

# Contribuição para a fisiologia do aparelho de apreensão dos alimentos e da glândula do intestino médio de Ostrácodo. Ação de substâncias colinérgicas

por

**Paulo Sawaya**

(Est. I-IV e um gráfico no texto)

1. Generalidades	107
2. Material utilizado nas experiências:	
a) Taxonomia e morfologia geral de <i>Strandesia</i>	113
b) O aparelho de apreensão dos alimentos	119
c) A glândula do intestino médio (hépatopâncreas)	122
3. Parte experimental. Métodos empregados	124
4. Ação da Acetilcolina	125
5.     Eserina	127
6.     Atropina	129
7.     "     Pilocarpina	130
8.     do Cloreto de Potássio	131
9.     da Temperatura	132
10. Discussão dos resultados	133
11. Summary	137
12. Literatura	140

## I.

### Generalidades

Métodos de descrição do sistema nervoso autônomo utilizados nos Vertebrados têm sido, com relativo êxito, empregados também nos Invertebrados.

Como se sabe, as descrições são baseadas ora na propriedade ainda discutida da transmissão do impulso nervoso por via química, ora na disposição e particularidades morfológicas dos elementos constitutivos de tal sistema nervoso. Graças a este último método foram reveladas várias estruturas, em geral plexiformes, na intimidade dos órgãos internos, cuja natureza autônoma (simpática) ficou pelo menos morfológicamente bem estabelecida. Particularmente nos Crustáceos, como nos Artrópodos em geral e também nos Poliquetos, o canal intestinal é anteriormente inervado, em parte pelo sistema estômato-gástrico e em parte pelos plexos nervosos posteriores. Os nervos originam-se, respetivamente, do primeiro e último gânglios da cadeia nervosa ventral. Característica primacial dos elementos nervosos que suprem o trato digestivo e outros órgãos internos, como é notório, reside na ligação imediata com a referida cadeia e não diretamente com o cérebro. Tal peculiaridade levou os autores a incluí-los no sistema simpático. Já desde Milne Edwards (1834, I, p. 149) que se considera nos Crustáceos um sistema nervoso visceral distinto, em conexão direta com a cadeia nervosa gânglionar. As pesquisas de Lemoine (1868), de Mocquard (1883), de Retzius (1890) entre os mais antigos, de Alexandrowicz (1909), e de Keim (1915) e outros, especialmente nos Decápodos, demonstraram a existência de uma densa rede nervosa que supre os órgãos acima aludidos. Zimmer (1924, p. 288) e Balss (1927, p. 873), resumindo tais pesquisas, consignam nesses Crustáceos um sistema nervoso visceral (simpático) para o estômago, para o coração e para os intestinos. A parte anterior, constituída de nervos e gânglios que envolvem o esôfago, é bastante complicada, sendo em geral aceito o esquema de Giesbrecht (ap. Balss l. c.). Os nervos da parte posterior partem do último gânglio abdominal.

Para Hanström (1928, p. 449) o sistema nervoso simpático dos Crustáceos tem dupla origem, i. é, provem do conetivo esofágico formado pelo tritocérebro e do gânglio mais posterior da cadeia nervosa ventral. Há ainda os nervos do coração oriundos dos gânglios torácicos. Nem todas as ordens desta classe dos Artrópodos se acham bem pesquisadas quanto a este sistema. Mesmo nos Malacóstracos, os melhores conhecidos até agora, diz Hanström (1928, p. 450), não foi descrita a inervação do fígado e dos órgãos reprodutores. O primeiro deveria ser suprido por fibras da parte anterior do sistema nervoso simpático e os últimos de elementos provenientes do 3. ao 5. gânglios torácicos. Ocorre ainda frequentemente, o *nervus intermedius*, incluído no sistema nervoso simpático e particularmente bem desenvolvido nos Ostrácodos (*Gigantocypris*), que acompanha os conetivos da cadeia ventral de gânglio para gânglio. Nestes animais (Ostrácodos), como em outros Crustáceos, na parte anterior do sistema

nervoso visceral tritocerebral, tido como simpático, encontra-se um par de gânglios conetivos ou viscerais, de onde partem nervos para o trato digestivo.

Conhecido é este sistema simpático tritocerebral em *Cypridus fuscata* (Hanström 1924, p. 32). Em outros Ostrácodos, não somente tal sistema, mas também o comportamento do simpático posterior, que seria, em comparação com os Vertebrados, do sistema parassimpático, não se acham esclarecidos. Do mesmo modo, muito menos ainda a inervação da glândula do intestino médio (fígado) e outras partes do tubo digestivo tem sido objeto de investigação por parte dos especialistas.

A maioria dos autores e tratadistas fala da inervação das vísceras dos Entomóstracos, como foi dito, por um sistema estômato-gástrico em comunicação com os gânglios primeiro e último da cadeia ventral. Nos Ostrácodos em particular, este sistema acha-se em ligação com o tritocerebro. Faltam, em geral, informações mais precisas sobre a inervação das diferentes partes do tubo digestivo. Os autores referem-se apenas (Hanström 1928, p. 449) a plexos do intestino terminal (*Phyllopora*) e a plexos intestinais (*Cladocera*).

A primeira modalidade apontada, de distinção dos elementos constitutivos do sistema nervoso autônomo, aplicada aos Invertebrados, vem proporcionando melhor conhecimento das particularidades da inervação, especialmente dos órgãos internos. Esta modalidade, que se baseia mais propriamente na especificidade de certas substâncias quimicamente conhecidas pelos elementos do sistema nervoso autônomo, empregada nos Invertebrados, tem também contribuído para esclarecer o funcionamento de vários órgãos.

O resurgimento da teoria da transmissão do influxo nervoso por via humoral, acenada em 1877 por Dubois-Reymond (ap. Goodman & Gilman 1941, p. 324), levou inúmeros estudiosos a pesquisar, especialmente nos Crustáceos, a ocorrência e a ação de várias substâncias que agem especificamente sobre as chamadas células efetoras autônomas. O emprego de tais substâncias veio tornar possível a evidência, pelo menos fisiologicamente, de estruturas do sistema nervoso autônomo em órgãos de vários animais, ainda não verificadas histologicamente. Dado o conhecido antagonismo fisiológico entre o simpático e o parassimpático, a ação de substâncias simpaticomiméticas ou parasimpaticomiméticas sobre diferentes órgãos tornou possível, muitas vezes, a elucidação do mecanismo de suas funções.

Já está demonstrado que, em muitos animais, a maioria das vísceras é inervada por elementos de ambos os sistemas, de modo que a atividade, em um momento, é o resultado da soma algébrica das duas influências componentes. A ação de um sistema é posta em relevo pela remoção ou paralisia do sistema oposto (Goodman & Gilman l. c. p. 321). Para tal fim, tem sido preferido, em muitos casos, o processo farmacológico, pelo emprego das

substâncias acima referidas. Particularmente nos Crustáceos, tal método veio favorecer extremamente a pesquisa da inervação dos órgãos do trato digestivo.

A referida hipótese da transmissão do influxo nervoso por via química nos músculos estriados dos Vertebrados, revigorada por Dale (1936) e seus colaboradores, foi não há muito estendida ao sistema neuro-muscular dos Crustáceos (Marnay & Nachmansohn 1937, p. 1005). Das substâncias que têm influência sobre o sistema nervoso autônomo, a acetilcolina foi precisamente a que se demonstrou existir em grande abundância nos tecidos de vários representantes desta classe dos Artrópodos (Welsh 1938, p. 151). Este mesmo autor (1939, p. 237) verificou que, sob a influência desta droga, o coração dos Crustáceos reage pelo aumento da frequência e amplitude das pulsações, contrariamente ao que ocorre com o miocárdio dos Vertebrados, o que foi confirmado por Davenport, Loomis & Opler (1940, p. 498) e Davenport (1941, p. 179; 1942, p. 255). Ao demais, o comportamento dos músculos esqueléticos daqueles Artrópodos é também diverso do dos diferentes Vertebrados, como resulta dos recentes trabalhos de Katz (1936, p. 219) e outros. Ainda nos Crustáceos, segundo a opinião de Hoadley (1934, p. 494; 1937, p. 155) e Welsh & Haskin (1939, p. 414), a acetilcolina interfere no conhecido fenômeno da autotomia.

Afóra os órgãos de relação, nos Entomóstracos, também foi verificada a influência excitadora dos reflexos pela acetilcolina, no trato digestivo. Recentissimamente, Obreshkove (1941, p. 105) demonstrou em *Daphnia magna* uma acentuação das contrações rítmicas do intestino provocadas pela atuação direta daquela substância. Tais fenômenos estão, sem dúvida, intimamente ligados à inervação visceral.

Não somente nos Ostrácodos, mas ainda em vários Entomóstracos, são as partes do canal intestinal dotadas de movimentos rítmicos relacionados, manifestamente, com o sistema nervoso autônomo. Realmente, além do estômago, também os intestinos e suas glândulas anexas mostram contrações e dilatações rítmicas sob a ação de vários agentes mecânicos, físicos ou químicos; estes movimentos são acelerados ou retardados ou mesmo inibidos. Em vários Cladoceros (*Daphnia*), por ex., o toque com um finíssimo estilete de vidro, no ponto em que o estômago continúua com o intestino, determina uma parada repentina dos batimentos cardíacos, ao mesmo tempo que a região posterior do intestino inicia uma série de vigorosas contrações. Depois de um curto período, o coração volta à atividade normal e o intestino à rítmicidade regular dos seus movimentos.

Certos Ostrácodos, como me foi dado observar, apresentam fenômenos correspondentes. Sob determinadas condições do meio, fecham e abrem suas valvas quitínicas, com maior ou menor rapidez, segundo certos agentes

excitadores: luz, calor, toque mecânico etc. O estômago e a glândula do intestino médio são rítmicamente contrateis. Dada a transparência das valvas, é possível acompanhar o número de contrações de ambos. Sendo animais de pequeno porte, não medindo, os maiores (Klie 1926, p. 6) mais de 23 mms de comprimento, as observações dos movimentos rítmicos não dispõem o auxílio de uma lupa.

Pelo exposto verifica-se que, nos Entomóstracos, o chamado sistema nervoso simpático apresenta vários pontos ainda não bem esclarecidos, especialmente quanto à fisiologia. Na base dos resultados obtidos com o emprego de substâncias químicas específicas, tem-se admitido ocorrerem nestes animais estruturas comparáveis às do sistema nervoso autônomo. Os caracteres de tais estruturas, suas relações com o chamado sistema simpático dos Crustáceos, e o próprio funcionamento dos órgãos por eles inervados constituem problemas que aguardam solução por parte dos pesquisadores. No Ostrácodo do gen. *Strandesia* alguns destes pontos são aqui focalizados, constituindo, como se verá, objeto principal da presente publicação.

Aquí entre nós ocorrem várias espécies de Ostrácodos e entre os mais abundantes acham-se os do gênero *Strandesia* até agora encontrados unicamente na América do Sul e Central.

Em virtude de este animal proporcionar, pela transparência das valvas, a observação dos movimentos da glândula do intestino médio e de outras regiões do trato digestivo, resolvi verificar se também, *Strandesia*, tal como *Daphnia*, reagiria à acetilcolina e a outras substâncias que influem sobre o sistema nervoso autônomo. Sendo a glândula do intestino médio daquele Ostrácodo rítmicamente pulsátil, contraindo-se e dilatando-se de modo particular, como adiante será anotado, pareceu-me material adequado à investigação da influência daquelas drogas, numa tentativa de contribuir para o estudo da mediação química dos influxos nervosos nestes curiosos animais. Tanto mais interessantes me pareceram estas pesquisas, quando se nota serem escassas e mesmo contraditórias as informações sobre o sistema nervoso autônomo dos mesmos. É assim que, além da particularidade excepcional da ligação do sistema estômato-gástrico com o tritocérebro, relativamente à inervação dos órgãos digestivos, Lüders (1909) por ex., figura (t. 8, fig. 23) na cadeia nervosa ventral de *Gigantocypris agassizii* conjuntos de células ganglionares que emitem um filamento para deante e para trás, que se perde nas comissuras. Tal filamento e tais conjuntos de células ganglionares são indicados na mencionada figura como nervos e gânglios simpáticos. No entretanto, no texto (p. 137), ao descrever estes elementos, o autor diz que não pode afirmar sejam eles realmente do sistema simpático e que se assim fossem, seria esse o primeiro caso da

demonstração de nervos simpáticos nos Entomóstracos, o que não corresponde à realidade.

