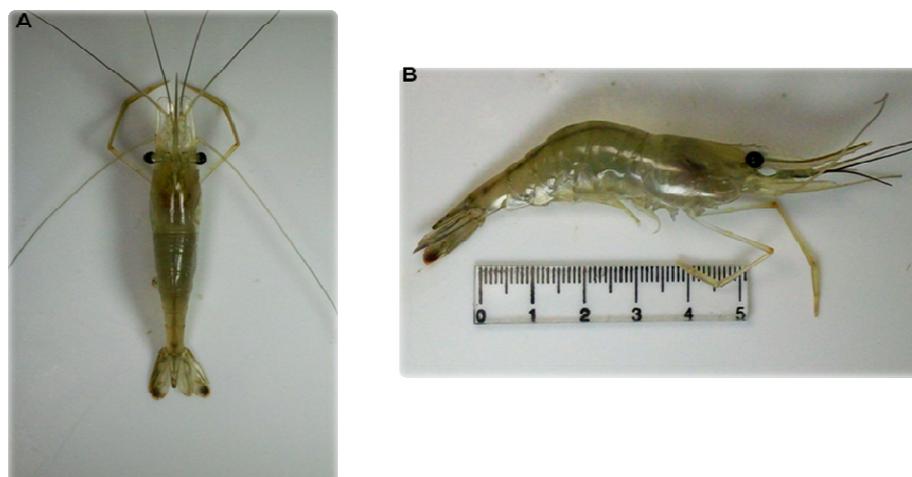


Figura 01. *Macrobrachium amazonicum*. A - Vista dorsal. B – Vista lateral.

O *M. amazonicum* é uma espécie largamente distribuída na América do Sul, nas bacias do rio Orenoco, do rio Amazonas e do rio Paraguai (HOLTHUIS, 1952 apud ODINETZ-COLLART, 1988). É muito abundante nas águas claras, ricas em sedimentos e sais dissolvidos, de cálcio e de magnésio, assim como, nos lagos e açudes de várzea alagados durante a cheia, porém pouco freqüente nas águas escuras, ácidas e pobres em nutrientes, como nos igarapés de terra firme (ODINETZ-COLLART; MOREIRA, 1993).

A biologia deste crustáceo decápode já foi estudada sob vários aspectos, como por exemplo, ocorrência de morfotipos para machos adultos e os estágios de maturação de machos e fêmeas (MORAES-RIODADES e VALENTI, 2002; RIBEIRO, 2003; PAPA, 2003; MORAES-RIODADES e VALENTI, 2004), análise comparativa entre populações costeiras por meio de dados morfológicos e moleculares (VERGAMINI, 2009), alimentação durante a fase larval (MACIEL, 2007), e estudo estrutural e ultra-estrutural das gônadas masculinas dos diferentes morfotipos, mas outras características precisam de esclarecimentos.

Estudos sobre *M. amazonicum* começaram a ser realizados devido ao grande interesse que esta espécie despertou para o cultivo comercial (SILVA e FRÉDOU e FILHO, 2007)

Os crustáceos dispõem de estruturas sensitivas que permitem receber estímulos do meio. Estes são usados para localizar e capturar o alimento, dentre outras funções. As estruturas de quimiorrecepção, mecanorrecepção e fotorrecepção são reconhecidas como importantes sentidos usados pelos crustáceos decápodes para identificação de partículas alimentares (HENRIQUES, 2006).

1.2 ÓPTICA DE SUPERPOSIÇÃO REFLEXIVA

Os crustáceos dispõem de estruturas sensitivas localizadas no cefalotórax - as antenas e olhos, que permitem receber estímulos do meio ambiente para localizar e capturar o alimento (BARNES, 1998).

A habilidade de responder à luz é comum a muitas formas de vida, mas a formação de sistemas oculares é encontrada somente em animais. Sendo assim, o sistema óptico possui estruturas capazes de captar a luz ambiente processá-la e produzir respostas compatíveis com a vida de cada organismo (LAND, 2005). Um olho consiste basicamente de dois sistemas: o sistema óptico e o sistema de percepção da luz.

O sistema visual dos crustáceos é constituído por olhos compostos que contêm milhares de unidades ópticas, chamadas de omatídeos (BRUSCA e BRUSCA, 2003).

Os omatídeos de olhos compostos de crustáceos e insetos são exclusivos desses grupos, apresentando um padrão numérico pequeno de tipos celulares, porém existe uma variedade muito grande e altamente específica destas células (PAULUS, 1979, 2000; HARZSCH *et al.*, 2005 apud NILSSON; KELBER, 2007).

No geral, cada omatídeo possui duas células pigmentadas, quatro células cone (cone quadripartido) e oito células receptoras que se aplicam aos insetos e aos crustáceos malacostracos (Fig. 02).

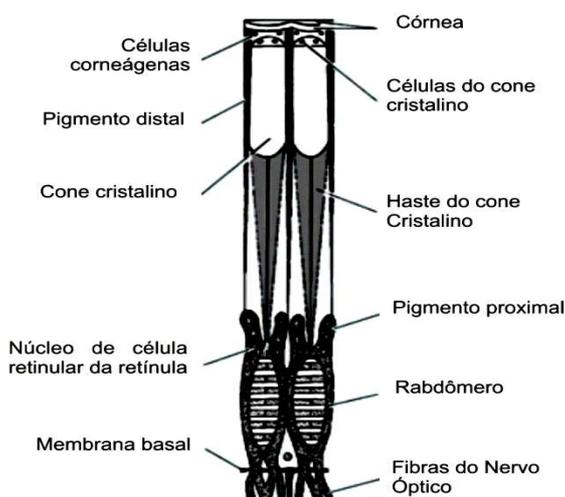


Figura 02. Aspecto geral histológico esquemático do omatídeo em crustáceos decápodes. Adaptado de Bernhard e Ottoson, 1964.

É comum haver uma variação no número de células entre diferentes grupos taxonômicos, no entanto essa quantidade é notavelmente constante dentro de cada

espécie. Além dos tipos de células citados acima existem também outros tipos celulares, que variam em número e qualidade entre os diferentes grupos de insetos e crustáceos (PAULUS, 1979 apud NILSSON; KELBER, 2007).

Os omatídeos dos insetos e crustáceos diferem entre si principalmente pela constituição de duas células distais. Nos crustáceos estas células não possuem um pigmento fotorreceptor, ao contrário do observado em insetos. Os insetos e os crustáceos malacostracos têm consistentemente quatro células cone (cone quadripartido), mas entre crustáceos não-malacostracos há cinco células cone nas ordens: Notostraca, Conchostraca, Cladocera e quatro em Anostraca, três na infraclasse Cirripedia e dois na classe Ostracoda (PAULUS, 1979; NILSSON e ODSELIUS, 1981; HALLBERG, 1982; HALLBERG e ELOFSSON, 1983; NILSSON *et al.*, 1983; ODSELIUS e NILSSON, 1983; LAND e NILSSON, 1990; HUVARD, 1990).

Tipicamente existem oito células fotorreceptoras, tanto em insetos quanto em crustáceos malacostracos, embora alguns insetos tenham nove células; no entanto, entre crustáceos não-malacostracos os números variam entre quatro e seis dependendo do grupo taxonômico. A presença de lentes córneas é comum em crustáceos malacostracos e insetos, mas ausentes nos olhos compostos de crustáceos não-malacostracos. Assim, em alguns pontos, o omatídeo de crustáceos não-malacostracos é levemente diferente daqueles dos malacostracos e dos insetos (NILSSON e KELBER, 2007).

O número de células pigmentadas difere entre grupos, mas geralmente os táxons com olhos de óptica avançada têm uma maior abundância de células pigmentadas, frequentemente de tipos distintos. Somente o par de células distais tem o mesmo número em todos os insetos e crustáceos (NILSSON e KELBER, 2007).

Os rabdômeros dos insetos e crustáceos são tipicamente longos e delgados, sendo formados pelas células fotorreceptoras, que se estendem por toda a extensão da estrutura. No tipo de olho ancestral, de aposição (NILSSON, 1989), os rabdômeros distais atuam como um guia para a luz no fim do plano focal da lente do omatídeo, permitindo que todos os fotorreceptores no omatídeo sejam estimulados.

Uma parte importante do plano omatidial, é que uma ou duas células fotorreceptoras com fibras visuais longas terminam na medula (segundo gânglio óptico), enquanto que os demais axônios do receptor terminam na lâmina (primeiro gânglio óptico). Portanto este padrão é universal em crustáceos e insetos (STRAUSFELD, 2005). Devido ao fato de os receptores com fibras visuais longas e curtas possuírem sensibilidades espectrais diferentes, é provável que representem um sistema ancestral para a visão de cor (NILSSON e OSORIO, 1997).

A evolução do sistema óptico nos animais tem avançado em dois estágios (Fig. 03). Em um primeiro estágio, na maioria dos grupos, foram encontrados olhos simples tipo pupila, que possui a forma de um copo aberto com um pequeno número de receptores, formando uma tela pigmentada. Estes olhos simples tipo pupila são utilizáveis na seleção de um ambiente agradável, e podem informar ao animal acerca da distribuição de luz e escuridão ao seu redor. Portanto, a resolução é muito pequena para detectar predadores ou presas ou o controle da locomoção e outros. Todas estas tarefas requerem um olho com sistema óptico, bem desenvolvido (LAND, 2005).

O segundo estágio da evolução dos olhos ocorreu com menor freqüência e somente em seis dos trinta e três filos do reino Metazoa de acordo com Barnes (1987). A característica mais importante deste último estágio da evolução óptica é a diversidade dos mecanismos observados em vários níveis do reino animal, como exemplo, os olhos de superposição reflexiva encontrados em camarões e lagostas.

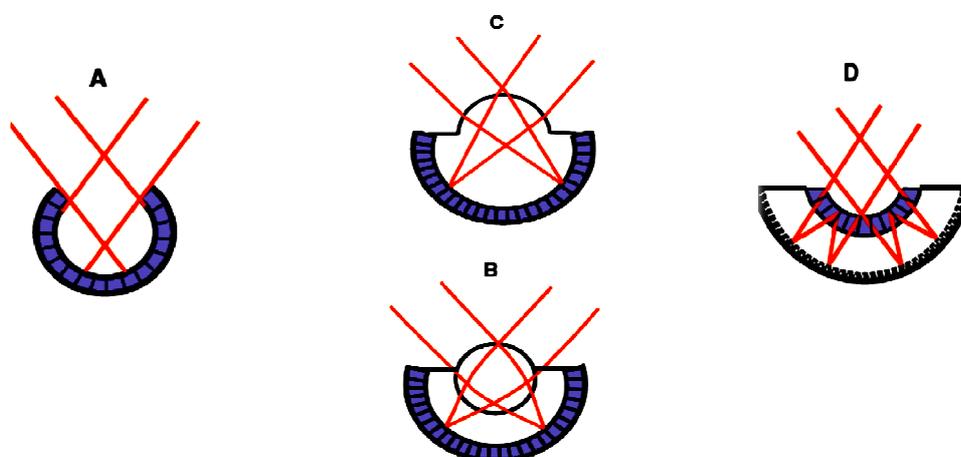


Figura 03. Esquema dos tipos de olhos em animais: A) olho simples tipo pupila. B) olho com lente esférica. C) olho com córnea. D) olho com espelhos. Retina em roxo. Adaptado de Land, 2000.

