

# O EQUIPAMENTO ENZIMÁTICO DO APARELHO DIGESTIVO DE *AUSTRALORBIS GLABRATUS* (*Mollusca-Gastropoda.*)

I — Invertase do estômago.

**Bento Magalhães Neto**

(Instituto Aggeu Magalhães — Recife).

(2 figuras)

A necessidade de um melhor conhecimento da biologia dos caramujos do gênero *Australorbis*, um dos hospedeiros intermediários do Esquistossoma, nos levou ao estudo da fisiologia destes animais.

Em trabalho anterior (1) tivemos ocasião de determinar a ação de diversos fatores sobre o consumo de oxigênio.

Iniciamos, agora, uma série de trabalhos sobre um outro ponto de grande importância, que é a nutrição, estudando o equipamento enzimático do aparelho digestivo, ponto de partida para o estudo do regime alimentar desses moluscos.

Para isto, fizemos um extrato de tecidos dos moluscos da seguinte maneira :

Os animais foram mantidos em jejum durante 24 horas em um cristallizador com água previamente filtrada, do mesmo tanque em que vivem. Após esse tempo foram cuidadosamente retirados da casca, por esmagamento desta, afim de evitar a lesão dos órgãos em estudo.

Uma vez dissecado o molusco separámos o estômago e o hépatopâncreas e fizemos as provas separadamente para os dois órgãos. No presente trabalho trataremos somente das experiências relativas ao estômago.

Empregamos 50 animais com um diâmetro médio de 25 mm. Os estômagos retirados, de grs. 0,636 de peso, foram triturados com areia e uma mistura de glicerol e água, em partes iguais, segundo a técnica de ROGERS (2). Após a trituração, o material foi filtrado em funil de Buchner e completado o volume de 64 ml com glicerol a 50%, de modo que cada ml do extrato correspondesse a 0.01 g de estômago. A este extrato juntaram-se algumas gotas de tolueno e conservou-se no refrigerador.

Como pesquisa inicial no extrato dos tecidos fizemos a determinação de invertase no estômago e no hépatopâncreas. Nêste último as pesquisas foram negativas, ao passo que no estômago revelou-se a presença de uma invertase.

Como substrato utilizámos uma solução tamponada de sacarose preparada conforme preceitúa GAVIER (3), fazendo agir o extrato de tecidos durante 72 horas, a pH diferentes e da maneira seguinte :

Sol. de sacarose a 4%	12,5 ml.
Sol. tampão de fosfatos a 0,2 M	25,0 ml.
Extrato de tecidos	2,0 ml.

Os resultados estão expressos em mg. de redutores no volume de 39,5 ml.

pH	redutores em mg.
5.2	116
5.8	188
6.4	122
7.0	56
7.8	28

Como se pode vêr pelo gráfico abaixo o pH de ação da enzima é de 5.8, por isto, tôdas as experiências posteriores foram realizadas com êste pH.

Na segunda experiência levada a efeito tivemos por objeto verificar a ação da enzima em função do tempo. Usamos a mesma técnica da experiência anterior com o pH de 5.8 à temperatura de 29°C e fizemos as determinações dos açucars redutores diàriamente durante 10 dias. (Fig. 2)

Os resultados foram os seguintes :

Dias	Redutores em mg.	Dias	Redutores em mg.
1	6	6	153
2	13	7	161
3	32	8	163
4	50	9	164
5	138	10	165

Conforme se vê, existe na secreção gástrica do *Australorbis glabratus* uma enzima capaz de desdobrar a sacarose tendo ponto de ação ótimo ao pH 5.8.

Conforme diz BALDWIN (4) as enzimas que agem sobre a sacarose, podem ser de dois tipos, as glicosacarases, que são  $\alpha$ -glicosidasas, e não agem sobre a rafinose enquanto que o outro grupo das frutossacarases,  $\beta$ -glicosidasas, age perfeitamente sobre aquêle tri-sacárideo.