Por outro lado, o comportamento de vários órgãos dos Invertebrados sob a influência das substâncias chamadas colinérgicas tem sido tão singular que uma sistematização dos resultados conhecidos está longe ainda de ser obtida. Assim, por ex., nos Moluscos, a acetilcolina revelou-se inibidora das pulsações cardíacas, enquanto que nos Artrópodos é fortemente excitadora. Nêstes últimos, a atropina abole a ação da acetilcolina, e nos primeiros não tem qualquer efeito (Julien 1936, p. 774; Prosser 1940, p. 92; Welsh 1940, p. 68; Davenport 1940, p. 69). Ainda mais, até bem pouco tempo cria-se que os mecanismos colinérgicos e adrenérgicos seriam limitados aos Vertebrados (Grautrelet 1935, p. 238), o que hoje não mais é admitido à vista das recentes pesquisas de vários autores.

Utilizando a via fisiológica, pareceu-me possível a verificação da ocorrência, na glândula do intestino médio de *Strandesia*, de elementos do sistema nervoso autônomo, até agora não identificados morfologicamente, pelo menos nos Ostrácodos.

Além disso, dada a desconcertante reação de diversas estruturas dos Invertebrados às drogas colinérgicas, pareceu-me oportuno estudar o comportamento de tal glândula dos Ostrácodos sob a influência das mencionadas drogas, esperando com isso contribuir, na medida do possível, seja para o conhecimento da função dêste órgão, seja para o estudo da transmissão do impulso nervoso por via química, atualmente na ordem do dia.

Um outro ponto que me pareceu oportuno focalizar neste trabalho é o relativo ao complicado aparelho de apreensão dos alimentos dêste Ostrácodo. Nestas duas últimas décadas, em vários Entomóstracos, êste aparelho tem sido estudado com bastante minúcia, com o auxílio de modernos métodos técnicos nas *Daphnidae* (Cannon 1922; Storch 1922, 1926; Franke 1925); nos *Phyllopoða* (Storch 1925); nos *Copepoda* (Storch 1928; Storch & Pfisterer 1926). Nos Ostrácodos apenas anotei, na literatura à mão, os trabalhos de Cannon (1925) e os de Storch (1926), êstes últimos completados com um exaustivo estudo em *Notodromas monacha* (Ostrácodo marinho) com o auxílio da lupa do microtempo, publicado recentemente (1933).

Tendo à mão grande quantidade de animais vivos, valendo-me do artifício empregado por Storch (1933, p. 154), com ligeira modificação, pude observar, com relativo êxito, o funcionamento das diferentes peças do aparelho de apreensão, podendo assim comparar os meus próprios resultados com os de Cannon (l. c.) e os de Storch (l. c.) e, assim, ajuntar mais alguns dados sobre o complexo mecanismo de apreensão dos alimentos do Ostrácodo supra mencionado.

As *Strandesia* ocorrem abundantemente nos aquários do Laboratório de Fisiologia. As observações destes animais nos aquários levaram-me a incluí-los entre os Ostrácodos rastejadores do fundo, segundo a classificação apresentada por Woltereck (1898, p. 598). Antes de passar à parte experimental, relativa à atuação de determinadas drogas, principalmente sobre a glândula do intestino médio, julgo indispensável tratar, se bem que sumariamente, de alguns pontos da sistemática, da morfologia e da fisiologia deste animal. As condições atuais não permitiram a remessa do material para os especialistas e, porisso, com os recursos bibliográficos disponíveis, resolvi tentar a classificação do material, dando uma descrição ilustrada do mesmo, o que certamente poderá possibilitar, no futuro, se necessário, uma retificação.

## 2.

### Material utilizado nas experiências

#### a) Taxonomia e morfologia geral de *Strandesia*

Como disse, em todas as experiências foram utilizados numerosos exemplares de *Strandesia*, Ostrácodo da família *Cypridae*, subfamília *Cyprinae*.

A taxonomia dos representantes desta ordem dos Crustáceos reside, em grande parte, nos caracteres morfológicos da casca e do esqueleto interno. A forma, a côr, as esculturas e as manchas que ocorrem em ambas as valvas e a conformação das armaduras esqueléticas, são elementos básicos para a classificação.

Todos os exemplares disponíveis chamaram logo a atenção por serem providos de uma crista afilada, de contorno triangular, inserida no bordo dorsal da valva direita. O ápice do triângulo chega a atingir o terço caudal do bordo dorsal valvar. Esta crista é peculiar dos Ostrácodos do gênero *Strandesia*. Segundo Klie (1932, p. 468) as espécies deste gênero, até hoje conhecidas, portadoras de tal apêndice, são em pequeno número. De todas elas, *Strandesia bicuspis* Claus 1892 existe somente nas Américas do Sul e Central.

Não me sendo acessível, no momento, a publicação fundamental de G. W. Müller (Das Tierreich 1912), valí-me principalmente dos trabalhos de Klie e de Furtos, para o confronto das peculiaridades do meu material com as descrições e figuras destes autores. Para justificativa da classificação e

mesmo, como disse, para possibilitar qualquer retificação futura, incluiu no presente trabalho alguns desenhos (Est. II-IV) das partes mais importantes para a taxonomia dos animais, objeto destas pesquisas, ao lado de outros (Est. I) acompanhados de rápida e sumária descrição, para ilustrar a organização interna. Este ponto pareceu-me de interesse, visto ter sido principalmente sobre a glândula do intestino médio que observei a influência das substâncias empregadas nas experiências.

As *Strandesia* medem de mm 1,5 a 2 de comprimento e 1 mm de largura, a crista incluída, sendo todos fêmeas e a maioria portadora de ovos ainda não segmentados. As duas valvas são oblongas (Est. II, Fig. 4), tendendo geralmente à subreniforme. Visto de perfil, o bordo ventral mostra-se ligeiramente sinuoso, com reentrâncias apenas perceptíveis na região mediãna e posterior. Tanto a margem rostral como a caudal são arredondadas, sendo esta um tanto mais estreita que aquela. Todo o bordo livre das valvas é guarnecido de um fileira de cerdas irregularmente distânciadas uma das outras. Ambas as conchas valvares são transparentes, com a pigmentação verde azulada mais forte e concentrada nas partes média, posterior e circum-ocular, formando manchas azuladas. Em geral, tais manchas atingem a região dorsal, sendo constante uma posterior, em forma de crescente de concavidade dorsal com a qual abraça as marcas da inserção dos músculos adutores (m). Também, com muita frequência, se encontra uma grande placa intensamente pigmentada na região média, equidistante dos bordos; é alongada e possui a porção anterior larga e de forma trapezoidal. Todas estas manchas são constituídas por um conglomerado de pequeninos polígonos distintamente separados uns dos outros, os quais têm, no centro, um diminuto círculo claro. Por entre os polígonos pigmentários granulados, erigem-se cerdas finas. Tal aspeto é mais frequente nas manchas da região caudal.

As conchas são acentuadamente convexas, com a convexidade máxima na parte média. A passagem desta parte para os bordos, anterior e posterior, faz-se abruptamente, de tal modo a parecer a referida parte média uma grande giba esféroidal. A superfície externa de ambas as valvas é armada de cerdas, além das já mencionadas por entre as manchas, sendo mais densas na região caudal. Tais cerdas implantam-se na camada calcárea da valva, tal como em *Cypriis pubera* é figurado por Fassbinder (1912, t. 32, fig. 54). A superfície endovalvar é lisa, exceto nos pontos correspondentes às inserções dos músculos adutores. As manchas que, externamente, são verde-azuladas, na superfície interna aparecem muitas vezes, de cor violeta.

A concha direita diferencia-se da esquerda, não somente por suportar a crista dorsal, como por ser mais convexa, ter o bordo rostral mais curto e

ser desprovida da série de bastonetes transversais (b), que acompanha as margens da concha esquerda. Esta última particularidade é uma outra característica significativa do gênero *Strandesia*. Resulta de tal conformação das valvas que os animais apresentam o bordo anterior da esquerda ultrapassando o correspondente da direita, formando, assim, como que um pequeno lábio saliente (Est. II, Fig. 4-5, l). Um tal lábio ocorre também em várias espécies de *Strandesia* mencionadas por Klie (1932, p. 468). De todas elas, porém, os exemplares do meu material se afastam, a julgar pela discussão dada por este autor (l. c.) não somente por ser muito menor o referido lábio, como por ser ausente em tais espécies uma crista aguda dorsal.

O olho (o) é único, pela fusão dos dois, bem evidente no terço anterior do corpo, principalmente quando o animal é visto pelo bordo dorsal (Fig. 1 e 4, o).

As antenas do 1. par (antênulas) possuem 7 artículos (Fig. 6) inserindo-se adiante do bordo inferior e anterior do olho. O artículo basilar é duas vezes mais longo que largo e tão longo como os três seguintes. As quatro articulações distais são providas de cerdas finas, longas, com exceção daquelas que se inserem na articulação entre o 3. e o 4. artículo (a contar do basilar), que são mais espessas, curtas e setiformes.

O segundo par de antenas (Fig. 7) contem 6 artículos, pertencendo o 1.º à parte basilar. O 2.º, menor, tem a forma prismática e acha-se encravado na articulação que faz o basilar com o 3.º artículo. Este é o mais longo, e de seu 1/5 distal partem cinco cerdas muito delgadas, cujas extremidades livres alcançam as pontas correspondentes das cerdas inseridas no último artículo (6.), que é bidividido. A porção dorsal, mais curta, dá inserção a uma unha apical de bordo ventral denteado e a uma cerda setiforme; a ventral, mais longa, serve de ponto de apoio a uma segunda unha apical, também denteada no seu bordo ventral, e a duas cerdas finas, cujas pontas atingem às das unhas. A porção basilar do artículo 5.º é guarnecida de três cerdas longas e delgadas que saem do bordo ventral, e mais uma que sae do dorsal. Do mesmo modo, o artículo 4.º tem, no ponto em que a sua margem ventral se articula com o segmento antecedente, uma cerda robusta, com a ponta atingindo o 1/4 distal do artículo 5.

Sobre as extremidades torácicas dos Ostrácodos não tem havido perfeito acordo entre os especialistas. G. W. Müller (1927, p. 407) aponta três patas torácicas (1.2.3.) afirmando ser ausente a 2. maxila, ao passo que Giesbrecht (1913, pp. 46, 56 e 202) e outros consideram apenas duas patas torácicas e uma 2. maxila (maxílula). Woltereck (1898 t. 19) em *Herpetocypris reptans* indica uma 2. maxila na figura 1, que é copiada por Klie (1926, p. 12 fig. 11). Em *Strandesia* essa primeira extremida-

de lembra muito de perto a de *Herpetocypris*. É folhiforme (Est. 1, Figuras 1 e 1a) e dotada de três processos: o rostral, achatado dorso-ventralmente, com uma orla elevada lateralmente e a extremidade provida de cerdas curtas, grossas e plumosas; a cerda que se insere na extremidade da orla é mais robusta distinguindo-se, assim, das demais; o caudal, mais longo e delgado, também achatado como o anterior, tem na ponta três cerdas finas e longas, e o dorsal, alargado, prende-se aos dois primeiros pela base e tem o contorno ornado de pequenas cerdas, com exceção da margem rostral, no ponto em que se articula com a maxila. No ângulo que o processo dorsal faz com o caudal, prende-se uma haste robusta, que se dirige para trás e dorsalmente, com várias cerdas longas na extremidade livre e no bordo dorsal. Durante os movimentos da maxila, quando se observam os animais vivos, esta extremidade acompanha os movimentos do processo branquial mandibular, principalmente pelo processo dorsal que, possivelmente corresponde à placa branquial (epipodito) como é indicado por Müller (l. c.).

Na 2. pata (Fig. 8) o artículo basilar ou femur é robusto, largo, trapezoidal. Na sua margem distal apresenta, dorsalmente, uma apófise pontuda, curta e uma pequenina cerda. Ventralmente, dá inserção a uma forte cerda transparente. A tíbia ou segundo artículo é também trapezoidal, de base alargada. No ângulo dorsal distal é provida de duas curtas cerdas. No ângulo oposto também leva uma longa cerda robusta e transparente. O tarso é composto de dois artículos. Um basilar, que contem os 3/4 do segmento, de forma trapezoidal, contem no seu ângulo distal ventral uma cerda forte. O artículo distal forma o restante do segmento, também é dotado de uma cerda no seu ângulo ventral distal. Com este último articula-se o dáctilo ou parte terminal, encurvada e de comprimento maior que a da orla posterior do penúltimo artículo (tarso). A inserção do dáctilo é ladeada por duas cerdas. Na porção medio-distal a parte terminal apresenta-se pectinada.