Existem três tipos básicos de olhos compostos nos artrópodes (Fig. 04) de acordo com Land (1981): A) o olho de aposição, em que a luz de um pequeno campo de visão de cada faceta incide sobre um rabdômero. B) O olho de superposição, em que um feixe de luz paralelo é convergido por múltiplas estruturas ópticas associadas para formar uma imagem na camada de fotorreceptores. C) O olho de superposição neural, em que a luz de um feixe paralelo estimula os receptores diferentes no omatídeo adjacente (MEYER-ROCHOW e GÁL, 2004).

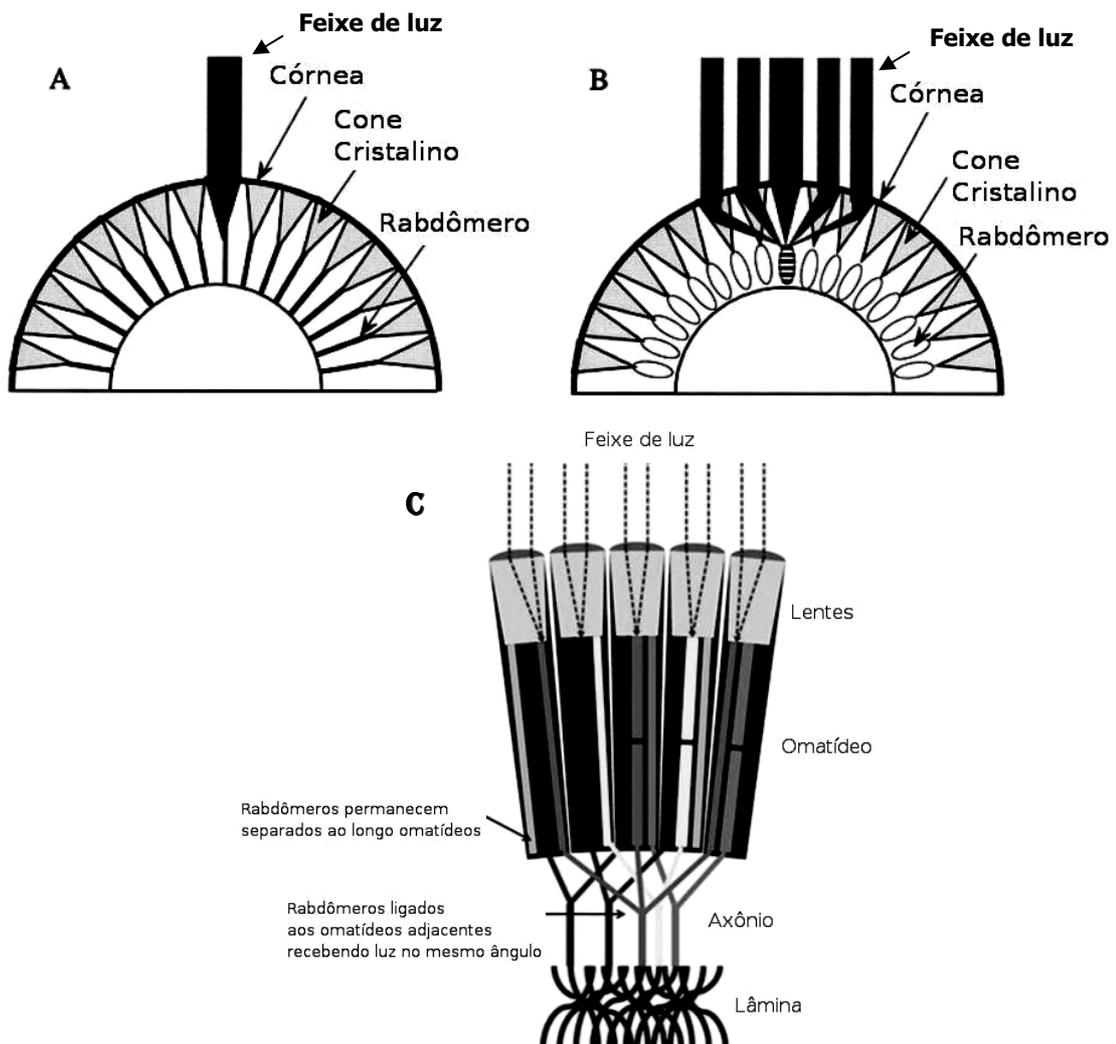


Figura 04. Desenho esquemático dos principais tipos de olhos compostos de crustáceos. A) o olho de aposição, mostrando o isolamento do omatídeo. B) olho de superposição, mostrando o redirecionamento da luz de muitas facetas para o rabdômero alvo. C) O olho de superposição neural, em que a luz de um feixe paralelo estimula os receptores diferentes no omatídeo adjacente. Adaptado de Nilsson, 1990.

Os olhos compostos estão presentes em todas as classes de crustáceo. Na maioria dos casos, estes olhos são do tipo de justaposição no qual o aparelho dióptrico (lente córnea e cone cristalino) está em contato com o rabdômero. No olho de superposição o aparelho dióptrico e o rabdômero se estendem em camadas e está separado por uma zona clara não pigmentada.

Nos olhos de superposição observa-se que a luz que alcança os receptores não é proveniente de um único elemento óptico, mas sim, de vários. Esta sobreposição garante um acentuado aumento na sensibilidade neste tipo de olho, sendo muito comum em insetos e em muitos crustáceos. Os olhos de superposição não são divididos em omatídeos, como são os olhos ditos compostos; na verdade possuem uma única e profunda camada de células fotorreceptoras separadas dos elementos ópticos por uma região transparente, chamada de *zona clara*, através da qual a luz é projetada a um mesmo plano de foco.

A característica crucial do desempenho da óptica de todos os tipos de olhos de superposição é a precisão na qual os feixes de luz provenientes de cada elemento óptico, coincidem em um mesmo plano de foco. Devido à inexistência de elementos refratores, tais como as lentes, a imagem que se forma sobre a camada fotorreceptora é real, ao contrário das imagens invertidas encontradas em outros tipos de olhos (LAND e NILSSON, 2002).

A principal característica do olho de superposição, é que dentro do cone cristalino, a luz deve ser redirecionada ao longo do eixo óptico do omatídeo e concentrar-se sobre o rabdômero alvo. Os diferentes tipos de olhos superposição são definidos pela forma como esse redirecionamento da luz ocorre. A maneira mais simples é através da reflexão direta de raios incidentes na parede do cone cristalino, este é o mecanismo usado nos olhos de superposição reflexiva (VOGT, 1975; LAND, 1976). Foi demonstrado (VOGT, 1977) que o foco neste tipo de olho só funciona se os cones cristalinos forem quadrados na seção transversal.

Segundo Land (1992), o pesquisador Exner, em 1891, propôs o sistema de lentes para produzir imagens na retina, e demonstrou que cada elemento óptico necessitaria se comportar como um telescópio invertido, com dispositivo de duas

lentes. Talvez, para outros tipos de artrópodes o modelo seria aplicado, porém, não se aplicaria a crustáceos decápodes (LAND, 1992).

Ainda segundo esse pesquisador, pensava-se que os olhos de crustáceos decápodes como camarões, lagostas e outros, seriam olhos de superposição refrativa. No entanto, não foi observada a presença de lentes que confirmassem essa hipótese, e sim elementos quadrados, homogêneos, com baixo índice refrativo e em forma de caixa, aos quais não lhes foi atribuído nenhuma função óptica. Portanto, acreditou-se durante muito tempo que os camarões seriam cegos.

Vogt (1975) e Land (1976) descobriram que os raios de curvatura não eram realizados por lentes, mas sim por espelhos, representados pelas caixas que pareciam sem função. Os espelhos parecem objetos improváveis de se encontrar na natureza, visto que os seres vivos não produzem nenhum metal naturalmente reflexivo, tal como a prata ou o alumínio, os quais são utilizados em espelhos artificiais. Todavia, espelhos de vários tipos são encontrados em todo o reino animal (LAND e NILSSON, 2002).

Os espelhos naturais não são necessariamente metálicos, mas são feitos de material com multicamadas e com índices refrativos diferenciados dependendo da relação substância/ambiente (por exemplo, ar e quitina em insetos e água e guanina em escamas de peixes), e funciona com base na interferência de luz refletida das superfícies superiores e inferiores de cada camada (LAND, 1972; HERRING, 1994, PARKER, 2000). A consequência desta interferência é a produção de cor que pode ser utilizada em vários tipos de camuflagem.

Tanto as lentes como espelhos podem inverter a direção dos feixes de luz, e assim causar a superposição de imagens, porém, espelhos parece ser uma solução mais simples do que o complexo arranjo de lentes. Os espelhos se organizam em fileiras emoldurando um círculo no centro do olho (Fig. 05 C), permitindo que raios distantes do plano de simetria, encontrem pelo menos dois lados espelhados de uma das caixas (Fig. 05) constituintes do elemento óptico (LAND, 2000).

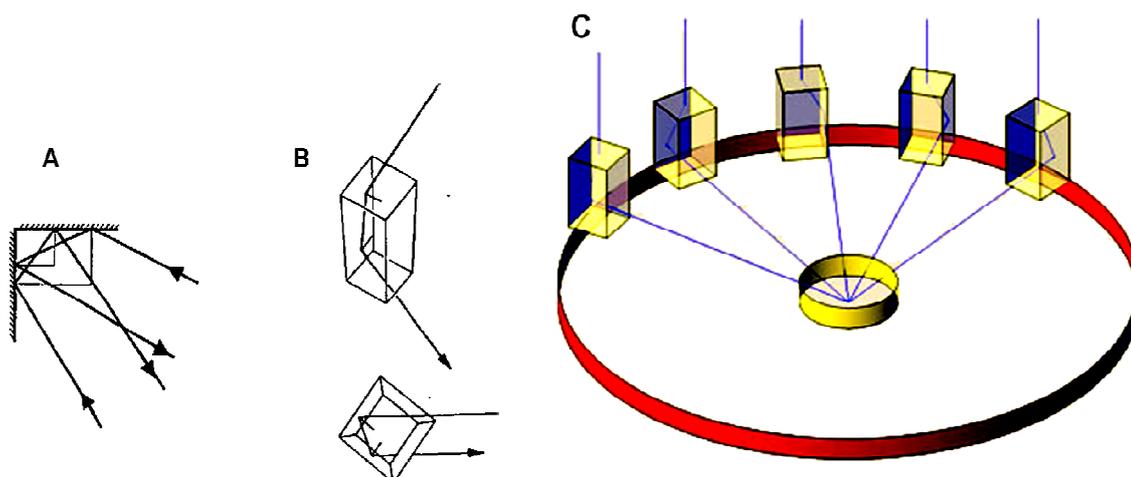


Figura 05. A) Princípio dos cantos refletores. B) Caixa com espelhos e incidência dos raios refletidos C) Posicionamento em círculo das caixas espelhadas e direcionamento dos raios para um mesmo plano de foco, formando imagem de superposição. Adaptado de Land, 2000.

De acordo com Land (2000), em crustáceos decápodes, as paredes das caixas espelhadas estão dispostas em ângulos retos e não hexagonais; reforçando a presença de facetas quadradas. Para que os raios luminosos sejam refletidos com eficiência, a altura das caixas deve ter o dobro de sua largura.

Os olhos de superposição reflexiva, os quais são encontrados apenas em crustáceos decápodes, presumivelmente evoluíram dentro desse grupo no período cambriano. Os parentes mais próximos dos decápodes, como o *krill* (*Euphausiids* sp.), possuem olhos de superposição reflexiva, mas as larvas de camarões decápodes têm olhos de aposição com facetas hexagonais, que mudam durante a metamorfose para olhos de superposição, com facetas quadradas (NILSSON, 1989).