A alfa-glicosidase é largamente distribuida no reino animal, ocorrendo só ou juntamente com a amilase. Em geral possui pH ótimo ácido, (Fig. 1) sendo porém, mais baixo nos Moluscos que nos Vertebrados (PROSSER 5). Sabe-se que a rafinose é digerida por certos Moluscos, especialmente por *Helix* e por *Mytilus*. Neste particular lembremos que em *Helix* há grande distribuição de substratos e de enzimas, i. é, tôdas as galactosidades e frutosidasas, e cinco das dez glucosidasas.

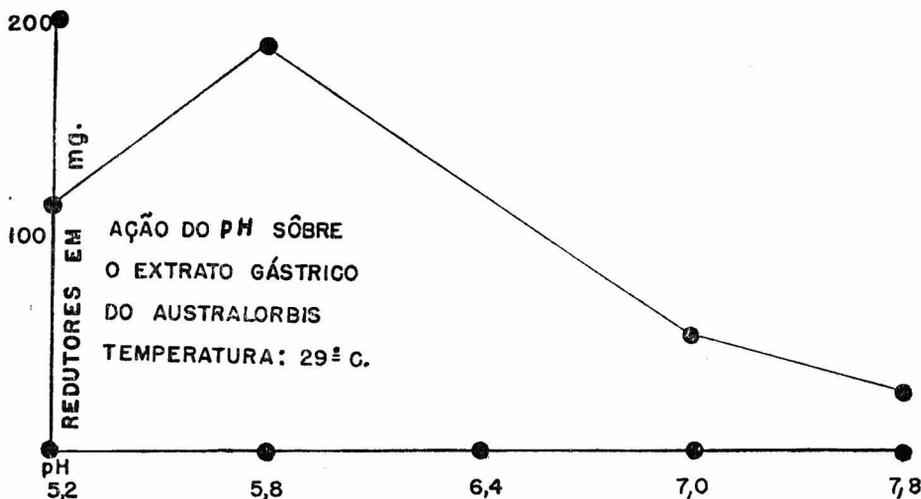


Fig. 1

Para verificar em que tipo se enquadrava a enzima do estômago do *Australorbis* fizemos experiências usando uma solução tamponada de rafinose a 1% ao mesmo tempo comparando com uma solução de sacarose da mesma concentração.

O resultado obtido com esta experiência nos fez verificar que a enzima não ataca a rafinose até depois de 10 dias o que nos leva a admitir que se trata de uma glicosacarase, enzima comum no intestino dos animais em geral.

### Summary

The enzymatic equipment of the digestive tract of *Australorbis glabratus* (Mollusca-Gastropoda.) I. Invertase.

Experiments are reported on the determination of the carbohydrases of the stomach and hepatopancreas of the snail, *Australorbis glabratus*, from Recife, Brazil.

Fifty animals were fasted for 24 hours in a glass dish filled with filtered water from the tank in which they had been raised. The body of each animal was removed by gently teasing away the shell. The stomach and hepatopancreas were carefully separated out and triturated with sand in mortar with water and glycerol, according to the technique of ROGERS (2). The filtered material was then made up to a volume of 64 ml with 50% glycerol so that each ml of extract was equivalent to 0.01 gm. of stomach. Toluene was added for preservation, and the material kept in the refrigerator.