A 3. pata (Fig. 9) triarticulada, é a chamada "pata de limpeza" ("Putzfuss"; "scratch-foot"). O segmento basilar é longo e quadrangular, sendo guarnecido o ângulo ventral distal de uma cerda comprida e robusta. O segundo artículo ou tíbia apresenta na região mediana, no bordo ventral, uma constricção por onde passa uma cerda, a chamada cerda marginal, potente, de inserção na face lateral do segmento. A região tarsal é ornada, lateralmente, com uma saliência romba, pectinada, em forma de leque e de uma unha robusta apenas ao ângulo ventral distal, denteada. Uma cerda grossa toma inserção no ângulo que faz o dáctilo com o artículo. Esta cerda, na taxonomia, recebe o nome de cerda terminal. Tem um comprimento igual ao do penúltimo artículo. Na inserção da parte terminal ou dáctilo, encontra-se uma outra

unha mais fraca, também denticulada, e um gancho encurvado ventralmente em forma de semicírculo. A garra terminal (dátilo) é encurvada e pectinada na metade distal.

A furca (Fig. 10) mede cerca de 2 mm de comprimento. Na extremidade livre possui uma garra terminal, anterior, fracamente encurvada com numerosos dentículos (10-15) na metade distal. Esta garra terminal mede cerca de mm 0,7 de comprimento. Dorsalmente a ela existe uma outra garra, posterior, menor, (mm 0,4) quasi reta e também denticulada na metade distal (7-10 dentículos). Anteriormente a ela, e junto da sua base, ocorre uma cerda, a chamada cerda anterior, tão longa quanto a garra posterior. A orla posterior do tronco da furca é ligeiramente concava para trás e ornada com sete grupos de dentículos, formando cada grupo um serrilhado que se inicia sempre por um dentículo mais robusto, ao qual se seguem outros cada vez mais novos.

Dos apêndices bucais, a mandíbula é fortemente quitínica e constituída de uma parte proximal alargada (Fig. 11, m) que continua com o esqueleto interno do corpo. A ela segue-se uma distal (d), sendo o ponto de união de ambas marcado por uma linha sinuosa, que vai de um a outro bordo mandibular. Imediatamente atrás desta linha, no bordo dorsal, aparece o palpo mandibular (p), que toma inserção na face lateral, ao nível da porção média. Este palpo é transparente e de paredes muito mais delgadas que as da própria mandíbula. É formado de 4 artigos. O basilar é guarnecido por duas cerdas inseridas no ângulo ventral distal, das quais a maior é pectinada. Ao nível da junção deste artigo com o seguinte (2.), ainda no bordo ventral, existe uma cerda robusta, longa e pectinada. Na margem ventral da articulação do 2. com o 3. artigo, há um conjunto de cinco cerdas, sendo duas plumosas, duas pectinadas e uma ponteaguda. Na margem dorsal da articulação destes dois artigos, toma apoio uma longa cerda robusta. Ainda no mesmo bordo, mas na articulação do 3. com o 4. artigo, insere-se uma cerda delgada e pontuda. Todo o contorno desta articulação é guarnecido de pequeninas cerdas desigualmente distanciadas umas das outras. O bordo livre do 4. segmento é ornado de oito cerdas robustas, das quais três são plumosas.

A parte distal mandibular (d) é escavada, e a extremidade provida de seis dentes: o terminal tem a forma de um espinho robusto, encurvado, com cinco ou seis dentículos na concavidade da curva; os dentes restantes, em número de 5., são tricuspídeos. O sexto dente como que continua com a face mandibular por uma saliência forte, orlada de delgadíssimas cerdas. A parte branquial mandibular (b) está representada por uma placa quitínica retangular, inserida no bordo dorsal do artigo basilar do palpo. A margem livre desta placa é munida de quatro cerdas longas e eretas.

O segundo apêndice bucal, a l. maxila (Est. IV, Fig. 12), tem o artículo basilar muito largo, delgado, com uma lâmina branquial transparente na base (b). Esta lâmina   armada de longas cerdas claviformes. Os dois primeiros processos maxilares são juxtapostos um ao outro, tendo os bordos livres cobertos respectivamente por cinco cerdas cada um. O terceiro processo é ligeiramente mais curto que os dois primeiros e tem a margem livre provida de quatro cerdas curtas e dois espinhos longos de extremidades densamente plumosas (e). Ambos êstes espinhos são de igual largura e comprimento. O palpo maxilar (p)   biarticulado. Na junta dos dois segmentos há cinco cerdas longas, fortes e transparentes. No bordo livre do artículo terminal prendem-se seis cerdas mais curtas que as da junta.

Nas *Strandesia* vivas, o movimento do lábio superior e do lábio inferior   contínuo. Por entre ambos (Fig. 13) intercala-se de tempos em tempos a porão distal de cada uma das mandíbulas (m). O conjunto dos lábios, maxilas, mandíbulas e antenas constitue o chamado aparelho aprensor dos Ostrácodos. Relativamente aos lábios, a descri o de Klie (1926, p. 17) não é suficientemente clara, para se formar id a precisa sobre as suas diferentes partes.   vista disso, julguei conveniente dar aquí uma descri o minuciosa do que ocorre em *Strandesia*. O lábio superior ou labrum (l)   prismático-triangular, em forma de quilha. O seu ápice confina-se com a concavidade do palpo mandibular. O bordo ventral   guarnecido densamente de um tufo de cerdas, e no caudal existem n merosos dentinhos, que formam nítido serrilhado.

O lábio inferior ou labium (b) tem a forma de uma pirâmide quadrangular de base rostral. O ápice   encurvado para tr s e para o dorso do animal. A base da pirâmide constitue o assoalho da boca (Fig. 14) da *Strandesia*. São bem distintos os dois orgãos folhiformes bilaterais (f), os chamados paragnatos, munidos de inúmeras cerdas, que se inserem tanto nos contornos livres como em ambas as faces. Os paragnatos articulam-se com as peles quitínicas da armadura do lábio posterior. Medialmente a tais orgãos, existem dois outros em forma de ancinho (a), com a haste voltada para tr s, presa, pela ponta, na trave quitínica. São os conhecidos "rechenartige Kauorgane" descritos por Zenker (1854, p. 33) nas *Cypridae* e nas *Cytheridae*. A lâmina de um tal ancinho é ligeiramente concava rostralmente, e o bordo livre contem 8-9 dentes c nicos, ponteagudos. As hastes dos ancinhos são guarnecidas de cerdas formando franjas pendentes para a linha medi na. Duas longas cerdas (d), chamadas "cerdas de filtro" atravessam a trave quitínica do lábio posterior na margem ventral: são as cerdas da l. maxila.

Os caracteres que acabo de mencionar coincidem com os de *Strandesia bicuspis* Claus 1892, p. 53, hoje consignada na literatura

com a designação de *Str bicuspis bicuspis* (Claus, 1892) cf. Furtos (1936, p. 110). A presença e a disposição da crista da valva direita, tal como aparecem nos exemplares à mão, são peculiares da espécie e da sub-espécie. Bastaria este caracter para distingui-la das demais *Strandesia* a saber: *Str mercatorum* Vávra 1893, *Str strandesioides* G. W. Müller 1898, *Str obtusata* (Sars, 1902), *Str purpurascens* G. O. Sars 1903, *Str kraepelini* (G. W. Müller) 1906, *Str episphaena* G. W. Müller 1908, *Str wierzejiskii* Grochmalicki 1915, *Str carteri* Klie 1931, *Str sex punctata* Klie 1932, *Str feueborni* Klie 1932, *Str. flavescens* Klie 1932, *Str striatoreticulata* Klie 1932, *Str intrepida* Furtos 1936, *Str centrura* Klie 1940, *Str obliqua* Klie 1940, cujas características veem mencionadas em Klie (1931, 1932 e 1940) e em Furtos (1936). Quero crêr que os Ostrácodos objeto destas pesquisas sejam *Strandesia bicuspis bicuspis* Claus, 1892. Consegui selecionar o material do aquário separando as *Strandesia* de outros Ostrácodos que ocorrem abundantemente nas regiões tropicais. Este ponto, naturalmente, é essencial, visto ser a homogeneidade do material indispensavel para os trabalhos de natureza fisiológica.

Até hoje, segundo informam Furtos (l. c.) e Klie (l. c.), não se conhecem os machos desta *Cypridae*. Este fato, aliás, como é sabido, é bastante frequente nos Ostrácodos, visto como muitas espécies só se reproduzem partenogeneticamente. No meu material, por entre as fêmeas existiam numerosos exemplares desprovidos de crista dorsal. Na impossibilidade de determiná-los e não podendo mesmo distingui-los como machos, tal como me pareceram à primeira vista, deixei-os de lado para ulterior classificação, quando estiverem ao alcance as necessárias fontes bibliográficas.

### b) O aparelho de apreensão dos alimentos

As peças bucais e os dois pares de antenas, em movimento quasi ininterrupto, captam as partículas alimentares, que são conduzidas para o esôfago. O funcionamento destes apêndices, que constituem o chamado aparelho de apreensão, tem sido amplamente discutido de modo especial por H. G. Cannon (1925, p. 328) e por Storch (1933).

Em *Strandesia* o método da compressão do animal entre lâmina e lamínula não pode ser usado tal como Storch preconiza (1933, p. 154). Para adotá-lo é mister cortar a crista dorsal característica deste Ostrácodo e fixar o animal pelo dorso sobre a lâmina com mínima quantidade de vaselina. A seguir, com a lamínula calçada com pedacinhos de

papel de filtro, faz-se a compressão. Após algumas tentativas, consegue-se o afastamento de ambas as valvas e a visão do aparelho apreensor na posição de frente.

A mandíbula e as maxilas (1 e 2.) integradas pelos lábios anterior e posterior são, na realidade, as partes essenciais deste aparelho. Em *Str* como em *Pionocypris vidua* (Cannon l. c., p. 328), as antenas (1 e 2.) também auxiliam a captura das partículas alimentares e a formação da corrente de água.

Os pentes de cerdas dos palpos mandibulares, relativamente espessos, ficam intercalados entre as cerdas e constituem, tal como em *Notodromas monacha* (Storch 1933, p. 324) as paredes filtrantes. Quando estas paredes se aproximam uma da outra, aparece por entre elas o lábio anterior. Nessa fase de adução de ambas as paredes, as demais cerdas dos palpos, principalmente as do artículo terminal, unem-se de cada lado e formam uma segunda parede. A esta segunda parede Storch (l. c.) dá o nome de parede de fechamento posterior, sendo a primeira a anterior. Entre estas duas paredes, anterior e posterior, vêm encaixar-se as orlas ventrais do lábio anterior, as quais, como se vê na Fig. 13, são guarnecidas de pelos e de dentículos. O fechamento da cavidade bucal é completado, em parte, pelo lábio posterior e, em parte, pela maxila 2. As cerdas que se implantam na orla mastigadora desta maxila 2. completam o fechamento posterior do espaço filtrante.

Aceitando-se a opinião de Storch (l. c.), a maxila 1 em *N monacha* e, quero crêr, também em *Str* tem uma dupla função: em parte reforça o fechamento ventral da parede filtrante, com o auxílio dos palpos maxilares, e também servem como escova, conduzindo (varrendo) as partículas do espaço bucal para trás.

Quando as peças bucais se juntam na fase de adução, comprimem as partículas que flutuam no espaço bucal. Com esta compressão, as partículas que flutuam no espaço bucal são remetidas para o esôfago. Para isso concorrem eficazmente as placas maxilares de ambos os lados, que trabalham conjuntamente entre si e com as mandíbulas. Os dentes tricuspídeos de que estas são dotadas deixam entre si pequenas lacunas. Por sua vez, as placas maxilares do lábio posterior prolongam-se para cima e para trás por hastes que sustentam, na margem interna, franjas com pelos quitínicos de aspeto estriado. Estas franjas, dentro da cavidade bucal, formam tubos que se interpõem nas lacunas entre os dentes mandibulares. Sendo moveis os processos das mandíbulas que suportam os dentes, com os seus movimentos de adução e adução os tufo quitínicos libertam as partículas que se alojam nas referidas lacunas, tal como os pelos de uma escova agindo automaticamente.