Esta transformação presume que o olho de aposição é ancestral, e que o desenvolvimento do sistema óptico de superposição reflexiva surgiu devido à necessidade em produzir uma imagem mais brilhante em um ambiente com menos luminosidade, como no caso do ambiente bentônico (NILSSON, 1989).

Entretanto, muitas outras características, principalmente aquelas relativas ao seu sistema visual, tais como, a óptica de superposição reflexiva, quantos elementos

refletores em média cada olho possui, qual a banda espectral que os olhos respondem e o aspecto morfológico das projeções e ramificações axonais, desde o olho até o gânglio cerebral, ainda carecem de investigação. Por isso, a razão desta proposta de dissertação. Além disso, o *Macrobrachium amazonicum*, por ser uma espécie nativa, abundante, facilmente encontrada em grande parte da região Amazônica, bastante resistente, adapta-se facilmente às condições experimentais de laboratório, apresentando, portanto, grande potencial, para ser um excelente modelo experimental.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral:

Determinar aspectos morfológicos relativos à óptica de superposição reflexiva do olho do *Macrobrachium amazonicum*.

1.3.2 Objetivos específicos:

- Caracterizar a morfologia das células fotorreceptoras, através de técnicas histológicas;
- Avaliar os aspectos morfológicos do olho de *Macrobrachium amazonicum* em microscopia eletrônica de varredura;
- Descrever as estruturas morfofuncionais do olho de *M. amazonicum*;
- Caracterizar as relações morfométricas entre os comprimentos do olho e do cefalotórax nos morfotipos machos e nas fêmeas de *M. amazonicum*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os animais foram adquiridos no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010, com pescadores no município de Santa Bárbara, área metropolitana de Belém, e transportados para o laboratório em caixas de isopor, sendo mantidos em quarentena em um recipiente contendo uma solução de permanganato de potássio a 1,3 mg/L (CARNEIRO *et al.*, 2005). No laboratório, os animais foram mantidos em um aquário de plástico com aproximadamente 150 litros (Fig. 06) e alimentados periodicamente com ração. A água do recipiente era constantemente filtrada através de um filtro orgânico para aquário e oxigenada com o auxílio de uma bomba de diafragma (Betta super 2, FRISKA), sendo substituída periodicamente.



Figura 06. Aquário de plástico com aproximadamente 150 litros; Filtro orgânico para limpeza; Bomba de diafragma (Betta super 2, FRISKA) para oxigenação.

Os resultados histológicos e morfométricos foram destacados em figuras, gráficos e tabelas.

2.1 MORFOMETRIA

Foi coletado um total de 240 camarões, distribuídos em dois grupos por sexo (verificando a presença do apêndice sexual masculino no segundo par de pleópodos), um com 120 fêmeas e outro com 120 machos. O grupo dos machos foi subdividido em: 30 TC (quela translúcida), 30 CC (quela canela), 30 GC1 (quela verde claro) e 30 GC2 (quela verde intenso), propostos por Moraes-Riodades e

Valenti (2004) (Fig. 07). Os dois últimos caracteres GC1 e GC2 são dominantes e de difícil achado em coleta.

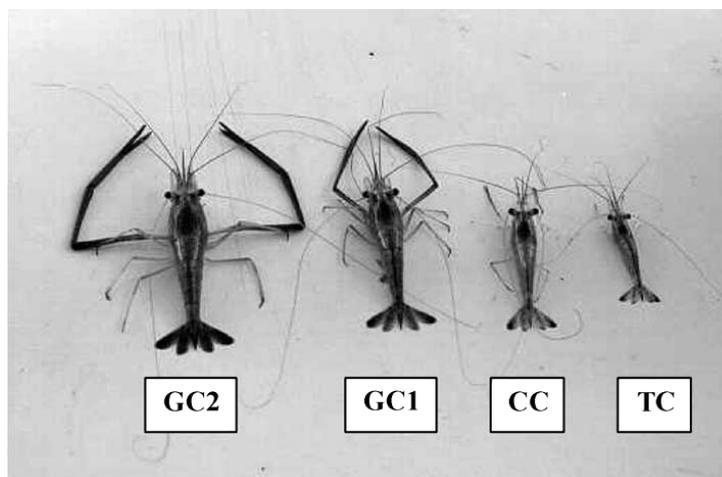


Figura 07. Morfotipos para machos de *M. amazonicum*. Adaptado de Moraes-Riodades e Valenti , 2004.

O peso do corpo foi aferido com balança analítica e as medições do corpo foram feitas utilizando-se um paquímetro manual.

Nas relações biométricas foram realizadas a análise de variância com $\alpha = 0,05$, foi realizada com *Bio Estat 5.0* para os comprimentos do olho látero-lateral e ântero-posterior dos quatro morfotipos, e *SigmaPlot 11.0* e regressão linear simples, para as variáveis olho total e cefalotórax (Figs. 08 e 09).

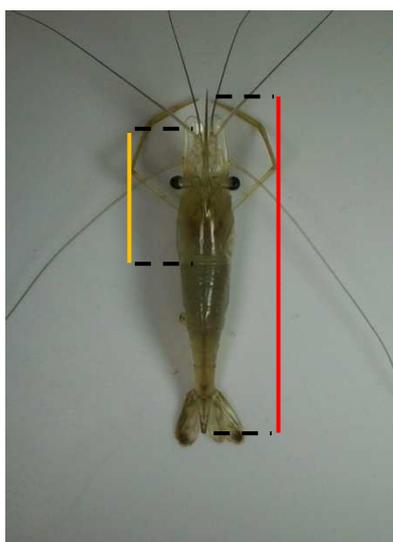


Figura 08. Parâmetros morfométricos gerais do corpo de *M. amazonicum*: A linha vermelha corresponde ao comprimento total do corpo enquanto que alinha amarela corresponde ao comprimento do cefalotórax

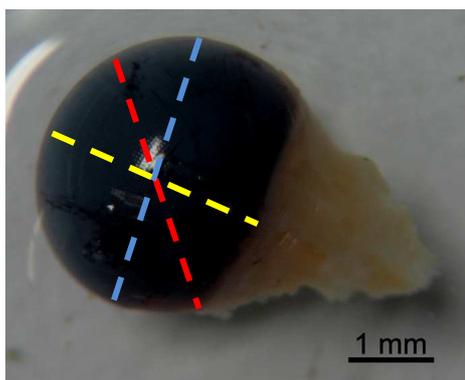


Figura 09. Parâmetros morfométricos gerais utilizados para a morfometria do olho de *M. amazonicum*: A linha amarela corresponde ao tamanho total do olho; a linha vermelha corresponde ao comprimento ântero-posterior e a linha azul ao comprimento látero-lateral.

2.2 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

2.2.1 Protocolos de fixação e processamento para microscopia de luz:

Os animais foram sacrificados em um becker de vidro contendo fixador de Davidson, em seguida os olhos de cada animal foram cuidadosamente seccionados e colocados em frascos plásticos (e identificados em olho direito e esquerdo) com o mesmo fixador e conservados em geladeira por 24 horas.

Os olhos de *Macrobrachium amazonicum* (Fig. 09) foram dissecados sob lupa para a remoção da carapaça quitinosa. Para a obtenção das seções histológicas, o material foi desidratado em série crescente de alcoóis (70, 80, 90 e 95% durante trinta minutos em cada um e depois álcool 100% em três tempos de trinta minutos), diafanizado em xileno (dois tempos de trinta minutos), infiltrado em Paraplast Plus[®] a 58°C (dois tempos de trinta minutos) e incluído no mesmo meio com o auxílio de moldes de papel. As seções foram feitas em micrótomo semi-automático Leica RM2145, na forma de cortes seriados com 7,0 µm de espessura. Os cortes foram acondicionados em lâminas histológicas com solução de Albumina, distendidos e secos em placa aquecedora. A coloração inicial foi a Hematoxilina-Eosina, para o estudo da morfologia da estrutura.

2.2.2 Protocolos de fixação e processamento para microscopia de varredura

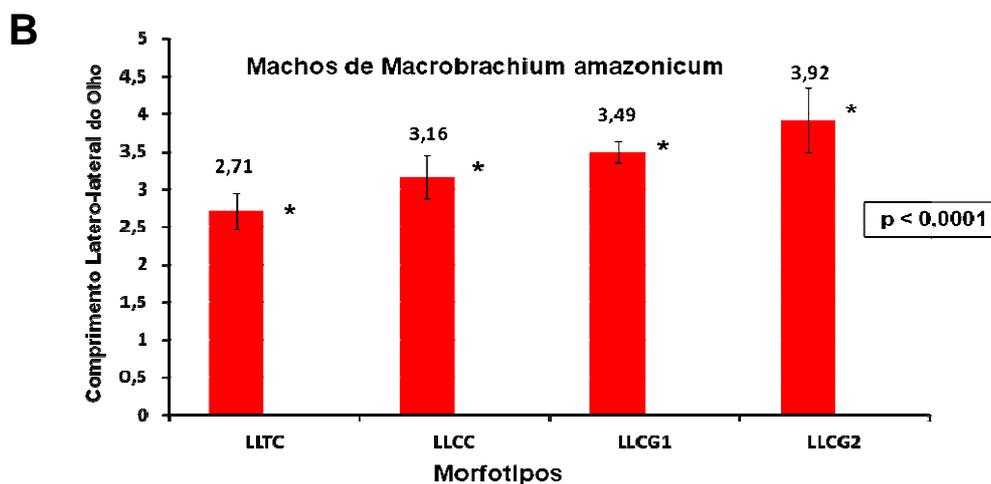
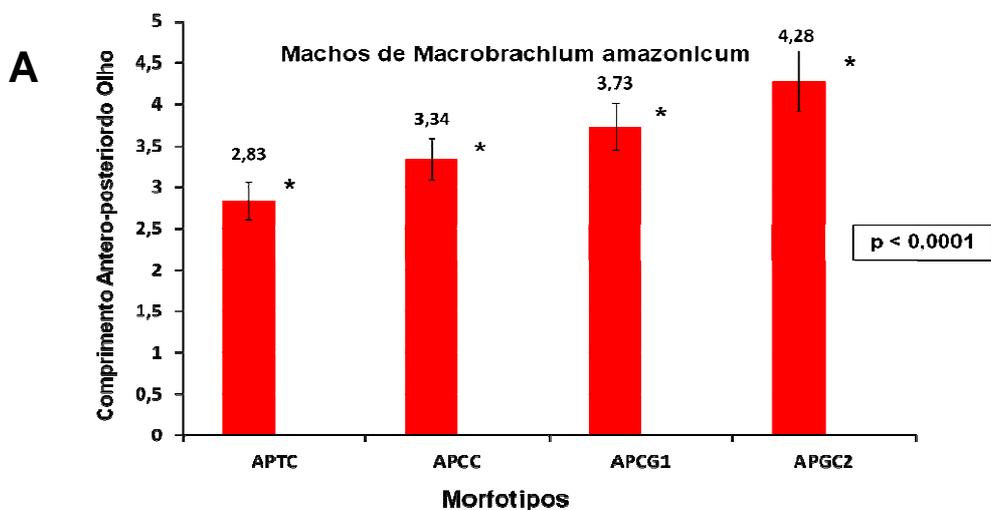
Os animais foram sacrificados em um becker de vidro contendo fixador de Karnovsky (glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2%, tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,4), em seguida os olhos de cada animal foram cuidadosamente seccionados e colocados em frascos plásticos (e identificados em olho direito e esquerdo) com o mesmo fixador e conservados em geladeira por 24 horas.