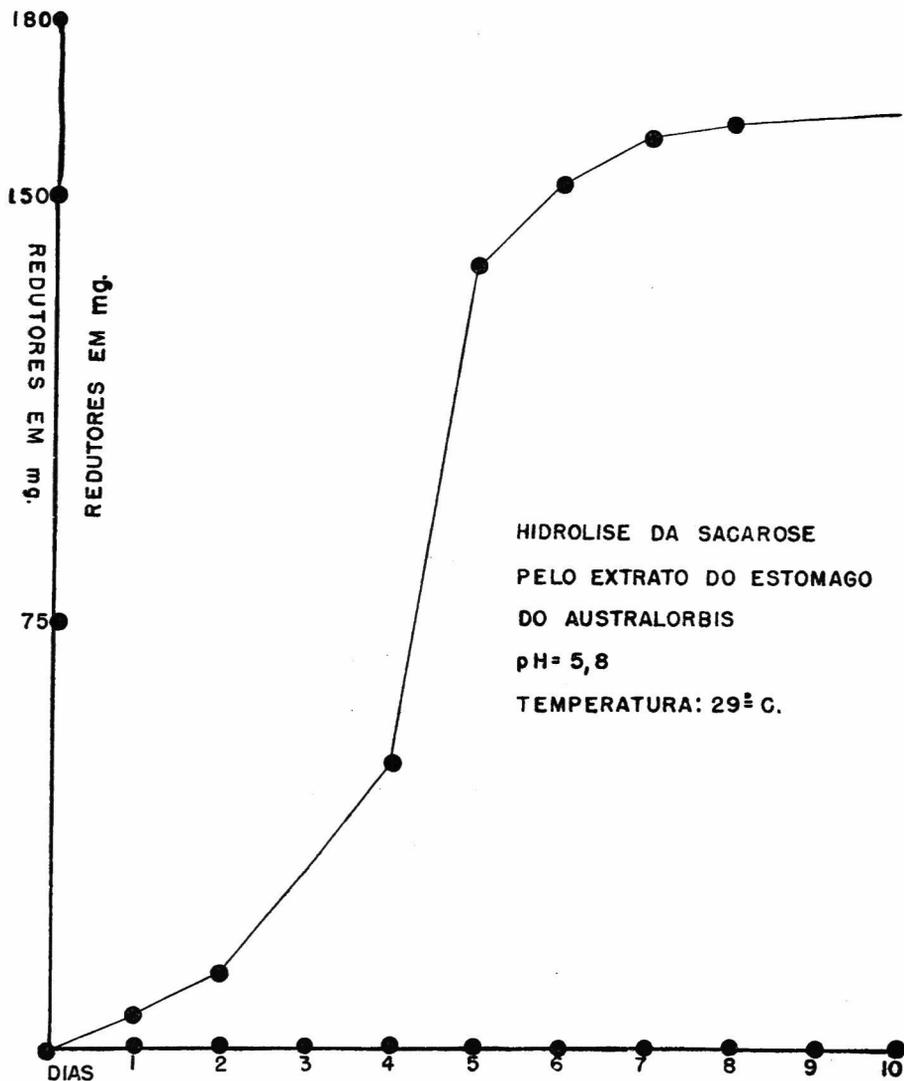


Fig. 2

The first experiments involved the determination of invertase activity in the two tissues at various pH's and over varying lengths of time. It was shown that the hepato-pancreas extract contained no invertase. The stomach extract, however, contained an enzyme capable of hydrolysing saccharose. The optimum pH was 5.8, (Table 1 and Figure 1), and hydrolysis was completed in 9 to 10 days (Table 2 and Figure 2).

To determine the type of saccharase, the stomach extract was incubated with a buffered solution of raffinose (1%). There occurred no hydrolysis of the raffinose within 10 days.

It is thus suggested that the stomach of the snail, *A. glabratus*, contains a glucosaccharase, or alpha glycosidase, an enzyme common to the intestinal tract of animals.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) — **Edwards, G. A., Magalhães Neto, B. Dobbin Jr., J. E.** 1951. Influence of infestation and other factors upon the respiration of the snail *Australorbis glabratus*. Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães, v. 1, n. 2, pp. 9-26. Recife, Brasil.
- 2) — **Rogers, W. P.** — J. Helminth., 18 : 143, 1940.
- 3) — **Cavier, R.** — Bull. Soc. Chim. Biol., 33 : 1931, — 1951.
- 4) — **Baldwin, E.**, 1947 — Dynamic Aspects of Biochemistry. XVIII + 457 pp. Cambridge.
- 5) — **Prosser, C. L.** 1950 — Comparative Animal Physiology. IX + 888 pp. W. E. Saunders Co. Philadelphia.