O que me foi dado vêr na análise do funcionamento do aparelho de apreensão de *Str* ajusta-se, em grande parte, a quanto Storch (1933, p. 324) descreve sôbre êste ponto no seu exaustivo estudo em *N. monacha*. Com o auxílio de uma lupa de microtempo pôde êste autor fotografar 120 quadros por segundo, o que lhe permitiu estudar minuciosamente os movimentos das peças bucais desse Ostrácodo.

Nos preparados de *Str* obtidos por compressão, também se pode verificar, sob a lupa Greenough, o movimento da corrente de água provocada pela adução e pela abdução das peças bucais e pelos batimentos contínuos da lâmina branquial (Est. IV, Fig. 12, b) da maxila I. A corrente de água dirige-se de deante para trás na concha formada por ambas as valvas entreabertas. O lábio inferior, intercalando-se entre as márgens valvares, na realidade, intercepta a corrente líquida, forçando-a a escapar pela abertura posterior das márgens, i. é, caudalmente ao referido lábio. A corrente líquida, penetrando na concha, ao mesmo tempo em que se dá a aproximação das antenas e das valvas, é como que comprimida, visto como, dorsalmente, o espaço é diminuído pela contração do músculo adutor e, ventralmente, pela adução dos palpos mandibulares. Dá-se, com tal compressão da corrente líquida, como que um adensamento da massa alimentar, com conseqüente concentração das partículas. Nêsse momento os palpos maxilares, ambos os lábios e as mandíbulas, acentuando a adução, forçam as partículas a penetrarem na cavidade bucal.

A espessura das peças bucais e a posição do animal não me permitiram verificar a passagem da massa alimentar da cavidade bucal para o esôfago. Para isso seria necessário observar lateralmente os animais jovens com valvas bem transparentes e talvez mesmo com outros recursos técnicos de que no momento não disponho.

Sobre tal ponto lembro apenas que a sugestão de Cannon (1922, p. 223), de que provavelmente as glândulas do lábio inferior expulsam uma secreção viscosa na cavidade bucal que aglutina as partículas, é contestada por Storch (1924, p. 211), o qual, porém, nada mais adianta sobre o assunto. Franke (1925, p. 280 e seguinte), por sua vez negligencia a função das glândulas do labro no estudo de alimentação das *Daphnidae*. No entanto, Cannon (1925, p. 331) pôde verificar, com o auxílio da fixação em Flemming sem ácido acético e coloração com Mallory, a existência de um produto de secreção, corado em azul, envolvendo as partículas alimentares e enchendo totalmente a cavidade bucal. Para êste autor (l. c., p. 331), também as chamadas glândulas da casca participariam no fenômeno de aglutinação.

De importância na apreensão dos alimentos seria também a glândula mandibular de certas *Cypridae* descritas por Schreiber (1922, p. 530). Este fato, porém, é contestado por H. C. Cannon (l. c.), que julga não convincente a descrição de Schreiber. Realmente, tanto a descrição como a figura dadas por esta autora (l. c., fig. T) deixam um tanto a desejar. Sobre este ponto, todavia, nada posso adiantar, a não ser que no exame cuidadoso de *Str* se consegue, às vezes, divisar conglomerados de partículas dentro da cavidade bucal. É possível que se trate de substâncias sólidas, aglutinadas por secreção de certas glândulas, como presume Cannon. Em geral, o lábio superior dos Ostrácodos é rico em glândulas (Müller 1927, p. 420), e *Strandesia* não constitui exceção. A sua importância para a alimentação é questão que ainda demanda acurado estudo, dada a discrepância entre os autores.

Finalmente, por entre os ancinhos que jazem no lábio inferior de *Str* ("rechenartige Kauorgane" de Zenker), não me foi dado vêr o par de pequenos músculos descritos por H. C. Cannon (l. c.) em *P. vidua*. Sem dúvida, ocorrem eles em *Str* visto como são bem perceptíveis os movimentos destes ancinhos denteados durante a captura das partículas alimentícias.

### c) A glândula do intestino médio

A estrutura dos órgãos internos de *Str. bicuspis bicuspis* não foi objeto de estudo especial no presente trabalho. Apenas determinadas particularidades dos órgãos sobre os quais procurei verificar a influência das substâncias químicas referidas serão aqui assinaladas.

Ao átrio bucal, (Est. I, Fig. I), segue-se o esôfago, o intestino médio (estômago) e o terminal. Nos cortes histológicos, nota-se que a estrutura do esôfago de *Str* corresponde à de outras *Cypridae* descrita por Bergold em 1910 (p. 8). Nas secções, o órgão aparece como uma fenda transversal. A saliência faringéa, como nas demais *Cypridae* (Zenker 1854, p. 8) prolonga-se para deante. Tal saliência, como é sabido, corresponde à origem do músculo faringêo. Dorsalmente a esta saliência, forma-se o chamado esôfago posterior.

O esôfago desemboca no intestino médio, que é revestido de um epitélio poliédrico e cilíndrico de protoplasma granuloso, provido de numerosos vacúolos. A região juxtaesofágica do intestino médio, bastante dilatada, forma o que se chama estômago, que é fortemente musculoso. É um órgão de cor escura, constituído de folhas quitínicas, que exteriormente lembra o aspeto de uma laringe humana, e na sua textura lembra muito o estô-

magos dos Isópodos. Este aparelho compõe-se nas *Cypridae* de um anel quitínico de forma de um aro cartilaginoso, do qual se prolonga, uma grande parede quitínica em forma de meio cálice (Fig. 2). Interna e externamente esta expansão é provida de cerdas, as quais formam, no conjunto, um aparelho filtrador ("Reusenapparat"). No revestimento interno, dispõem-se elas em lamelas quitínicas com o aspeto de uma lima. O estômago é contrátil e sua descrição lembra muito de perto aquela dada por Zenker para *Cypris ornata* (l. c., p. 356-36 t. II fig. 16) e para *Gygantocypris* por Lüders (1909, p. 112).

Na parede ventral e posterior o intestino médio é revestido por um epitélio guarnecido por uma orla em bastonete, que indica a região de desembocadura da glândula do intestino médio na cavidade gástrica. A função destas células, conforme refere Bergold (1910, p. 8), é de secreção e de resorção. Para este autor, os grânulos intraprotoplasmáticos representam uma espécie de proenzima proteica. A passagem do intestino médio para o posterior faz-se por um pertuito estreitado, que funciona antes como esfíncter que como valva, como é mencionado em *Cypris reptans* por Bergold (1910, p. 7).

É no intestino médio que desembocam as glândulas anexas (Fig. 1, g), comumente designadas por fígado tubo pâncreático, hepatopâncreas, sendo modernamente nomeadas glândulas do intestino médio (Jordan 1929, p. 105). É uma glândula tubiforme, com 1 mm. de extensão, de extremidade livre em forma de fundo de saco. Corre paralela ao ovário. É dupla nas *Cypridae* (Klie 1926, p. 18) e tem a face lateral juxtaposta à parede interna de cada uma das valvas. As células glandulares, que revestem o tubo, são cúbicas, de protoplasma granuloso e muito vacuolizado; o núcleo é excêntrico. Delimitam tais células um fino canal por onde o líquido secretado circula no trajeto para o intestino. Este canal desemboca na parede do intestino médio.

Contrariamente ao que se dá nos Decápodos, Isópodos e outros Malacostracos, nos Ostrácodos a função da glândula do intestino médio não se acha bem esclarecida. Naqueles Crustáceos inúmeras pesquisas, de Frenzel (1884) por ex., entre as mais antigas e as da moderna e excelente escola fisiológica de Utrecht (trabalhos de Hirsch & Jacobs 1928-1930), mostraram que a glândula do intestino médio possui uma periodicidade secretora, sendo o crescimento o fator primário do ritmo de secreção. Dadas as correspondências morfológicas até certo ponto existentes entre tais glândulas daqueles crustáceos e as dos Ostrácodos, é de crêr que também haja equivalência de funcionamento. As diminutas dimensões destes últimos reclamariam meios técnicos fóra de alcance, para o estudo das funções das respectivas glândulas do intestino médio.

Sob a lupa Greenough, vêm-se muito nítidamente, através da casca de *Str*, as contrações rítmicas das referidas glândulas. Durante a fase contrátil as paredes do tubo glandular não se colapsam inteiramente em toda a extensão. Ao contrário, uma vez dilatado o canal glandular, na máxima dilatação, as paredes do tubo unem-se a partir do fundo de saco, progredindo pouco a pouco o fechamento do canal até a desembocadura no intestino. É possível, sob a lupa, acompanhar este movimento em todas as suas fases como se vê no esquema da Fig. 3 (Est. I). Uma onda contrátil inicia-se na extremidade livre do tubo, percorrendo-o até a desembocadura; vêm-se as células glandulares que margeiam o canal unirem-se, encaixando-se umas nas outras. Não é raro notar-se o desprendimento de uma célula globiforme, refringente, que é, por assim dizer, empurrada para a luz do intestino. Do mesmo modo que a contração, a dilatação do tubo dá-se gradativamente. O desencaixe das células faz-se a partir da extremidade tubular juxtaintestinal e progride para o fundo de saco, pouco a pouco, formando, assim, o canal glandular. Embora gradativos, ambos os movimentos, de contração e de dilatação, são rápidos. Às vezes, principalmente quando os animais são mantidos por longo tempo em pequena quantidade de água de cultura, as contrações não se completam, i. é, o tubo glandular não se fecha totalmente, ou, por outras palavras, o canal não se extingue de todo, seguindo-se imediatamente a fase de dilatação. Nêstes casos, o desencaixe das células dá-se a partir do ponto em que terminou a contração.

Estas observações levaram-me a admitir que, provavelmente, as glândulas do intestino médio de *Str* interferem no equilíbrio osmótico do animal. À medida que a concentração da água de cultura aumentava, as contrações parciais eram mais frequentes. A avaliação de tal interferência, no momento, não foi aqui pesquisada, por ultrapassar o plano do presente trabalho.

### 3.

#### Parte experimental — Métodos empregados

As *Str* retiradas de um grande tanque eram colocadas em um pequeno aquário de vidro com água de fonte, da mesma procedência. Aí eram os animais selecionados, afim de trabalhar tanto quanto possível com material homogêneo. Sendo todas fêmeas, foram escolhidas *Str* portadoras de ovos, visto serem mais numerosos tais espécimes.

Os animais eram transportados para os vidros de relógio e examinados à lupa Greenough. Depois de um período curto de excitação, ficavam em repouso, de tal modo que permitiam, perfeitamente, a contagem das pulsa-

ções da glândula do intestino médio, através da casca transparente. Anotadas a frequência das pulsações e a temperatura do ambiente, fazia-se a contagem de 20 batimentos com um cronômetro manipulado por um auxiliar. Os intervalos máximos das pulsações foram, respectivamente, 40 e 80 segundos. Verificava-se, a seguir, a média do tempo das pulsações. Obtido este resultado, o animal era então submetido à influência das drogas, após esgotamento do líquido da cultura. Sob as mesmas condições, colocavam-se uma a duas gotas de solução sobre o animal. Tal quantidade era bastante para cobri-lo completamente. Repetiam-se as contagens, extraindo-se, da mesma maneira, a média das pulsações.

Em uma segunda série de experiências, depois de conhecido o número médio das contrações da glândula do intestino médio e retirada a água da cultura em que o animal se achava mergulhado, fazia-se atuar a substância imediatamente após uma contração do órgão, contando-se, sob a lupa, o tempo em que as contrações seguintes se davam. Assim, podia-se conhecer o tempo decorrido entre a aplicação da droga e a reação do animal. O pH do líquido de cultura e das soluções das drogas foi conservado sempre em 7,5.

Não possuindo *Str bicuspis bicuspis* coração nem vasos, admite-se que as substâncias tenham sido ingeridas e levadas à referida glândula com o líquido absorvido juntamente com os alimentos. Como se viu à p. 120, as *Str* apreendem os alimentos com as peças bucais e, depois, dirigem-nas para o intestino médio, onde vêm desembocar as referidas glândulas.

As substâncias que se empregaram nas experiências foram: Cloridrato de Acetilcolina Roche, Sulfato de Eserina Merck, Cloridrato de Pilocarpina Roche, Sulfato de Atropina e Cloreto de Potássio, ambos da Casa Merck. Aproveito a oportunidade para agradecer aos representantes da fábrica F. Hoffmann — La Roche & Co, S/A., de Basilea, a gentileza do fornecimento da Acetilcolina, possibilitando, em grande parte, a realização do presente trabalho.