Após a fixação do material, o mesmo é desidratado em uma série alcoólica crescente, com tempos de quinze minutos em etanol a 50%, 70%, 80% e 90% e mais três tempos de quinze minutos em etanol a 100% (Merck). A secagem é feita então em aparelho de ponto crítico, onde o álcool é substituído por dióxido de carbono (CO₂) liquefeito, o qual é removido ao atingir o seu estado supercrítico, sem deformar o material. As amostras são então montadas em suportes porta-amostras ("stubs") específicos, usando fita adesiva eletricamente condutora de dupla face. O recobrimento metálico é feito por "sputtering" com uma camada de ouro de 20nm. O material assim preparado é observado e fotografado em microscópio eletrônico de varredura do centro de microscopia eletrônica da UFPR.

3 RESULTADOS

3.1 MORFOMETRIA (olho de *Macrobrachium amazonicum*)

A análise de variância foi realizada levando-se em consideração os comprimentos ântero-posterior e látero-lateral em olhos dos quatro morfotipos de machos de *M. Amazonicum*. Apresentando um crescimento linear, para o valor de $p < 0,0001$ (Figs. 10 A-B).



Figuras 10 A-B. Comprimentos ântero-posterior e látero-lateral em olhos dos quatro morfotipos de machos de *M. Amazonicum*. APTC e LLTC; APCC e LLCC; APGC1 e LLGC1; APGC2 e LLGC2. As medidas nos dois gráficos são estatisticamente diferentes, para o valor de $p < 0,0001$. * diferenças estatísticas.

3.1.1 Morfometria de Machos de *Macrobrachium amazonicum*

Observou-se que o tamanho médio do cefalotórax, do corpo, do olho é respectivamente: 21,03 mm; 70,62 mm e 4,52 mm, sendo que, o peso médio do camarão foi de 7,97 g. Os valores máximos registrados dessas estruturas foram de 31,95 mm para o cefalotórax; 100,10 mm para o tamanho do corpo; 6,80 mm para o tamanho do olho e de 20,54 g para o peso do camarão. Os menores valores registrados dessas estruturas foram de 13,30 para o cefalotórax; 47,90 mm para o tamanho do corpo; 3,05 mm para o tamanho do olho e de 1,97 g para o peso (Tab. 01).

Tabela 01: Valores médios de morfometria de machos *Macrobrachium amazonicum* para as variáveis cefalotórax, tamanho do corpo, comprimento total olho e peso do camarão coletados no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010.

	Estruturas do Camarão			
	Tamanho do Corpo (mm)	Cefalotórax (mm)	Comprimento do Olho(mm)	Peso (g)
Média	70,62	21,03	4,52	7,97
Desvio Padrão	14,37	5,18	0,85	4,96
Mínimo	47,90	13,30	3,05	1,97
Mediana	71,08	21,33	4,45	7,41
Máximo	100,10	31,95	6,80	20,54

Para todos os pontos observados, o coeficiente de determinação (r^2), indica que para o **morfotipo TC** = 0,35 ($r = 0,60$); **morfotipo CC** = 0,49 ($r = 0,70$); **morfotipo GC1** = 0,53 ($r = 0,72$), **morfotipo GC2** = 0,29 ($r = 0,53$). As duas variáveis estão relacionadas e a associação entre as duas é considerada boa. De acordo com os gráficos da Figura 11 observamos que existe entre as duas variáveis uma correlação linear positiva, pois o tamanho do olho aumenta à medida que o tamanho do cefalotórax aumenta.

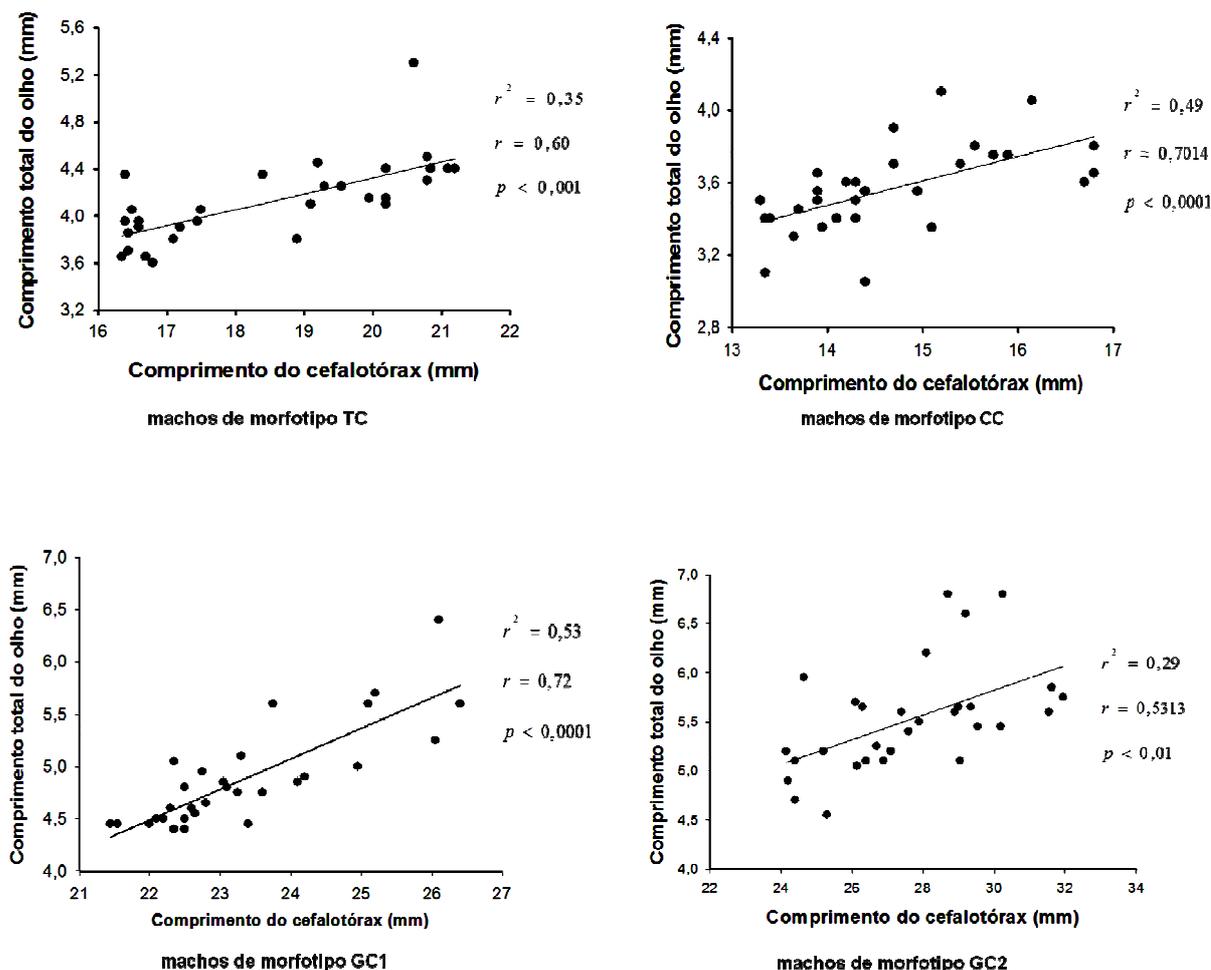


Figura 11. Diagramas de dispersão de machos de morfotipos TC, CC, GC1 e GC2 de *Macrobrachium amazonicum* para as variáveis olho total e cefalotórax do camarão, coletadas no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010.

3.1.2 Morfometria de Fêmeas de *Macrobrachium amazonicum*

Observou-se que o tamanho médio do cefalotórax, do corpo, do olho é respectivamente: 16,99 mm; 57,99 mm e 3,04 mm, sendo que o peso médio do camarão foi de 2,83 g. Os valores máximos registrados dessas estruturas foram de 26,10 mm para o cefalotórax; 86,30 mm para o tamanho do corpo; 5,20 mm para o tamanho do olho e o peso máximo do camarão foi de 12,86 g. Os menores valores registrados dessas estruturas foram de 12,30 para o cefalotórax; 43,40 (mm) para o tamanho do corpo; 2,90 mm para o tamanho do olho e o peso mínimo do camarão foi de 0,36 g (Tab. 02).

Tabela 02: Valores médios de morfometria de fêmeas *Macrobrachium amazonicum* para as variáveis cefalotórax, tamanho do corpo, comprimento total olho e peso do camarão coletados no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010.

	Estruturas do Camarão			
	Cefalotórax (mm)	Tamanho do Corpo (mm)	Olho Total (mm)	Peso (g)
Média	16,99	57,99	3,04	2,83
Desvio Padrão	2,78	8,64	0,45	0,43
Mínimo	12,30	43,40	2,90	0,36
Mediana	17,20	58,60	3,09	2,80
Máximo	26,10	86,30	5,20	12,86

Para todos os pontos observados, o Coeficiente de determinação (r^2), indica que 0,73 ($r = 0,85$) da variação sendo explicada pela regressão representada da variação total, ou seja, as duas variáveis estão relacionadas e a associação entre as duas é boa, com 0,85 da variação do olho sendo explicada pela variação do tamanho do cefalotórax. Os 0,27 que sobraram, variam de acordo com fenômenos aleatórios. De acordo com o gráfico da Figura 12, observamos que existe entre as duas variáveis uma correlação linear positiva, pois o tamanho do olho aumenta à medida que o tamanho do cefalotórax aumenta.

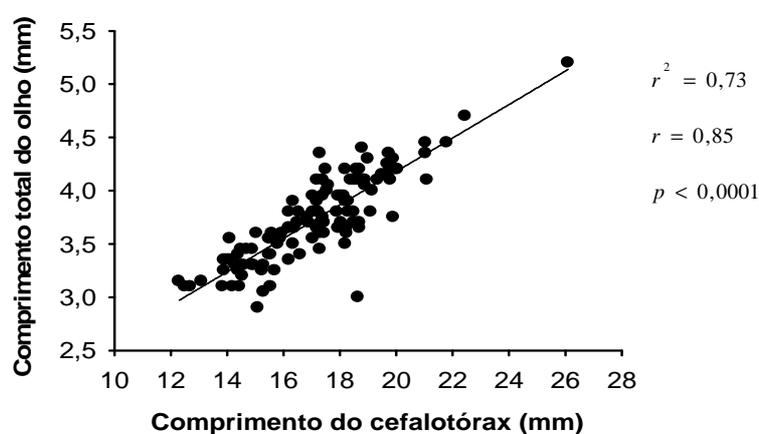


Figura 12. Diagrama de dispersão de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* para às variáveis olho total e cefalotórax do camarão coletadas no distrito de Mosqueiro nos períodos de chuvas, março de 2009 e março de 2010.

3.2 HISTOLOGIA DO OLHO DE *M. amazonicum*

Após análise histológica foram identificadas as seguintes estruturas (Figs. 13 e 14 A-B): córnea, cone cristalino, pigmento distal, haste do cone, zona clara, cutícula, retina, rabdoma, fibras do nervo óptico e lamina.

