

USO DA MICROSCOPIA CONFOCAL (CLSM) NO ESTUDO DE ÁCAROS TARSONEMÍDEOS (PROSTIGMATA: TARSONEMIDAE)

J.M. Rezende¹, C. Gulbranson², G. Bauchan², R. Ochoa³ & A.C. Lofego¹

¹Depto. de Zoologia e Botânica, IBILCE, UNESP, São José do Rio Preto, SP, Brasil;

²Electron and Confocal Microscopy Unit, USDA, Beltsville MD, USA; ³Systematic Entomology Laboratory, USDA, Beltsville MD, USA.

Ácaros possuem auto-fluorescência natural em determinadas estruturas, tais como a cutícula do exoesqueleto e alguns órgãos internos, permitindo o uso da microscopia confocal (CLSM – confocal laser scanning microscopy) em seu estudo, sem qualquer adição de fluorocromos. O CLSM produz imagens nítidas de espécimes naturalmente fluorescentes, ao excluir a luz periférica relativa ao plano focal pretendido. Através de softwares específicos, são capturadas secções transversais ultra-finas ($\pm 1\mu\text{m}$), que podem ser compiladas em imagens 3D manipuláveis. Com o intuito de testar a viabilidade desta técnica para o estudo de ácaros tarsonemídeos, foram feitas imagens em CLSM de 36 gêneros, representantes das três tribos de Tarsonemidae; além de lâminas com diferentes tempos de montagem, para comparação dos resultados. Foi utilizado um microscópio confocal Zeiss 710 equipado com um sistema de quatro lasers: azul (405-750 nm), azul-claro (505-750 nm), verde (550-750 nm) e vermelho (650-800 nm); seis lentes objetivas (10x, 20x, 25x, 40x, 63x and 100x); além de um computador acoplado ao microscópio e munido do software ZEN 2.3 (blue edition), usado para compilar e analisar as imagens obtidas. Observou-se que os espectros verde (488 nm) e vermelho (561 nm) são os mais eficazes para discernimento das estruturas; contudo, o espectro azul (405 nm) também pode ser utilizado para a obtenção de contraste. De maneira geral, o CLSM mostrou-se bastante útil na visualização estruturas externas (tegumento e setas) e internas (faringe, apódemas, cecos digestivos e órgãos reprodutivos). Também foi possível observar detalhes pouco visíveis em microscopia óptica, tais como feixes de fibras musculares e microestruturas gnatosomais. Ácaros coletados e montados em lâminas contendo meio de Hoyer há menos de um ano antes do exame sob o CLSM mostraram-se altamente auto-fluorescentes, fornecendo imagens satisfatórias para estudo. Já parte das lâminas com mais de 10 anos apresentaram visualização prejudicada, devido à cristalização do meio e desgaste natural da lâmina. A força aplicada sobre a lamínula no ato da montagem também influencia a visualização sob CLSM, pois ácaros muito achatados produzem imagens com menor número de secções, reduzindo o detalhamento e inviabilizando a modelagem 3D do espécime. O CLSM representa uma técnica promissora para estudos de Tarsonemidae, devido à possibilidade de análise tridimensional de ácaros em lâminas.

Palavras-chave: acarofauna, diversidade, Heterostigmata, sistemática, taxonomia.

Financiamento: FAPESP.