#### 4.

### Ação da Acetilcolina

Foi empregada a solução do cloridrato de acetilcolina em empôlas contendo gr. 0,1 em 2 cc de água bi-distilada. Desta solução foram feitas as demais diluições, com o cuidado de sempre usar preparações recentes.

Quando as *Str* portadoras de ovos são tratadas pela acetilcolina, verifica-se desde logo que as contrações da glândula do intestino se tornam muito rápidas, especialmente nas concentrações mais fortes. Na tabela I vê-se que o tempo médio em que se dão 20 pulsações passou de 17,8 segundos (animal em água da cultura) para 3,9 segundos, quando colocadas as *Str* em acetilcolina a  $1 \times 10^{-2}$ . Na concentração  $1 \times 10^{-3}$  a reação é ainda mais notável. A partir de  $1 \times 10^{-4}$  até  $1 \times 10^{-7}$  a diferença entre os dois tempos médios não é tão sensível: a glândula reage acelerando as contrações, porém, menos acentuadamente. Em cada uma das experiências indicadas na tabela I foram testados de 5 a 10 *Str*., representando os números as médias dos valores obtidos. Nas experiências 132, 135 e 136 os animais, depois de submetidos à acetilcolina, foram transferidos para a água de cultura e contadas as contrações da glândula do intestino médio. Em todos estes casos o número de contrações foi o mesmo que o da primeira contagem, i. é, antes da atuação da droga. Verifica-se pela tabela I que a acetilcolina nas concentrações  $1 \times 10^{-2}$  e  $1 \times 10^{-3}$  aumenta poderosamente a frequência das contrações das glândulas do intestino médio das *Str*.

TABELA I

Valores médios de 20 contrações da glândula do intestino médio de *Str bicuspis bicuspis* mantidas em água de cultura e em acetilcolina em várias concentrações. Valores médios contados em segundos. Temperatura: 22° C; pH = 7,5.

Exp. n.	Água de cultura	Acetilcolina	
	Valores médios	Valores médios	Diluição
131	17,8	3,9	$1 \times 10^{-2}$
132	14,3	5,09	$1 \times 10^{-2}$
133	21,8	3,9	$1 \times 10^{-3}$
134	14,3	11	$1 \times 10^{-4}$
135	9,4	7,6	$1 \times 10^{-5}$
136	25,1	22,9	$1 \times 10^{-6}$
137	21	18,6	$1 \times 10^{-7}$

Pela inspeção da tabela I, vê-se também que a frequência das contrações das referidas glândulas, quando as *Str* são mantidas em água de cultura, é variável entre 9,4 e 25,1 segundos. Tal variação foi desde logo notada nos estudos preliminares, decorrendo daí a norma seguida, sem exceção, durante estas experiências, de determinar previamente, para cada animal, o

que chamaria de "ritmicidade da glândula do intestino médio" i. é, o tempo em que se davam 20 contrações das glândulas.

O tempo que decorre entre a aplicação da droga e o aparecimento das contrações aceleradas varia também com a concentração da acetilcolina.

A tabela II mostra que, em concentrações menores, o referido tempo é consideravelmente maior. Sob a acetilcolina a  $1 \times 10^{-2}$  a aceleração das contrações dá-se em média em 10 segundos. Esse tempo eleva-se a 30 e a 42,8 segundos quando a concentração da droga é diminuída respectivamente para  $1 \times 10^{-3}$  e  $1 \times 10^{-4}$ . Os números indicados nesta tabela II correspondem ao valor médio da contagem em 10 animais para cada número.

Ainda aqui se nota ser a acetilcolina mais ativa na concentração de  $1 \times 10^{-2}$ .

TABELA II

Tempo médio do início da aceleração das contrações da glândula do intestino médio de *Str bicuspis bicuspis* pela influência da acetilcolina a várias concentrações. Tempo expresso em segundos, representando o período que decorre entre a aplicação da substância e a aceleração das contrações.

acetilcolina $1 \times 10^{-2}$	acetilcolina $1 \times 10^{-3}$	acetilcolina $1 \times 10^{-4}$
segundos	segundos	segundos
2	16	32
8	33	41
8	49	45
2	15	52
16	20	32
12	35	41
10	40	52
18	32	51
9	29	42
16	31	40
Média 10,1	30,0	42,8

## 5.

### Ação da Eserina (Physostigmina)

Como é sabido, a eserina intensifica e prolonga os efeitos da acetilcolina. Antes de verificar tal atividade da eserina em relação à acetilcolina, julguei oportuno procurar saber qual a reação que as *Str* ofereciam ao sulfato de eserina isoladamente. Nesta série de experiências segui o mesmo método

empregado para a acetilcolina. As *Str* reagem muito menos eficazmente à eserina.

A análise da tabela III mostra ser muito pequena a aceleração das contrações das glândulas do intestino médio sob a influência da substância, exceto nas diluições  $1 \times 10^{-4}$  e  $1 \times 10^{-7}$  em que as 20 contrações se deram, em média, respectivamente, em 27,05 e 27,3 segundos nos animais da cultura, e em 11,8 e 17,4 segundos quando eserinizados (Exp. 140 e 142).

TABELA III

Valores médios de 20 contrações da glândula do intestino médio de *Str bicus-  
pis bicuspis* mantidas em água de cultura e em eserina a várias concentrações. Valores médios contados em segundos. Temperatura 22°C; pH 7,5.

Exp. n.	Água de cultura	Eserina	
	Valores médios	Valores médios	Diluição
138	15,6	14,1	$1 \times 10^{-2}$
139	21,4	19,3	$1 \times 10^{-3}$
140	27,05	11,8	$1 \times 10^{-4}$
141	30	28,2	$1 \times 10^{-5}$
142	27,3	17,4	$1 \times 10^{-6}$

A seguir, procurei verificar o efeito da acetilcolina potencializada pela eserina. Para isso, foi mister determinar previamente o tempo de ação da acetilcolina, i. é, o tempo em que perdura a aceleração das contrações das glândulas do intestino médio. Os resultados obtidos foram, porém, tão variados numa mesma e em várias concentrações de acetilcolina, que, praticamente, tal tempo de duração não pode ser exatamente determinado. O início da influência da droga, i. é, a acentuação da frequência das contrações das glândulas, não oferece dificuldade, como se pode ver pelo que acima foi exposto. A volta ao ritmo normal, porém, é, por assim dizer, imperceptível. Tão lentamente ela se dá que é difícil dizer se o efeito da acetilcolina já passou ou não. A dificuldade cresce com o fato de cada *Str* possuir um ritmo próprio de contrações das glândulas do intestino médio. Somente com um número muito grande de observações, que ainda não me foi possível realizar, é que se poderia verificar neste animal o efeito potencializador da eserina sobre a acetilcolina. No momento, só se pode dizer que a eserina, embora em grão menor, também influencia a frequência das contrações da mencionada glândula, acelerando-a.

## 6.

## Ação da Atropina

Em conexão com o estudo da influência da acetilcolina, procurei verificar a atividade, sobre o mesmo animal, do antagonista desta substância, i. é, da atropina. Em primeiro lugar, propús-me avaliar a reação dos animais à atropina e, a seguir, o efeito que este alcaloide poderia ter sobre as Str acetilcolinizadas. Como se pode notar na tabela IV, a atropina, em todas as concentrações ( $1 \times 10^{-2}$  e  $1 \times 10^{-6}$ ), provoca notavel retardamento das contrações das glândulas do intestino médio. As concentrações mais eficazes são  $1 \times 10^{-6}$ , i. é, aquelas que maior retardamento determinaram.

TABELA IV

Valores médios de 20 contrações, da glândula do intestino médio de Str bicus-  
pis bicuspidis mantidas em água de cultura e em sulfato de atropina a várias con-  
centrações. Valores médios contados em segundos. Temperatura 24°,5C; pH 7,5.

Exp. n.	Água de cultura	Atropina	
	Valores médios	Valores médios	Diluição
143	6,2	7,3	$10^{-2}$
144	7,7	14,09	$10^{-3}$
145	5,3	9,3	$10^{-4}$
146	11,4	18,7	$10^{-5}$
147	15,1	42,9	$10^{-6}$

Quando as Str são tratadas com a acetilcolina, o tempo de reação dos animais, como foi visto, é notavelmente rápido, principalmente nas concentrações mais fortes. Substituída a solução de acetilcolina pela de atropina, dá-se a abolição dos efeitos daquela substância num tempo médio de 32,9 segundos (Tabela V). Trocando-se agora a atropina pela acetilcolina, o efeito característico desta é restabelecido quasi dentro do mesmo tempo (28,9 segundos). Não me foi possível verificar a correspondência entre efeitos de abolição e de restabelecimento da aceleração das contrações das glândulas por estas substâncias em outras concentrações além de  $1 \times 10^{-2}$ .

TABELA V

Ação da acetilcolina e da atropina sobre a frequência das contrações da glândula do intestino médio de *Str. bicuspid bicuspid* Tempo expresso em segundos. Temperatura 22°C; pH 7,5.

Acetilcolina $1 \times 10^{-2}$	Atropina $1 \times 10^{-3}$	Acetilcolina $1 \times 10^{-2}$
Tempo de ação	Abolição do efeito da acetilcolina	Restabelecimento da ação da acetil. $1 \times 10^{-2}$ depois de agir a atropina
segundos	segundos	segundos
6	30	25
9	28	27
10	31	31
6	32	24
7	41	32
11	33	28
18	40	35
9	35	30
11	29	29
15	30	28
—	—	—
Média 102	32,9	28,9

## 7.

## A ação da Pilocarpina

A reconhecida ação excitadora da pilocarpina sobre as glândulas dos Vertebrados foi também pesquisada sobre a glândula do intestino médio de *Str.* Não logrei indagar da relação entre a atividade deste alcaloide e seu antagonista, a atropina. E' de se crêr, que, também em *Str.*, a pilocarpina anule, pelo menos em parte, o efeito do referido alcaloide da beladona.

As *Str.* mostraram-se extremamente sensíveis à pilocarpina. Realmente, quando sujeitas a êste alcaloide na concentração de  $1 \times 10^{-2}$ , a glândula do intestino médio duplica o número de contrações. A tabela VI é muito significativa. Nas experiências de uma das séries (n. 148) a glândula que se contraía 20 vezes em 2,7 segundos, sendo o animal mantido no líqui-

do de cultura, sob a ação do alcaloide passou a ter êsse mesmo número de contrações em 1 segundo. A sensibilidade mostrou-se maior, porém, na concentração  $1 \times 10^{-3}$  em que aquele número de contrações (20) se deu, o animal na cultura, em média em 91,8 segundos, passando êste tempo a ser de 9,8 (10 vezes mais rapidamente) quando o líquido foi substituído pela pilocarpina nessa concentração. A partir de  $1 \times 10^{-4}$  a reação dos animais não é tão acentuada como se pode notar pela inspeção da tabela VI.

TABELA VI

Valores médios de tempo gasto em 20 contrações da glândula do intestino médio de *Str. bicuspis bicuspis* mantidas no líquido de cultura e em cloridrato de pilocarpina a varias concentrações. Valores médios contados em segundos. Temperatura 27°C; pH 7,5.

Exp. n.	Líquido de cultura	Pilocarpina	
	Valores médios	Valores médios	Diluições
148	2,7	1,0	$1 \times 10^{-2}$
149	91,8	9,8	$1 \times 10^{-3}$
150	25,05	22,4	$1 \times 10^{-4}$
151	14,5	10,9	$1 \times 10^{-5}$
152	27,4	11,3	$1 \times 10^{-6}$
153	9,5	7,05	$1 \times 10^{-7}$

## 8.

## Ação do Cloreto de Potássio

Pareceu-me adequado inquirir sobre a reação da glândula do intestino médio de *Str* aos sais de potássio, que nos Vertebrados são estimulantes do sistema nervoso visceral. Embora não se ache ainda completamente esclarecido o neuromimetismo dos ions potássio e nem se conheça ainda qual a parte que tais ions tomam na fisiologia do sistema nervoso visceral (Goodman & Gilman 1941, p. 341), é notório que as estruturas inervadas por êste sistema de nervos colinérgicos são por êles estimuladas.

A glândula do intestino médio das *Str* tratadas pelo KCl em várias concentrações reage por uma notável aceleração das contrações. A tabela VII indica como cresce a frequência das contrações em todas as concentrações do referido sal, de  $1 \times 10^{-2}$  a  $1 \times 10^{-6}$ .