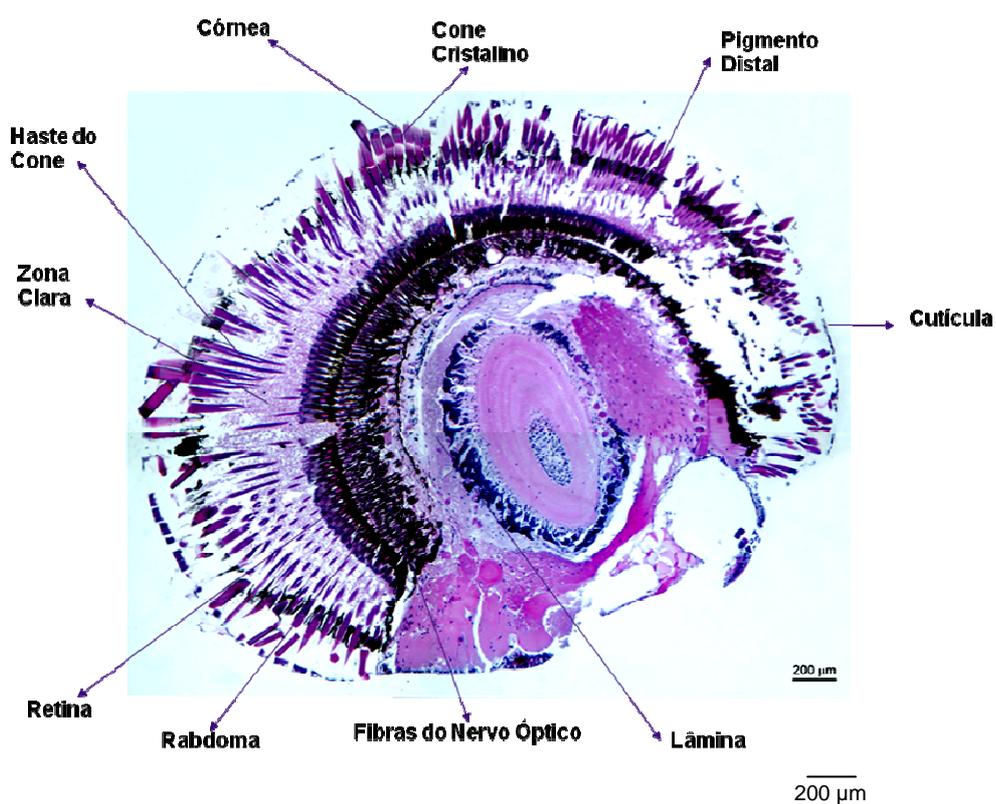
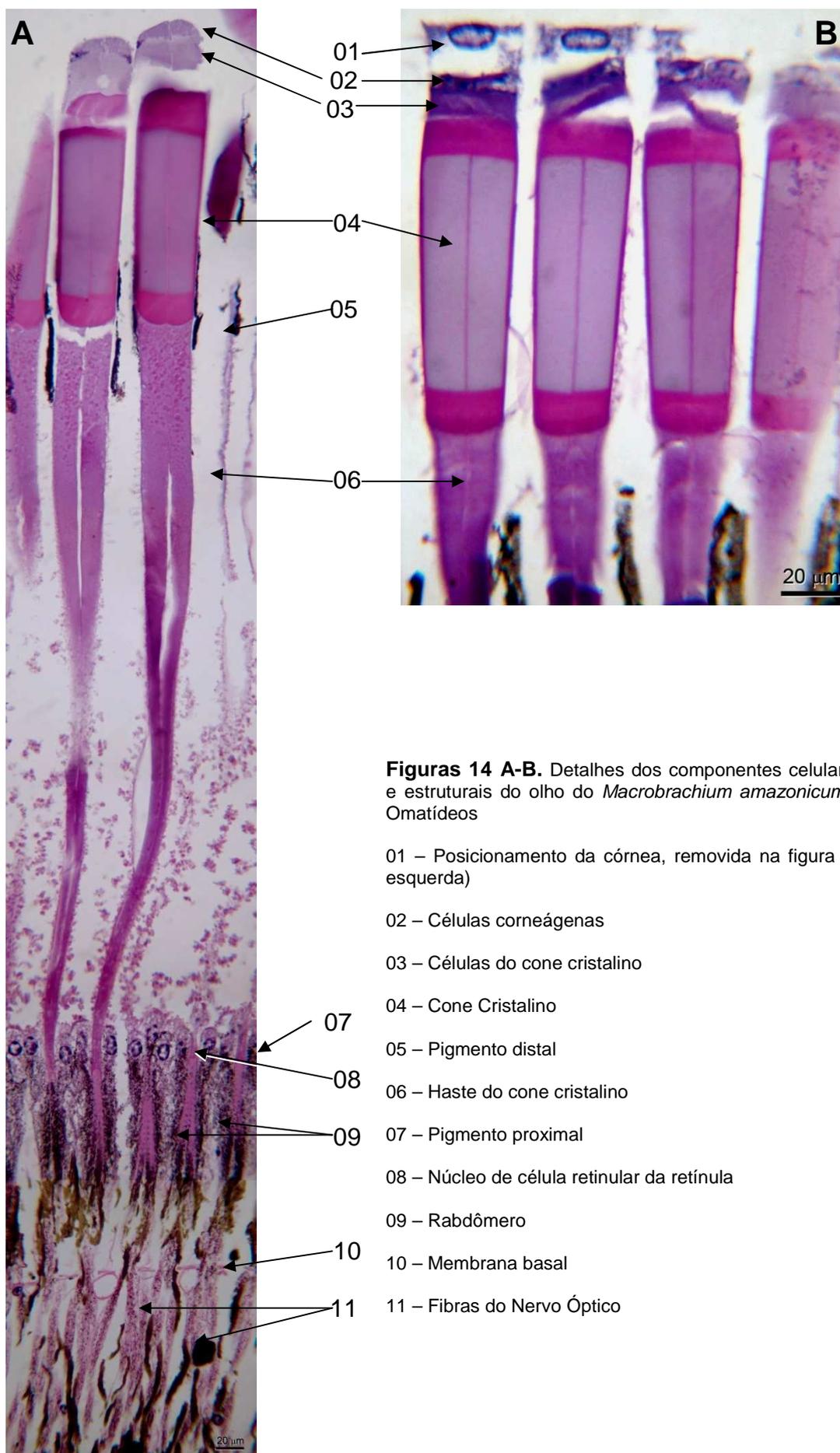


Figura 13. Imagem panorâmica de corte transversal do olho do camarão *M. amazonicum*: observe a extensão da retina em corte radial, na região do maior diâmetro do olho. Coloração: hematoxilina e eosina.



Figuras 14 A-B. Detalhes dos componentes celulares e estruturais do olho do *Macrobrachium amazonicum* – Omatídeos

01 – Posicionamento da córnea, removida na figura da esquerda)

02 – Células corneágenas

03 – Células do cone cristalino

04 – Cone Cristalino

05 – Pigmento distal

06 – Haste do cone cristalino

07 – Pigmento proximal

08 – Núcleo de célula retinular da retinula

09 – Rabdômero

10 – Membrana basal

11 – Fibras do Nervo Óptico

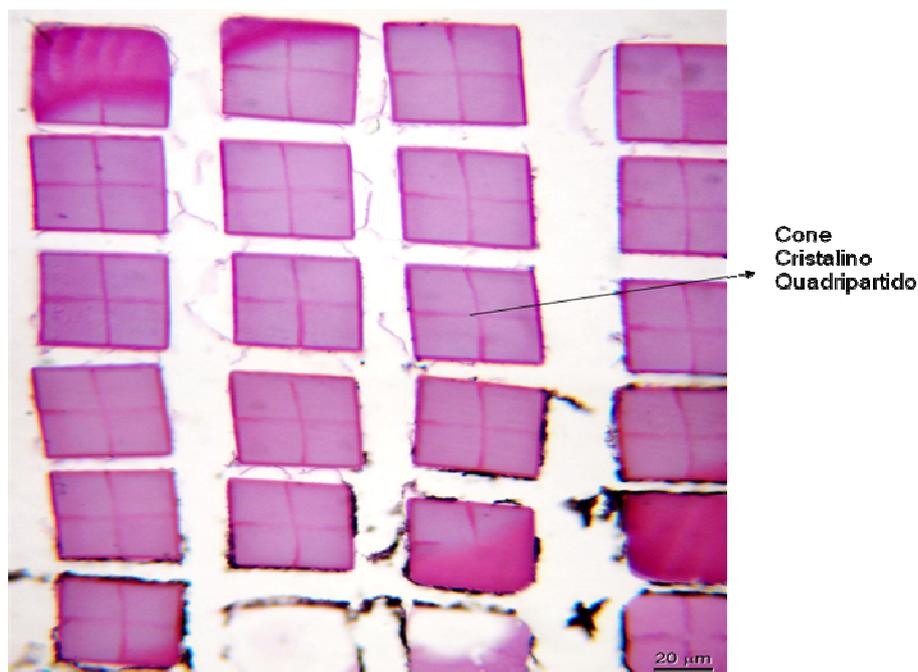


Figura 15. Seção transversal da região que corresponde ao cristalino, onde se observa o formato em ângulo reto do perímetro celular dos omatídeos, conferindo que estas estruturas têm uma seção transversal quadrada.

Cada olho composto do *M. amazonicum* é constituído de várias unidades ópticas independentes chamadas omatídeos. A porção dióptrica contém uma córnea, que surge a partir das células corneagênicas que ficam abaixo destas, em seguida o cone cristalino quadripartido (Fig. 15), cuja região mais larga está em posição distal, apresentando em sua face externa, células pigmentares distais, e a mais estreita estende-se em direção as células retinulares que podem ser chamadas de rabdômeros. Próximo a estas células foram encontradas células pigmentares proximais. Os omatídeos de *M. amazonicum* apresentaram todas as camadas típicas de crustáceos com olhos de superposição, onde o aparelho dióptrico e o rabdômero se estendem em camadas e está separado por uma zona clara não pigmentada (Figs. 13 e 14 A-B).

O omatídeo caracterizou-se pela forma de unidade alongada que consiste, tipicamente, de uma lente córnea, um cone cristalino, oito células retinulares ou fotorreceptores e duas células pigmentares (Figs. 13 e 14 A). As células fotorreceptoras possuem o núcleo localizado logo abaixo do trato cristalino e, do total de oito células, sete fotorreceptores formam um grande rabdômero fusiforme

com camadas alternadas de microvilos horizontais e verticais (Fig.14 A). O oitavo fotorreceptor forma um rabdômero distal separado, sendo constituído somente por microvilos horizontais (Fig.14 A). O rabdômero é um elemento refringente localizado no eixo omatidial, sendo uma parte importante da retina (Fig.14 A).