TABELA VII

Valores médios de tempo gasto em 20 contrações da glândula do intestino médio de *Str. bicuspis bicuspis* mantidas no líquido de cultura em cloreto de potássio a varias concentrações. Valores médios contados em segundos. Temperatura 18°C; pH 7,5.

Exp. n.	Líquido de cultura	Cloreto de potássio	
	Valores médios	Valores médios	Diluições
158	25	3,8	10 <sup>-2</sup>
159	25,8	11,7	10 <sup>-3</sup>
160	22	18,1	10 <sup>-4</sup>
161	19,1	11,2	10 <sup>-5</sup>
162	48,3	24,4	10 <sup>-6</sup>

## 9.

## Ação da temperatura

Durante as experiências, como foi dito, antes de submeter as *Str* às drogas aludidas, contou-se sempre o número de contrações da glândula do intestino médio, achando-se o animal na água de cultura. Em cada uma das experiências, também já foi referido, utilizei-me de não menos que dez animais, representando os números das tabelas a média dos valores obtidos de

TABELA VIII

Tempo médio em segundos de 10 contrações	Temperatura C.º
7	18º
10	22º
20	24º5
7	27º3

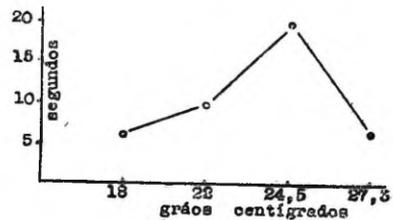


Gráfico correspondente à Tab. VIII

dez ou mais contagens. Tendo realizado o presente trabalho durante o verão passado, a temperatura variou de 18° a 27°3C. Calculando-se pelas tabelas I, III, IV, VI e VII, em que as temperaturas foram, respetivamente, 22°, 22°, 24°5, 27°3 e 18°, a média do tempo de 10 contrações, temos a tabela VIII com o respectivo gráfico.

Vê-se que uma elevação gradativa da temperatura não determina alteração sensível do ritmo das contrações da glândula do intestino médio. Sendo as *Str* animais do fundo, que podem ser incluídos entre os Ostrácodos que arranham o solo dos tanques e poços, acham-se habituados a pequenas oscilações térmicas. A diferença que se nota a 24°5 deve, provavelmente, correr por conta do pequeno número de contagens. Tal número foi de 60 à 24°5, enquanto que nas temperaturas restantes as contagens nunca foram menores que 150.

Não tendo sido a variação das contrações da glândula do intestino médio objeto de pesquisa especial, mas, aquí relatada no decurso de outras, é possível que tal discrepância da curva térmica que se nota no gráfico respectivo tenha outras causas que somente investigações futuras poderão determinar. Como quer que seja, pelo menos, nas pesquisas aquí descritas é evidente que a temperatura, à parte os dados a 24°5, não teve interferência notável nos resultados obtidos.

## 10.

### Discussão dos resultados

A ação da acetilcolina, da eserina, da atropina, da pilocarpina e do cloreto de potássio sobre a glândula do intestino médio de *Str bicuspis bicuspis* é tal que sugere a possibilidade de este órgão ser provido dos nervos colinérgicos. A acetilcolina intensifica a frequência das contrações, o mesmo acontecendo com a eserina, a pilocarpina e o cloreto de potássio. Por outro lado, notou-se que a ação da acetilcolina é anulada pela atropina. Sob a influência unicamente desta última substância, a glândula do intestino médio mostra um retardamento na frequência das contrações. Quando o animal é submetido à acetilcolina e depois à atropina, há manifesta diminuição de tal frequência, chegando a primeira a ter a sua ação anulada. Esta ação volta a intensificar-se quando a acetilcolina é então ajuntada à preparação. As *Str* reagem fortemente à pilocarpina, chegando a duplicarem o número das contrações da glândula, quando o alcalóide está na concentração  $1 \times 10^{-2}$ .

O comportamento da glândula do intestino médio sob a ação de tais substâncias, especialmente da acetilcolina, intensificando ou retardando as contrações, permitiu determinar o tempo que decorre entre a aplicação da droga e o aparecimento do fenômeno. A acetilcolina nas concentrações de  $1 \times 10^{-2}$  e  $1 \times 10^{-3}$  produz uma acentuada aceleração das contrações em menos de 5 segundos. Em maiores diluições este período é muito mais dilatado, permanecendo entre 30 e 40 segundos.

Quer-me parecer que a efetividade da acetilcolina é dependente da rapidez de penetração e de difusão da droga no local de atuação, e da velocidade de destruição da droga. A acetilcolina a  $1 \times 10^{-8}$ , quando precedida da eserina a  $1 \times 10^{-8}$ , produz a aceleração das contrações da glândula do intestino médio em menos de um minuto. Tais reações sem dúvida, acham-se relacionadas com a suplência nervosa da aludida glândula.

Como foi assinalado, pouquíssimas são as informações a respeito da inervação dos órgãos do trato digestivo dos Ostrácodos. A julgar pelos resultados obtidos nas experiências aqui descritas, a rede estômato-gástrica deve ser muito densa. A grande rapidez com que a glândula do intestino médio reage às drogas colinérgicas é bem um índice da ocorrência de tal inervação.

Os resultados da influência da acetilcolina, da eserina, da atropina e da pilocarpina sobre a referida glândula de *Str* lembram muito de perto aqueles obtidos por Davenport (1941), que utilizou algumas destas substâncias e mais a nicotina sobre o coração do *Cancer magister*. Neste Decápodo a ação da acetilcolina em corações não eserinizados provoca aumento de amplitude e da frequência. Em alguns corações em que não houve aumento da frequência ou da amplitude, resultou, todavia, um aumento do tonus. Nos corações de *Cancer* a eserina também aumenta a sensibilidade à acetilcolina (p. 180). O efeito da atropina sobre os corações desse Decápodo é mais acentuado que sobre a glândula do intestino médio de *Str*. Naqueles, a droga na diluição de 1:20.000 abole completa e imediatamente os efeitos da acetilcolina, enquanto que no Ostrácodo tal anulação somente se dá muito mais tarde ou, então, quando o alcalóide tem alta concentração.

Recentissimamente, o mesmo Davenport (1942, p. 259) voltou a estudar a ação da acetilcolina, da eserina, da nicotina, do curare, do doril e do mecolil sobre o coração ainda do *Cancer magister*, realizando experiências com a aplicação combinada destas substâncias. Os efeitos "de nicotina" e os "de muscarina" da acetilcolina são discutidos, chegando o autor a verificar grande semelhança de ambos efeitos da acetilcolina.

Com fundamento na semelhança dos efeitos "de nicotina" e da acetilcolina sobre o coração isolado de *Cancer*, foi proposto um mecanismo hipotético de mediação, sugerindo-se que os efeitos da acetilcolina podiam ser como os "de nicotina" agindo sobre o gânglio e como os "de muscarina" agindo na junção neuro-muscular, uma vez que se tenha demonstrado serem bloqueados os efeitos da acetilcolina pela administração da atropina. Para Davenport (1941, p. 178) a acetilcolina podia ter uma ação "de nicotina" sobre o gânglio e uma ação "de muscarina" na junção neuro-muscular; Welsh (1939, p. 231), porém, emitiu a hipótese de que neste mecanismo de mediação, os modos de ação da acetilcolina nos dois pontos são invertidos. Embora os

resultados aquí obtidos sôbre a glândula do intestino médio de *Str* não sejam de todo comparáveis aos daqueles autores sôbre o coração de *Cancer* pode-se dizer que a acetilcolina tem o efeito "de muscarina" i. é, excita e acelera as pulsações da referida glândula, sendo anulado tal efeito pela atropina. Quando se faz atuar a acetilcolina sôbre a glândula aludida, ocorrem também vigorosas contrações do estômago e de todo o restante do intestino médio. Estas excitações são também anuladas pela atropina. É evidente o efeito "de muscarina" daquela substância. Aquí em *Str* cumpre notar, as contrações intestinais, embora vigorosas, não provocam a expulsão do conteúdo do intestino, tal como em *Daphnia magna* é apontado por Obreshkove (1941, p. 107).

Aos Crustáceos foi também extendida a hipótese da transmissão química do influxo nervoso. Marnay & Nachmansohn (1937, p. 1005) admitem-na para o sistema neuromuscular daqueles Artrópodos. Bacq & Nachmansohn (1937, p. 368) foram levados à pesquisa da colinesterase nos m. dos Crustáceos, encontrando-a na mesma concentração que nos Moluscos e nos Equinodermas. Não obstante, Bacq (1937, p. 179) afirma que a acetilcolina não teria ação sôbre o m. dos Crustáceos. Foi também determinada nêstes animais a capacidade dos nervos de hidrolisarem a acetilcolina. Assim, Marnay & Nachmansohn (1937, p. 1006) verificaram que a concentração da colinesterase no nervo abdominal de *Homarus vulgaris* ultrapassa de muito a de todos os outros tecidos examinados até então pelos autores citados. Notaram êles que 100 mgr. de nervo podem hidrolizar, em uma hora, 15 a 20 mgr. de acetilcolina, o que corresponde de 15% a 20% do seu peso. É possível que em *Str* a duração relativamente pequena do efeito da acetilcolina sôbre a glândula do intestino médio corra por conta de uma elevada taxa de colinesterase. Como anotei anteriormente, não me foi possível determinar rigorosamente o tempo de ação da acetilcolina, mas posso afirmar ser o mesmo bem pequeno.

A glândula do intestino médio de *Str* é provida de músculos e, sem dúvida, fartamente innervada pelo sistema estômato-gástrico. A se levar em conta o resultado das pesquisas de Bacq (1935, p. 247 e 1935b, p. 59) sôbre a distribuição da colinesterase nos músculos dos Invertebrados, em que o autor afirma não a ter encontrado nos dos Crustáceos e, porisso, a acetilcolina não inflúe sôbre os mesmos, evidentemente também os de *Str* deveriam ser insensíveis a essa droga. Os resultados das experiências agora realizadas nêste Ostrácodo, porém, demonstram o contrário, pelo menos na parte que tóca à glândula do intestino médio. Aliás, cumpre observar, o próprio Bacq, na série de pesquisas sôbre a fisiologia e a farmacologia do sistema nervoso autônomo, apresenta, às vezes, conclusões contraditórias ora afirmando ora ne-

gando a existência de uma colin-esterase nos tecidos dos Crustáceos (1935, p. 42; 1935a, p. 59; 1936, p. 188).

A transmissão neuromuscular nos Crustáceos foi revista em 1936 por B. Katz trabalhando com preparados de *Carcinus maenas* e de *Maia squinado*. De suas inúmeras pesquisas conclue o autor (p. 218) que o mecanismo da transmissão neuromuscular nos Crustáceos não está ainda esclarecido, nele, porém, não tomando parte a acetilcolina. Sugere que os ions K e o Mg influenciam ou tomam parte na transmissão neuromuscular dos impulsos nêstes animais e é possível que o processo acumulativo na junção mioneural ("facilitation of transmission") é devido antes a um mecanismo fisico-químico que a um químico especial. A acetilcolina, porém, realmente ocorre nos tecidos dos Crustáceos. As investigações de Welsh (1938 etc.) já indicadas não deixam dúvidas a respeito. Além disso, está demonstrado que esta substância tem acentuada influência sôbre o coração dêstes animais e, conforme as experiências agora realizadas, também sôbre as contrações da glândula do intestino médio de *Str*

Como até agora não foi demonstrada nos Ostrácodos a presença ou ausência de uma colinesterase, a questão de como a acetilcolina, se presente em *Str.*, pode ser considerada como mediador químico do influxo nervoso, somente poderá ser resolvida com futuras investigações.

Nêste trabalho pretendi verificar principalmente se as *Str* reagem pela glândula do intestino médio àquela e a outras substâncias colinérgicas. Realmente isso se dá, o que indica, em comparação com os resultados obtidos por outros autores em Crustáceos, que a glândula do intestino médio está relacionada com os elementos do sistema autônomo. A julgar pelas reações da glândula às mencionadas drogas, possivelmente predominam os elementos parasimpáticos.

Relativamente ao aparelho de apreensão, as minhas observações em *Str* mostram que as peças que o compõem agem como as de outros Ostrácodos, conforme as pesquisas de Cannon em *Pionocypris vidua* e de Storch em *Notodromas monacha*.

Os resultados destas experiências levam às seguintes conclusões:

1. A frequência das contrações da glândula do intestino médio das *Str* é fortemente aumentada pela acetilcolina em concentrações elevadas.
2. Quanto maior fôr a concentração desta substância, mais rapidamente ela atua, aumentando a frequência das contrações da glândula.
3. O "efeito de muscarina" da acetilcolina sôbre a glândula é evidente.
4. A eserina também aumenta, mas em menor gráo, a referida frequência e prolonga o efeito da acetilcolina.

5. A atropina isoladamente diminui a frequência das contrações e anula a ação da acetilcolina sobre a glândula.

6. Tanto a pilocarpina quanto o cloreto de potássio alteram o ritmo das contrações da glândula do intestino médio de *Str.*, aumentando a frequência.

7. As diferenças de temperatura entre 18° e 27°3 não têm sensível influência sobre tal frequência.

8. O aparelho apreensor das *Str.*, como o de *Pionocypris vidua* e o de *Notodromas monacha* funciona por um complicado mecanismo em que as peças bucais e as antenas provocam a corrente d'água portadora dos alimentos. Este mecanismo é descrito no presente trabalho.

## II.

### Summary

On the feeding mechanism and the physiology of the mid gut glands (hepatic coeca) of an Ostracod. The action of the autonomic (cholinergic) drugs.

The results of several workers suggesting a humoral mechanism of neuromuscular transmission in higher animals reopened the question of the relation between cholinergic transmission and the presence of acetylcholine and cholinesterase. The behaviour of many Invertebrates in relation to the so called autonomic drugs is so different in several animals (Arthropods, Molluscs, etc.) that it is difficult to systematize the results until now obtained in many experiments. On the other hand, a high quantity of acetylcholine is found in crustacean tissues, and the exciting action of this drug and its influence on the autotomy have recently been demonstrated by Hoadley (1934, p. 494; 1937, p. 155); Welsh (1938, p. 151; 1939, p. 237); Welsh & Haskin (1939, p. 414); Davenport, Loomis & Opler (1940, p. 498); Davenport (1941, p. 179; 1942, p. 255) and others. The mechanism of transmission in crustaceans has been discussed by Katz (1936, p. 219), Back (1935-1936), and the results of their experiments do not agree completely. Bacq's works have some contradictory conclusions about the occurrence of cholinesterase in crustacean tissues. It appears worth while to investigate the action of this and other autonomic drugs on the mid gut glands of Ostracods. These glands normally contract rythmically, and under the influence of the referred drugs the frequency of their contractions is altered.

The material for the experiments here described is *Strandesia bicuspis bicuspis* (Claus, 1892). The animals live in the aquarium. Some morpho-

logical and taxonomic characters (Fig. 3-13) of this Ostracod are presented. Figs. 1-2 indicate some peculiarities of its internal organisation, chiefly of the mid gut glands. The *Strandesia* (*Str*) are small (mm 1.5 length), and have transparent valves. Under the Greenough microscope it is possible to count the contractions of their mid gut glands. All animals employed were females and had the eggs not yet cleaved. It is known since Klie (1926) and Furtos (1936) that the male of this Ostracod is not yet found; probably reproduction is parthenogenetic, as it is very common in these crustaceans. The chemical substances employed were acetylcholine chloride Roche, Eserine (Physostigmine) sulphate Merck, Pilocarpine chloride Roche, Atropine sulphate and Potassium chloride, both from Merck. Each experiment was performed with only one *Str* separately, but each value of the tables (I-VII) corresponds to medium of 10 animals counted. A single *Str* was transferred to a small watch glass in the culture medium. Twenty contractions of the mid gut glands were counted and the time elapsed and the temperature noted. Immediately after removing the culture medium the chemical substance was added, whose action on the animal was to be studied. After some time of exciting the animal was calm, and the contractions of the gland were counted. In a second series of experiments the period elapsing from the addition of the drug to the appearance of the first contraction was marked, and the time of abolishing the acetylcholine effect by atropine.

The animal is seen to ingest the fluid and solid particles. The water current is produced by the movement of the various pieces of the feeding apparatus (antennules, antennal, mandibles, maxillae, maxillules, and lips), whose mechanism was studied using Storch's method little modified by taking off the flange and the animal placed on a slide with a thin film of vaseline. By compressing the crustacean with the cover glass it is possible to see the feeding apparatus from the front and analyse its mechanism. The results of this study accord to those published by Cannon (1925) on *Pionocypris vidua* and Storch (1933) on *Notodromas monacha*.

The action of Acetylcholine, Eserine (Physostigmine), Atropine, Pilocarpine and Potassium chloride on the mid gut gland is such that it strongly suggests the possibility that this organ is controlled by cholinergic nerves. The acetylcholine intensifies the activity of the mid gut gland by increasing its contractions at concentrations  $1 \times 10^{-2}$  and  $1 \times 10^{-3}$ . This action of acetylcholine was shown to be antagonized by atropine and increased and prolonged by eserine. The time which elapses between the application of the chemical substance and the onset of the specific effect produced is relatively very short. Under the  $1 \times 10^{-2}$  concentration of acetylcholine, this time is

about 5 seconds. The time of activity of the different concentrations ( $1 \times 10^{-2}$  to  $1 \times 10^{-4}$ ) of this substance varies from 30 to 40 seconds.

Pilocarpine and Potassium chloride also act on the mid gut gland by accelerating its contractions. Both these substance intensify the contractions at stronger concentrations ( $1 \times 10^{-2}$  to  $1 \times 10^{-4}$ ). With further dilution of the drugs the contractions are not so vigorous. These and other observations recorded in this paper are in accord with the role which has been ascribed to these substances in physiological processes where nervous impulses are involved and where acetylcholine is believed to act as a transmitter of nervous impulses. The view points of Davenport (1941 & 1942) and Walsh (1939) on the nicotine-like action on the controlling ganglion and the muscarine-like action at the neuro-muscular junction are also discussed. The effects of acetylcholine on the contraction of the mid gut gland have rather a muscarine-like action. The drug excites the contractions of the gland and its effects are abolished by atropine.

Until now many authors describe the innervation of the crustacean intestinal canal by the stomatogastric system. Hanström (1928) and others indicate the sympathetic nature of these nerves, and some of their peculiarities in the Ostracods, that is: their connection with the tritocerebrum. The observations recorded in this paper carry on to admit that the mid gut gland is provided with a dense net of the autonomic nervous system.

This gland has a peculiar manner of contraction which begins at the free extremity and progresses to the opening in the mid gut. During this movement the several cells of the gland interpenetrate one another (Est. I Fig. 3). The antagonistic movement, that is, the dilatation of the gland initiates from the intestine. In consequence, the glandular canal is completely formed as soon as the glandular cells are separated one from the other. In high concentration culture medium the opening and the closing of the gland are more rapid than in low concentration. It is suggested that this gland also promotes the osmotic pressure regulation of the Ostracod.

The present observations and experiments may support the following conclusions:

1. Acetylcholine produces in *Str. bicuspis* increase of the frequency of the mid gut gland contractions;
2. Stronger concentrations of the drug act more rapidly and augment the referred frequency;
3. Acetylcholine acts on the mid gut gland with muscarine-like effect;
4. Eserine potentialises the acetylcholine effects. Using only eserine there is in *Str. b.* an augmentation of the number of contractions of the gland;

5. Atropine blocks the action of acetylcholine. Treated only with this drug the gland diminishes its contractions;

6. Pilocarpine and Potassium chloride change the rhythm of the mid gut gland contractions, producing their augmentation;

7 The temperature between 18° and 27°,3 C. does not interfere on the rhythm of the contractions.

## 12.

### Literatura

- ALEXANDROWICKZ, J. S. 1909. Zur Kenntnis des sympathischen nervensystems der Crustaceen. Jena. Zeit. f. Naturwiss., v. 45, pp. 395-444 t. 30-34, Jena.
- BACQ, Z. M. 1935. La choline-estérase chez les Invertébrés. C. R. Soc. Biol. Paris, v. 120, pp. 247-248, Paris.
- 1935a. Recherches sur la Physiologie et la Pharmacologie du système nerveux autonome. XVII. Les esters de la Choline dans les Extraits des Tissus des Invertébrés. Arch. Intern. Physiologie, v. 42, pp. 24-42, Liège.
- 1935b. Idem. XIX. La Choline-estérase chez les Invertébrés. L'insensibilité des Crustacés à l'Acétylcholine. Ibid. pp. 47-60.
- 1937. Nouvelles observations sur l'Acétylcholine et la Choline-estérase chez les Invertébrés. Ibid. v. 44, f. 2, pp. 174-189.
- BACQ, Z. M. & NACHMANSOHN, D. 1937. Cholinesterase in Invertebrate muscles. Journ. of Physiol. v. 89, n. 4, pp. 368-371. London.
- BALSS, H. 1926. Decapoda, em Kükenthal-Krumbach: Hand d. Zool. v. 3, 1 1/2. f. 7-9. pp. 840-1158 Berlin & Leipzig.
- BERGOLD, A. 1910. Beiträge zur Kenntnis des innern Baues der Süßwasserostracoden. Zool. Jahrb. Abt. Anat. v. 30, n. 1, pp. 1-42, t. 1-3. Jena
- CANNON, H. G. 1922. On the Labral Glands of a Cladoceran (*Simocephalus vetulus*) with a description of its mode of feeding. Quart. Journ. micr. Science, v. 66, N. S. n. 262, pp. 213-234, t. 9 e 10, London.
- 1925. On the Feeding Mechanism of a Freshwater Ostracod, *Pionocypris vidua* (O. F. Müller). Linn. Journ. Zool., v. 36, p. 325-334, London.
- CLAUS, C. 1892. Beiträge zur Kenntnis der Süßwasser-Ostracoden. Arb. Zool. Inst. Wien., v. 10, pp. 147-216, t. 1-12, Wien.
- DALE, H. H., FELDBERG, W. & VOGT, M. 1936. Release of Acetylcholine at voluntary motor nerve Endings. Journ. Physiology, v. 86, n. 4, pp. 353-380, London.
- DAVENPORT, D. 1940. The action of acetylcholine and nicotine on the heart of Molluscs and Arthropods with particular reference to *Ariolimax*, *Astacus* and *Cancer*. Anat. Record, v. 78, Suppl. p. 69, Philadelphia.
- 1941. The Effects of Acetylcholine, Atropine and Nicotine on the Isolated Heart of the Commercial Crab, *Cancer magister* Dana. Physiol. Zool. v. 14, n. 2, pp. 178-185, Chicago.
- 1942. Further Studies in the Pharmacology of the Heart of *Cancer Magister* Dana. Biol. Bull. v. 82, n. 2, pp. 255-260, Lancaster, Pa.