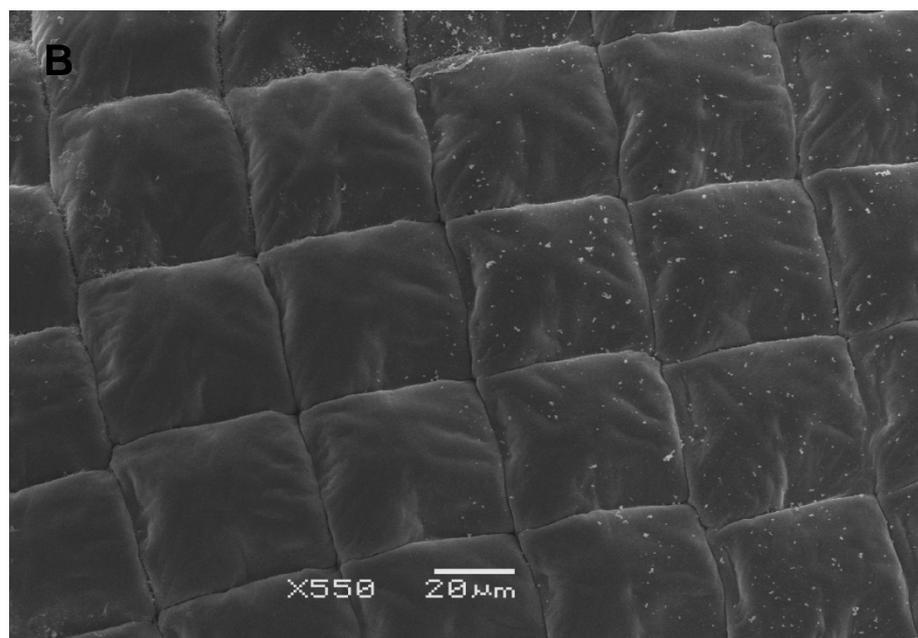
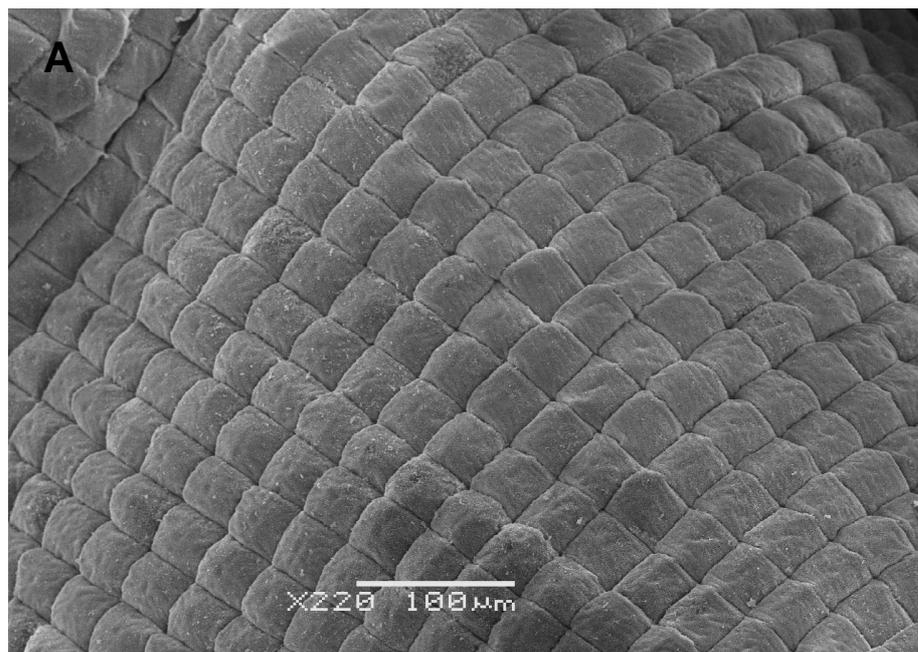
A córnea é representada por uma camada de células pavimentosas, sendo considerada a camada mais externa da região dióptrica (Figs.13 e 14 A-B).

A célula retinular, epitelial, apresentou formato cilíndrico e sua membrana apical se alonga para formar um arranjo de microvilosidades, surgindo assim os rabdômeros. Cada rabdômero caracterizou-se como único, contínuo e isolado opticamente e seus microvilos se estendendo ao longo do eixo central do omatídeo (Fig.14 A). O pedúnculo óptico apresentou-se como uma estrutura que contém o olho composto, os gânglios ópticos (lâmina ganglionar, medula externa e medula interna), órgãos neurosecretores e, para a maioria dos crustáceos, componentes do protocérebro lateral (medula terminal e corpo hemielipsóide) (Fig.13). A lâmina ganglionar formou o gânglio que situado imediatamente após a retina, sendo seguida pela medula externa e pela medula interna, respectivamente.

3.3 Anatomia de superfície do olho de *M. amazonicum*

Com relação à microscopia eletrônica de varredura, foram selecionadas para observação as principais estruturas e especialmente o arranjo em seção transversal quadrada dos omatídeos (Figs. 16 A-B).

O exoesqueleto do olho de *M. amazonicum* apresentou visivelmente perímetro em ângulos retos dos omatídeos, onde se observa nitidamente a forma quadrada dos mesmos (Figs. 16 A-B). Detalhes da cutícula esquelética posicionada internamente ao esqueleto externo ressaltam os encaixes para todas as córneas dos omatídeos, aparentando seu aspecto de molde para o formato da córnea (Figs. 17 e 18).



Figuras 16 A-B. Detalhes da superfície da cutícula esquelética do olho de *M. amazonicum*. Observar o formato de quadrado do perímetro em ângulos retos dos omatídeos.

Aspectos gerais do exoesqueleto e da cutícula podem ser observados na Figura 17, a seguir.

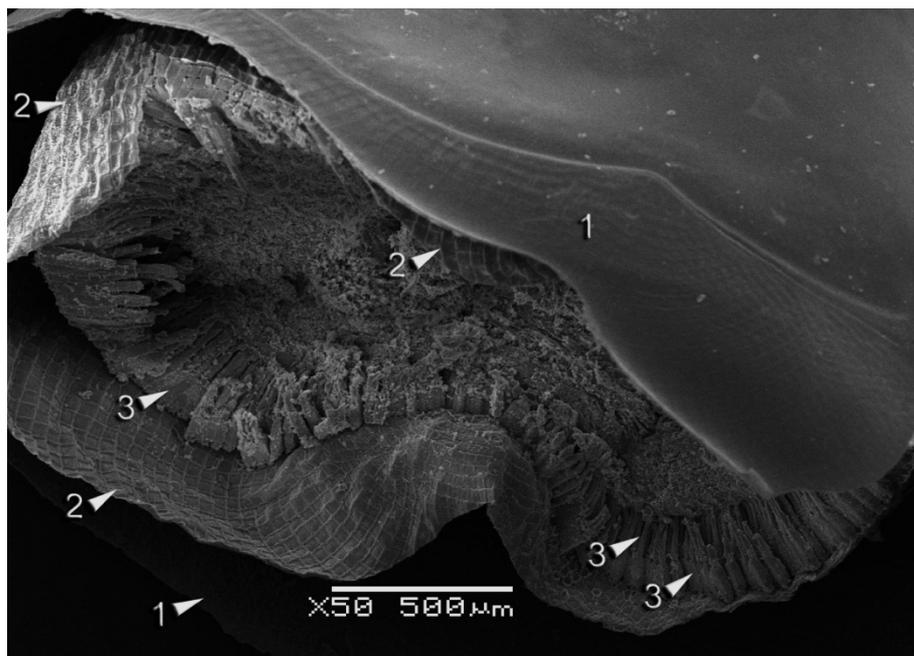


Figura 17. Visão transversal de olho de *M. amazonicum*, mostrando: 1 – Esqueleto externo, 2 – Cutícula esquelética, 3 – Omatídeos

A Figura 18 destaca a visão detalhada da cutícula esquelética, com os “moldes” ou encaixes das córneas na região interna.

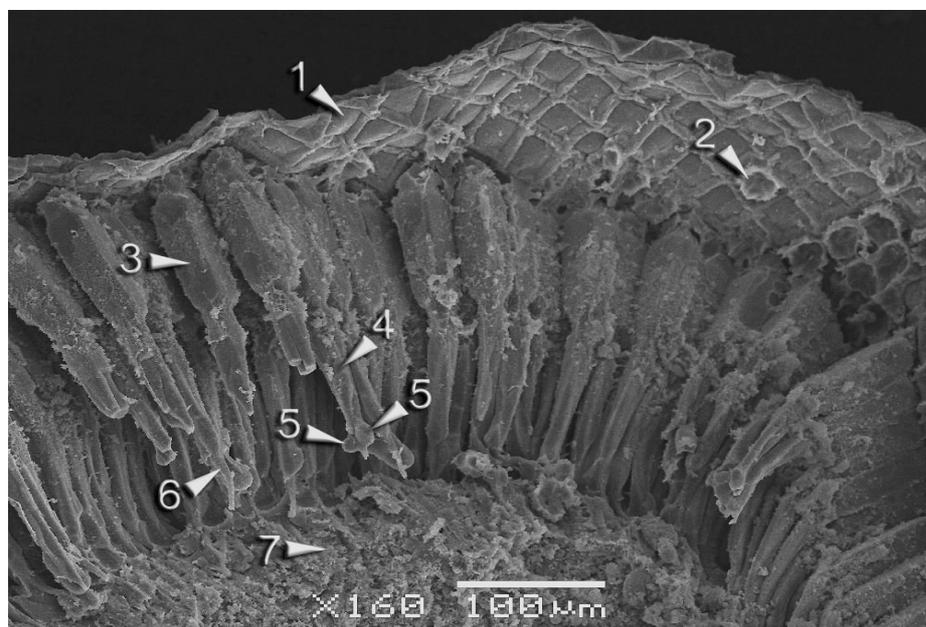


Figura 18. Visão longitudinal de omatídeos: 1 – Cutícula esquelética, 2 – Células corneágenas (desprendidas do cone cristalino), 3 – Cone cristalino 4 – Haste do cone cristalino, 5 – Células retinulares, 6 – Rabdômero, 7 – Fibras do nervo óptico

A Figura 19 destaca a superfície marmilonada dos omatídeos quadripartidos independentes

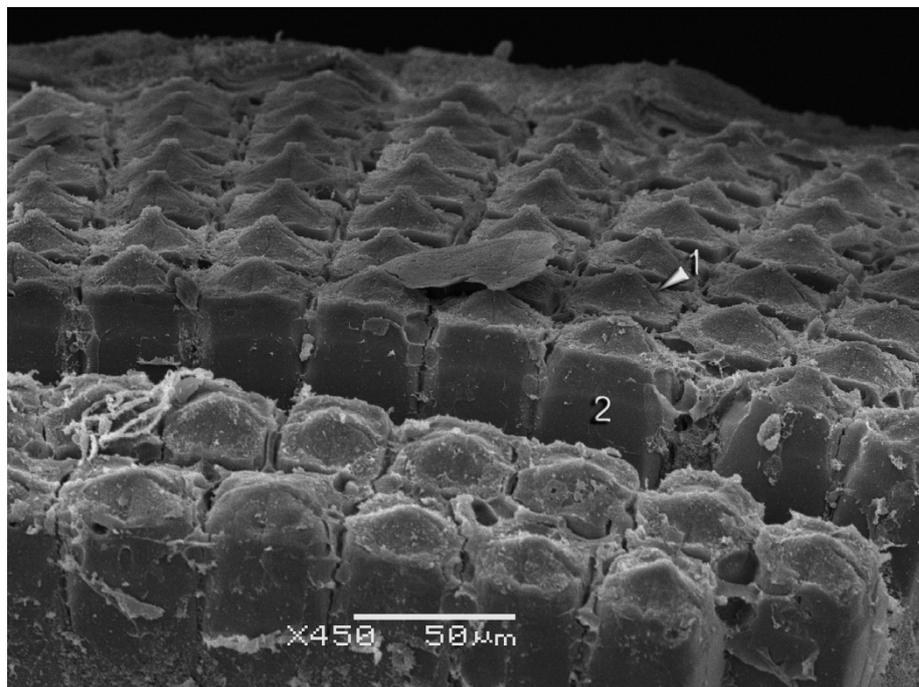


Figura 19. Superfície dos omatídeos: 1 – Células do cone cristalino (quatro células por omatídeo), 2 – Cone cristalino

Na Figura 20 foi possível reconhecer a córnea (seta 2) em um dos omatídeos. Note como é possível observar o local de encaixe abaixo, na cutícula esquelética.

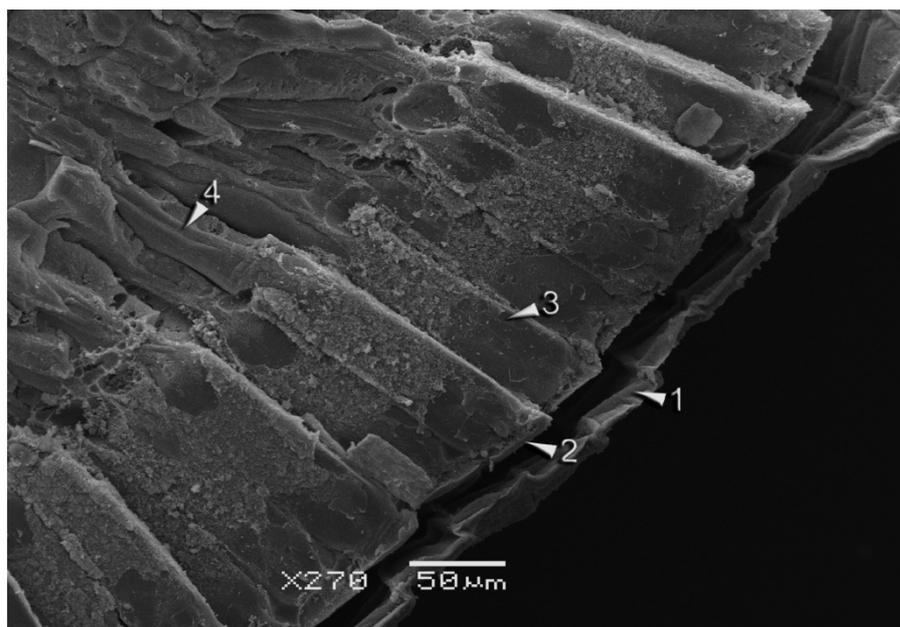


Figura 20. Visão longitudinal de omatídeos: 1 – Cutícula esquelética; 2 – Córnea; 3 – Cone cristalino; 4 – Haste do cone cristalino

Analisando a visão superior dos omatídeos é possível notar, a estrutura em quadrados da cutícula esquelética e a relação entre os omatídeos e as córneas, com dimensões menores do que os quadrados externos da cutícula esquelética que são mais delgadas e separadas, diferentemente do que acontece na cutícula (Fig. 21).

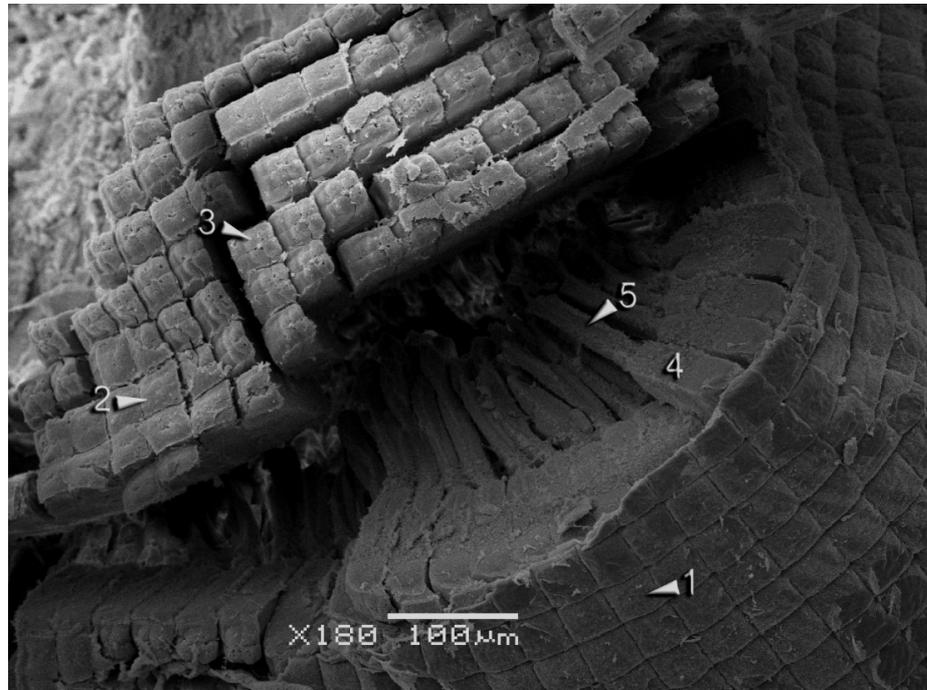


Figura 21. Visão superior da região anterior do olho em amostra: 1 – Cutícula esquelética (observar o arranjo em quadrados), 2 – Córnea, 3 – Células do cone cristalino (quatro células por omatídeo), 4 – Cone cristalino, 5 – Haste do cone cristalino

4 DISCUSSÃO

Os espécimes adultos de *M. amazonicum* apresentam olhos compostos bem desenvolvidos e bastante pigmentados, típicos de decápodes, sendo especialmente empregados para tarefas mais elaboradas, como: navegação, reconhecimento, captura de presas, visão espacial, seleção de parceiros e comunicação (CRONIN, 1986).

Esses olhos são caracterizados por unidades fotorreceptoras chamadas omatídeos, sendo que cada omatídeo é suprido por seu próprio nervo com conexão ao nervo óptico para formação da imagem através do impulso nervoso (BRUSCA e BRUSCA, 2003).

Quando cada omatídeo responde à luz de seu próprio cone cristalino, a imagem é formada por aposição; portanto o olho é adaptado à luz e forma uma imagem com melhor resolução. Assim quando cada omatídeo responde à luz de vários cones cristalinos forma-se uma imagem por superposição, portanto utilizam menos luz e, conseqüentemente, apresentam maior sensibilidade (BRUSCA e BRUSCA, 2003).

Os parentes mais próximos dos decápodes, como o *krill* (*Euphausiids* sp), possuem olhos de superposição reflexiva, mas as larvas de camarões decápodes têm olhos de aposição com facetas hexagonais, que mudam durante a metamorfose para olhos de superposição, com facetas quadradas (LAND,1981). No *M. amazonicum* deste estudo, observamos correspondência ao descrito por Cronin em (1986).

Em *M. rosenbergii* as superfícies externas dos omatídeos de larvas apresentam um arranjo hexagonal regular. À medida que a ontogênese ocorre, o número de omatídeos aumenta e mudam para facetas quadradas (HENRIQUES, 2006), semelhante ao observado por nós em *M. amazonicum*.

De acordo com Land em (1981) e Martin em (1992), esta transformação sugere que o olho de aposição é ancestral, e que o desenvolvimento do sistema

óptico de superposição reflexiva surgiu devido à necessidade em produzir uma imagem mais brilhante em um ambiente com menos luminosidade, como no caso do ambiente bentônico ou em águas turvas ou escuras. Sistema este que também deve ocorrer em *M. amazonicum* analisado por nós.

Nesse estudo, observou-se que os adultos de *M. amazonicum* possui estruturas ópticas de superposição reflexiva, que foram observadas histologicamente e cujos componentes celulares e estruturais dos omatídeos são: 1 – córnea; 2 – Células corneágenas; 3 – Células do cone cristalino; 4 – Cone Cristalino; 5 – Pigmento distal; 6 – Haste do cone cristalino; 7 – Pigmento proximal; 8 – Núcleo de célula retinular da retínula; 9 – Rabdômero; 10 – Membrana basal; 11 – Fibras do Nervo Óptico. A seção transversal da região que corresponde ao cristalino possui estruturas com facetas quadripartidas refringentes, provavelmente por serem de ambiente com águas turvas, o que limita a incidência de luz. Isto é similar ao observado em outros decápodes adultos como descrito em Stomatopoda (LAND e CRONIN, 1991) e em *M. rosenbergii* (HENRIQUES, 2006).

As características da cutícula esquelética, com uma estrutura que se molda sobre as córneas na região interna, e a estrutura em quadrados da cutícula esquelética e alguns omatídeos com as córneas com dimensões menores do que os quadrados externos da cutícula esquelética, provavelmente representam novos dados sobre a morfologia que envolve o encaixe entre os omatídeos e a cutícula externa.

Macrobrachium amazonicum, assim como o *M. rosenbergii*, deve apresentar comportamento social, pois mecanismos de manutenção de interatividade estão associados a estímulos visuais, químicos e táteis de acordo com Karplus *et al.* (2000). Machos de morfotipos diferentes exibem quelípodos de cores diferentes, sugerindo que os adultos devem distinguir cores. Além disso, o reconhecimento dos machos dominantes pelas fêmeas também deve estar associado a estímulos visuais, químicos ou táteis (HENRIQUES, 2006). A morfologia óptica descrita neste trabalho para o *Macrobrachium amazonicum*, permite a visualização de cores. Assim, a presença de receptores para percepção de estímulos visuais, as relações sociais provavelmente devem ser importantes.

Em crustáceos decápodes, podem ocorrer alterações na relação entre regiões do corpo durante o processo de desenvolvimento (SIMPSON *et al.*, 1960; TEISSIER, 1960; HARTNOLL, 1978, 1982).

Estes autores sugerem que o estudo das relações entre o crescimento do olho total e de outras porções do corpo, como por exemplo, tamanho do cefalotórax e do comprimento do corpo ou talvez o peso, pode fornecer informações importantes para a determinação de padrões comportamentais, de mecanismos de manutenção da estrutura social e, talvez, do tamanho ideal para a captura ou de pesca.

Similar ao observado por Teissier (1960) e Hartnoll (1978) e (1982), observamos que o pedúnculo ocular dos crustáceos abriga células omatidiais com capacidade de percepção de estímulos visuais, para o reconhecimento dos machos dominantes pelas fêmeas e de células neuro-secretoras, responsáveis pela produção, estocagem e distribuição de hormônios reguladores da muda, gametogênese, controle da intensidade de pigmentação e coloração epidérmica.

Este conhecimento das relações entre as várias partes do corpo possibilita a interconversão de dados morfométricos, e constitui-se em subsídio importante para a delimitação de populações e para vários estudos taxonômicos (TEISSIER, 1960; HARTNOLL, 1978, 1982).

O comprimento total máximo do corpo foi de 10 cm e 8,6 cm, para machos e fêmeas, respectivamente, encontrados para *M. amazonicum* no distrito de Mosqueiro, o que foi bastante inferior ao encontrado nos municípios de Vigia 14,4 cm e 10,7 cm machos e fêmeas (SILVA, 2002), para o Açude de Rômulo Campos na Bahia, 17,8 cm para machos (BORGES, 2003), Ilha do Combu - PA (14,1 cm) por Silva (2007) para machos e no baixo Tocantins, 13,2cm para machos (ODINETZ-COLLART, 1987), e semelhante ao registrado para Ilha do Careiro na Amazônia central, 10,6 cm para machos feito por Odinetz-Collart e Moreira (1993)

Segundo Valenti (1987) em camarões de água doce do gênero *Macrobrachium*, os machos adultos atingem tamanhos, em geral, maiores que as fêmeas. Em nosso estudo os espécimes machos e fêmeas apresentam o cefalotórax

e o segundo quelípodo proporcionalmente mais desenvolvidos, concordando com Silva (2002). Esta diferença de tamanho entre sexos, pode estar associada ao fato das fêmeas realizarem ecdises (mudas) pré e pós desova. Assim nos representantes coletados no distrito de Mosqueiro esta estatística se confirma.

Moraes-Riodades e Valenti (2002) encontraram alometria negativa no crescimento de *M. amazonicum* criados em viveiros, quando relacionou o comprimento total com o comprimento do cefalotórax. Entretanto, Antunes e Oshiro (2004) analisaram as relações biométricas de *M. pontiuna* e obtiveram alometria positiva tanto para machos, quanto para fêmeas entre o comprimento total e comprimento do cefalotórax.

Neste trabalho, foram estabelecidas análises para as variáveis presentes nas Tabelas 1 e 2, como por exemplo: corpo total, peso, cefalotórax, correlacionadas com o comprimento do olho, onde todas apresentaram alometria positiva, mas no entanto, fizemos a escolha pela correlação entre o comprimento do cefalotórax e o comprimento do olho total do *Macrobrachium amazonicum*, pois apresentou um bom coeficiente de determinação $r^2 = 0,73$ ($r = 0,85$) para fêmeas e nos machos $r^2 =$ para o **morfotipo TC** = 0,35 ($r = 0,60$); **morfotipo CC** = 0,49 ($r = 0,70$); **morfotipo GC1** = 0,53 ($r = 0,72$), **morfotipo GC2** = 0,29 ($r = 0,53$).

Portanto, as análises morfométrica e morfológica (por histologia e microscopia eletrônica de varredura) apontaram características próprias de *Macrobrachium amazonicum* adultos oriundos da região metropolitana de Belém. Estes achados incluem uma óptica de superposição reflexiva com olhos adaptados a percepção de estímulos luminosos.

5 CONCLUSÃO

- Nos olhos compostos do *Macrobrachium amazonicum* encontramos estruturas sensitivas que permitem a percepção de estímulos luminosos, desempenhando papel provavelmente importante na sobrevivência da espécie.
- O olho do *Macrobrachium amazonicum* segue o padrão geral dos crustáceos adultos, ou seja, olhos de superposição reflexiva.
- Nas análises biométricas de *Macrobrachium amazonicum* foram obtidas alometrias lineares positivas para todos os modelos de associação, tanto para machos, quanto para fêmeas.
- O modelo que explica melhor a associação entre as variáveis, tanto nos machos quanto nas fêmeas, seria olho total x cefalotórax, pois apresentou um bom coeficiente de determinação $r^2 = 0,73$ ($r = 0,85$) para fêmeas e nos machos $r^2 =$ para o **morfotipo TC** = 0,35 ($r = 0,60$); **morfotipo CC** = 0,49 ($r = 0,70$); **morfotipo GC1** = 0,53 ($r = 0,72$), **morfotipo GC2** = 0,29 ($r = 0,53$).

6 REFERÊNCIAS

BELL, T. A.; LIGHTNER, D. V. A handbook of normal penaeid shrimp histology. **The World Aquaculture Society**. 1988.

BERNHARD, C. G.; OTTOSON, D. Quantitative studies on pigment migration and light sensitivity in the compound eye at different light intensities. **The Journal of General Physiology**. v. 47, 1964; p. 465-478,

BRUSCA, R. C.; BRUSCA, G. J. Invertebrates. 2 ed. **Sinauer Associates**. 2003; 936p.

CARNEIRO, P. C. F.; SCHORER, M.; MIKOS, J. D. Tratamentos terapêuticos convencionais no controle do ectoparasita *Ichthyophthirius multifiliis* em jundiá (*Rhamdia quelen*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 2005; 40: 99-102.

CRONIN, T. W. Optical design and evolutionary adaptation in crustacean compound eyes. **J. Crust. Biol.** 1986; 61-23.

CUNHA Jr, M.V.M. Análise multidimensional de dados categóricos: A aplicação das análises de correspondência simples e múltipla em marketing e sua integração com técnicas de análise de dados quantitativos. **Rio Grande do Sul: UFRGS**. 1997.

ELOFSSON, R.; DAHL, E. The optic neuropiles and chiasmata of crustacea. **Z. Zellforsch.** 1970; 107, 343-360.

ELOFSSON, R.; HAGBERG, M. Evolutionary aspects on the construction of the first optic neuropil (lamina) in Crustacea. **Zoomorphology**.1986; 106: 174-178.

FERREIRA, E. J. G.; SANTOS, G. M.; LEÃO, E. L. M.; OLIVEIRA, L. A. Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da amazônia, vol. 2. **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**. Manaus. 1993.

GATEN, E. Optics and phylogeny: is there an insight? The evolution of superposition eyes in the decapoda (crustacea). **University of Leicester, Department of Biology**. LE1 7RH, Leicester, U.K -Contributions to Zoology. 1998; 67 (4) 223-236.

HÁMORI, J.; HORRIDGE, G. A. The lobster optic lamina I. **General organization. F. cell sci. I**. 1966; 249-256.

HARTNOLL, R.G. The determination of relative growth in crustacea. **Crustaceana, Leiden**. 1978; 34(3):281-93.

HARTNOLL, R.G. Growth. In: BLISS, D.E. (ed.), The biology of crustacea. embryology, morphology and genetics. New York, **Academic Press**. 1982; inc. v. 2, p. 111- 96.

HARZSCH, S.; GLOTZNER, J. Immunohistochemical study of structure and development of the nervous system in the brine shrimp *Artemia salina* Linneus, 1758

(Branchiopoda, Anostraca) with remarks on the evolution of the arthropod brain. **Arthropod Structure & Development**. 2002; 30. 251-270.

HENRIQUES, V. M. C. Desenvolvimento ontogenético de estruturas sensoriais em *Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879), (Crustacea, Palaemonidae). Jaboticabal, **Centro de aquicultura da UNESP**. 2006

HILLER-ADAMS, P.; CASE, J. F. Optical parameters of the eyes of some benthic decapods as a function of habitat depth (Crustacea, Decapoda). **Zoomorphology**. 1985; 105: 108-113.

KARPLUS, I.; MALECHA, S. R.; SAGI, A. The biology and management of size variation. In: NEW M. B.; VALENTI. Freshwater Prawn Culture. **Blackwell Science, Oxford-England**. 2000; p.259-289.

LAND, M. F.; FERNALD, R. D. The evolution of eyes. **Annu. Rev. Neurosci.** 1992; 15:1-29.

LAND, M. F. Eyes with mirror optics. REVIEW ARTICLE . **School of Biological Sciences**, University of Sussex, Brighton BN1 9QG, UK. 2000.

LAND, M. F. The optical structures of animal eyes. **Magazine. Current Biology Vol 15 No 9 School of Life Sciences**, University of Sussex, Brighton BN1 9QG, UK. 2002.

LAND, M.F.; NILSSON, D-E. Animal eyes. **Oxford University Press**.2002.

LOBÃO, V. L.; ROVERSO, E. A.; LACE, M.; HORTENCIO, E. Ciclo de muda e crescimento em *Macrobrachium amazonicum* HELLER, 1862 e *Macrobrachium rosenbergii* De Man (Decapoda, Palaemonidae). **B. Inst. Pesca** 1996; 23: 31-45.

MACIEL, C. R. Alimentação do camarão-da-amazonia *M. amazonicum* durante a fase larval. Jaboticabal, 2007; xv, 122f

MARTIN, G. Branchiopoda. In: HARRISON F. W.; HUMES, A. G. **Crustacea Humesp**. 1992; p. 200-215.

MELO, S. G.; BROSSI-GARCIA, A. L. Desenvolvimento larval de *Macrobrachium birai* Lobão, Melo e Fernandes (Crustacea, Decapoda, Caridea, Palaemonidae) em laboratório. **Rev. Bras. Zool. vol.22 no.1** Curitiba. 2005.

MEYER-ROCHOW, V. B.; GÁL, J. Dimensional limits for arthropod eyes with superposition optics. **Vision Research** 44. 2004.

MORAES-RIODADES, P.M.C.; Valenti, W.C. Freshwater prawn farming in brazilian shows potential for economic and social development. **Global Aquaculture Advocate, Saint Louis**. 2001; 4(5):73-74.

NILSSON, D-E. Three unexpected cases of refracting superposition eyes in crustaceans. **J. comp. Physiol. A**, 1990; 167: 71-78.

NILSSON, D-E; KELBER, A. A functional analysis of compound eye evolution. **Arthropod Structure & Development**, 2007; 1-13.

ODINETZ-COLLART, O. Aspectos ecológicos do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) no Baixo Tocantins (PA- Brasil). **Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Tomo XLVIII**. 1988.

ODINETZ-COLLART, O. Ecologia e Potencial Pesqueiro do Camarão-Canela, *Macrobrachium amazonicum*, na Bacia Amazônica. **Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia, vol. 2. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**, Manaus. 1993.

ODINETZ-COLLART, O. Ecologia e Potencial pesqueiro do camarão-canela *Macrobrachium amazonicum* na Bacia Amazônica. In FERREIRA, E. J. G. *et. al.* (Eds.) **Bases Científicas para Estratégias de Preservação e desenvolvimento da Amazônia**. INPA. 1993; (2): 147-166

ODINETZ-COLLART, O. ; Moreira, L. C. Potencial pesqueiro do camarão *Macrobrachium amazonicum* na Amazônia central (Ilha Careiro). **Amazoniana**. 1993; 12 (3/4): 399-413.

SANDEMAN, D.; SANDEMAN, R.; DERBY, C.; SCHMIDT, M. Morphology of the brain of crayfish, crabs, and spiny lobsters: A common nomenclature for homologous structures. **Reference: Bid. Bull.** 1992; 183: 304-326.

SCORVO FILHO, J. D. Legislação da aquicultura e atuação governamental. In: **I Congresso da Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**. Vitória. Anais. 2004; p. 49.

SILVA, M. C. N.; FRÉDOU, F. L.; FILHO, J. S. R. Estudo do crescimento do camarão *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) Da Ilha De Combú, Belém, Estado Do Pará. **Amazônia: Ci. & Desenv.**, Belém, v. 2, n. 4, jan./jun. 2007.

SIMPSON, G.G.; A. ROE; R.C. LEWONTIN. Quantitative zoology. New York, **Harcourt, Brace & Company**. 1960; 440p.

STRAUSFELD, N. J. The evolution of crustacean and insect optic lobes and the origins of chiasmata. **Arthropod Structure & Development** 2005; 34: 235–256.

STRUWE, G.; HALLBERG, E.; ELOFSSON, R. The physical and morphological properties of the pigment screen in the compound eye of a shrimp (Crustacea). **J. comp. Physiol.** 1975; 97, 257-270.

TEISSIER, G. Relative growth. In: WATERMAN, T.H. (ed.) The physiology of crustacea. New York, **Academic Press**. V. 1, 1960; p.537-60.

VALENTI, W. C. *Cultivo de camarões de água doce*. São Paulo, Nobel. 82p. 1985.

VALENTI, W. C.; DANIELS, W. H. Recirculation hatchery systems and management. In: NEW M. B; VALENTI. Freshwater prawn culture. **Blackwell Science**, Oxford-England. 2000; p. 69-89.

VALENTI, W. C. Comportamento reprodutivo de camarões de água doce. In: **ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 5.**, Jaboticabal, SP. Anais... Jaboticabal, 1987. p. 195-202.