- DAVENPORT, D., LOOMIS, J. W. & OPLER, C. F. 1940. Notes on the Pharmacology of the Hearts of *Ariolimax columbianus* and *Astacus trowbridgei*. *Biol. Bull.* v. 79, n. 3, pp. 498-507, Lancaster, Pa.
- FASSBINDER, K. 1912. Beiträge zur Kenntnis des Süßwasserostacoden. *Zool. Jahrb. Abt. Anat.* v. 32, n. 4, pp. 533-576, t. 31 e 32, Jena.
- FRANKE, H. 1925. Der Fangapparat von *Chydorus sphaericus*. *Zeit. wiss. Zool.* v. 125, pp. 271-298, Leipzig.
- FRENKEL, J. 1884. Über die Mitteldarmdrüse der Crustaceen. *Mith. zool. Staz. z. Neapel.* v. 5, n. 1, pp. 50-101, t. 4, Leipzig.
- FURTOS, N. C. 1936. Ostracoda from the Cenotes of Yucatan and Vicinity, em Pearse A. S., Creaser, E. P & Hall, F. G. *The Cenotes of Yucatan, a Zoological and hydrographic survey.* Publ. Carnigie Inst. Washington, 34 pp. Washington.
- GAUTRELET, J. 1935. La choline et l'adrénaline dans l'organisme; leur rôle dans la transmission humorale de l'excitation nerveux limité aux Vertébrés. *Bull. Acad. Médecine.* v. 113, pp. 238-243, Paris.
- GIESBRECHT, W. 1913. Crustacea, em LANG, A.: *Handb. d. Morphologie d. wirbellosen Tiere.* v. 4, 1 e 2 f., 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> ed., pp. 9-252, Jena.
- GOODMAN, L. & GILMAN, A. 1941. *The Pharmacological Basis of Therapeutics.* XIII + 1383 pp. New York.
- HANSTRÖM, B. 1924. Beiträge zur Kenntnis des zentralen Nervensystems der Ostracoden und Copepoden. *Zool. Anz.*, v. 61, pp. 31-38, Leipzig.
- 1928. *Vergleichende Anatomie des Nervensystems der Wirbellosen Tiere.* XI + 62 pp. Berlin.
- HIRSCH, G. C. & JACOBS, W. 1928/1930. Der Arbeitrythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. I & II parts. *Zeits. vergl. Physiol.* v. 8, n. 1, pp. 102-144 e, v. 12, n. 3/4, pp. 524-558, Berlin.
- HOADLEY, L. 1934. Autotomy in the anomuran, *Porcellana platycheles* (Permant). *Biol. Bull.* v. 67, n. pp. 494, Lancaster, Pa.
- 1937. Autotomy in the brachyuran, *Uca pugnax*. *Ibid.* v. 73, n. pp. 155.
- JORDAN, H. J. 1929. *Allg. vergl. Physiologie d. Tiere.* XXVII + 761 pp. Berlin & Leipzig.
- JULIEN, A. 1936. De l'action de certains poisons sur le coeur de l'huître et des Mollusques en général. *Journ. Physiol. Path. Gén.* v. 34, pp. 774-789.
- KATZ, B. 1936. Neuromuscular transmission in Crabs. *Journ. of Physiol.* v. 87, pp. 199-221, 2 t. London.
- KEIM, W. 1915. Das Nervensystem von *Astacus fluviatilis* (*Potomobius astacus* L.). *Zeit. wiss. Zool.* v. 113, pp. 485-545, Leipzig.
- KLIE, W. 1926. Ostracoda, em Schultze, P.: *Biol. d. Tiere Deutsch.*, f. 16, 56 pp. Berlin.
- 1931. Ostracoden aus dem paraguayischen Teile des Gran-Chaco. *Arch. f. Hydrobiologie*, v. 22, pp. 240-244, Stuttgart.
- 1932. Die Ostracoden der Deut. Limnologischen Sunda-Expedition. *Archiv. f. Hydrobiologie, Suppl.* v. 11, pp. 447-502, t. 64-69. Stuttgart.
- 1940. Süßwasserostacoden aus Nordostbrasilien. V. Die Gattung *Strandesia*. *Zool. Anz.* v. 129, n. 178, pp. 201-206, Leipzig.
- LEMOINE, V. 1868. Recherches pour servir à l'histoire des systèmes nerveux musculaire et glandulaire de l'Écrevisse. *Ann. Sc. Naturelles*, 5.<sup>e</sup> ser., *Zool.* v. 9, pp. 99-280, t. 6-11, Paris.

- LÜDERS, L. 1909. *Gigantocypris Agassizii* (Müller). *Zeit. wiss. Zool.* v. 92, n. 1, pp. 103-148, t. 7-8, Leipzig.
- MARNAY, A. & NACHMANSOHN, D. 1937. Cholinesterase dans le Nerf de l'Homard. *C. R. Soc. Biol. Paris*, v. 125, pp. 1005-1007, Paris.
- MILNE-EDWARDS, H. 1834. *Histoire Naturelle des Crustacées*. v. 1, XXV + 468 pp. Paris.
- MOCQUARD, F. 1883. L'Éstomac des Crustacés Podophthalmaires. *An. Sc. Naturelles, Zoologie*, 6.<sup>e</sup> sér., v. 16, pp. 1-311, 1 t. Paris.
- MÜLLER, G. O. 1927. Ostracoda, em Kükenthal-Krumbach: *Handb. d. Zool.* v. 3, 1.<sup>e</sup> 1/2, f. 4, pp. 399-434, Berlin & Leipzig.
- OBRESHKOVE, V. 1941. The Action of Acetylcholine, Atropine and Physostigmine on the Intestine of *Daphnia magna*. *Biol. Bull.* v. 81, n. 1, pp. 105-113, Lancaster, Pa.
- PROSSER, C. L. 1940. Acetylcholine and nervous inhibition in the heart of *Venus mercenaria*. *Biol. Bull.* v. 78, pp. 92-102, Lancaster, Pa.
- RETZIUS, G. 1890. Zur Kenntnis des Nervensystems der Crustaceen. *Biol. Untersuchungen*, N. F., v. 1, pp. 1-50, t. 1-14, Stockholm.
- SCHREIBER, E. 1922. Beiträge zur Kenntnis der Morphologie, Entwicklung und Lebensweise Süßwasser Ostracoden. *Zool. Jahrb. Abt. Anat.*, v. 43, n. 4, pp. 485-538. Jena.
- STORCH, O. 1922. Der Fangapparat der Daphniden für Nanoplankton. *Verh. Deut. Zool. Gesell. z. Würzburg*, pp. 61-63. Berlin.
- 1925. Der Phyllopoden-Fangapparat. *Intern. Rev. d. ges. Hydrobiol. u. Hydrographie*, v. 17, f. 5/6, pp. 369-391, Leipzig.
- 1926. Morphologie u. Physiologie d. Fangapparates der Daphniden. *Erg. u. Fortschr. d. Zoologie*, v. 6, f. 1 [1924], pp. 125-234. Jena.
- 1928. Der Nahrungserwerb zweier Copepodennauplien (*Diaptomus gracilis* u. *Cyclops strenuus*). *Zool. Jahrb. Abt. Zool. u. Physiol.* v. 45, pp. 385-436. Jena
- 1933. Analyse der Fangapparate niederer Krebse auf Grund von Mikro-Zeitlupeaufnahmen. I, II & III, *Biologia Generalis*, v. 9, f. 2 & pt. 2, pp. 151-198, 355-394 & 299-330, Wien & Leipzig.
- WELSH, J. H. 1938. Occurrence of Acetylcholine in Nervous Tissue of Crustaceans and its effect on the Crab Heart. *Nature*, v. 142, n. 4586. Suppl. p. 151, London.
- 1939. Chemical Mediation in Crustaceans. II. The action of Acetylcholine and Adrenalin on the Isolated Heart of *Palinurus argus*. *Physiol. Zool.* v. 12, n. 3, pp. 231-237, Chicago.
- 1940. The action of acetylcholine on Lobster heart. *Anat. Record*, v. 78, suppl., p. 68, Philadelphia.
- WELSH, J. H. & HASKIN, H. H. 1939. Chemical Mediation in Crustaceans. III. Acetylcholine and autotomy in *Petrolisthes armatus* (Gibbes). *Biol. Bull.* v. 76, n. 3, pp. 405-415. Lancaster, Pa.
- WOLTERECK, A. 1898. Zur Bildung und Entwicklung des Ostrakoden-Eies. *Zeit. wiss. Zool.* v. 64, pp. 596-623, t. 19-20, Leipzig.
- ZENKER, W. 1854. *Monographie der Ostracoden*. *Arch. f. Naturgesch.*, ano 20, v. 1, pp. 1-89, t. 1-4, Berlin.
- ZIMMER, C. 1927. Crustacea, em Kükenthal-Krumbach: *Handb. d. Zool.* v. 3, 1.<sup>e</sup> 1/2, pp. 277-304, Berlin & Leipzig.

## ESTAMPAS

## ESTAMPA I

- Fig. 1 — *Strandesia bicuspis bicuspis* Claus, morfologia geral.  $a_1$  e  $a_2$  — antenas 1. e 2.; b — lábio inferior; c — crista; g — glândula do intestino médio (hépatopâncreas); f — furca; l — labio superior; m — mandíbula; n — maxila 1.; o — olho; p — palpo mandibular; r — maxila 2.; s — pata de limpeza; v — ovário. (Des. esquemático do animal vivo, após amputação da valva esquerda).
- Fig. 2 — Estômago de *Strandesia bicuspis bicuspis*. a — esôfago; b-c — anel e processo quitínicos; d — papo; e — porção trituradora. (Des. semi-esquemático; animal anestesiado).
- Fig. 3 — *Strandesia bicuspis bicuspis* Claus. Glândula do intestino médio (hépatopâncreas) durante as fases de contração. (Des. animal vivo).

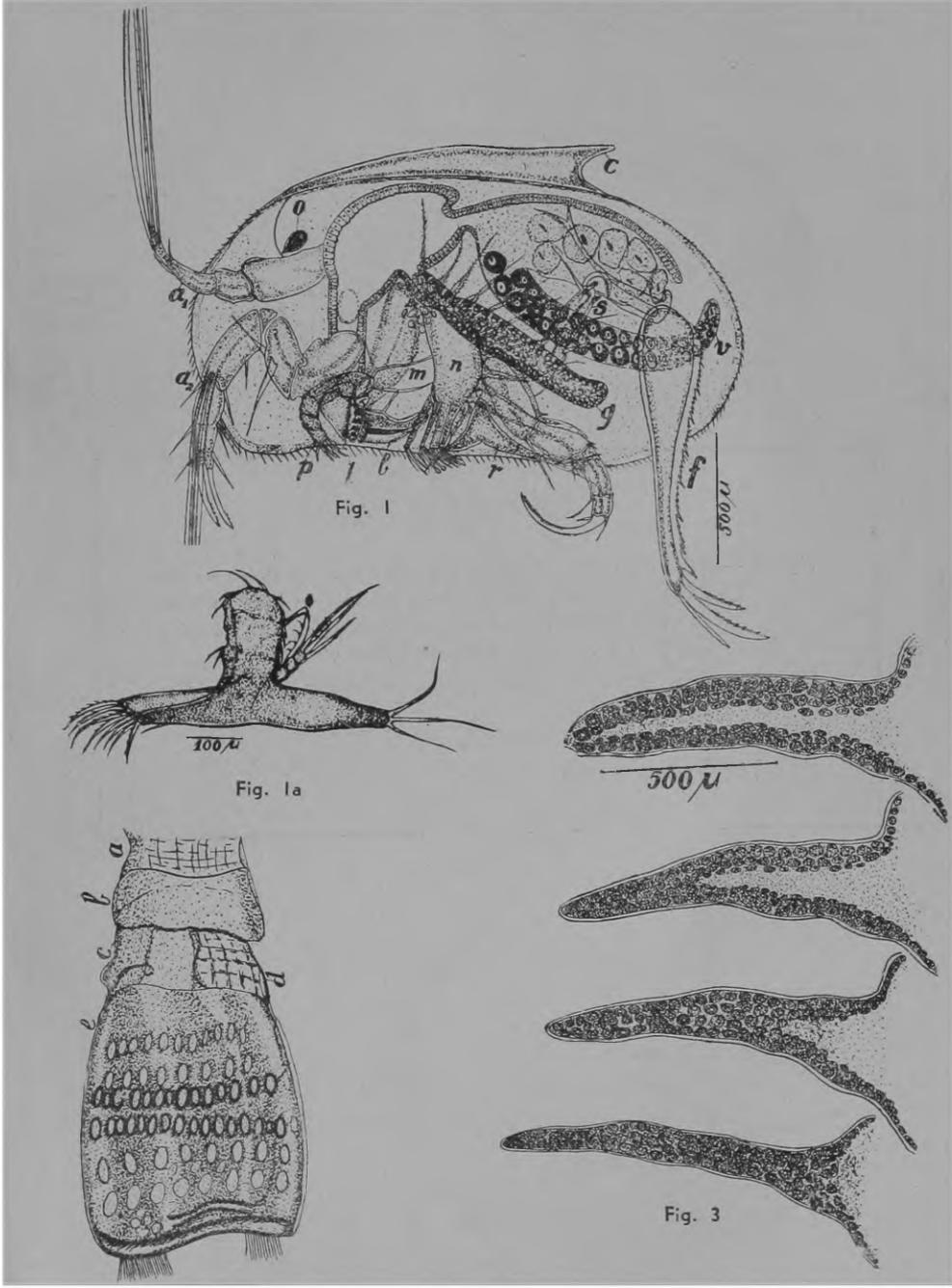


Fig. 2

Fig. 3

## ESTAMPA II

Fig. 4 — *Strandesia bicuspis bicuspis* Claus. b — série de bastonêtes da orla; c — crista; l — lábio saliente da valva direita; m — marcas das inserções dos músculos adutores; o — olho. (Des. do animal vivo).

Fig. 5 — Vista dorsal do mesmo animal. Indicações como na fig. anterior.

Fig. 6 — Primeira antena (antênula).

Fig. 7 — Segunda antena.

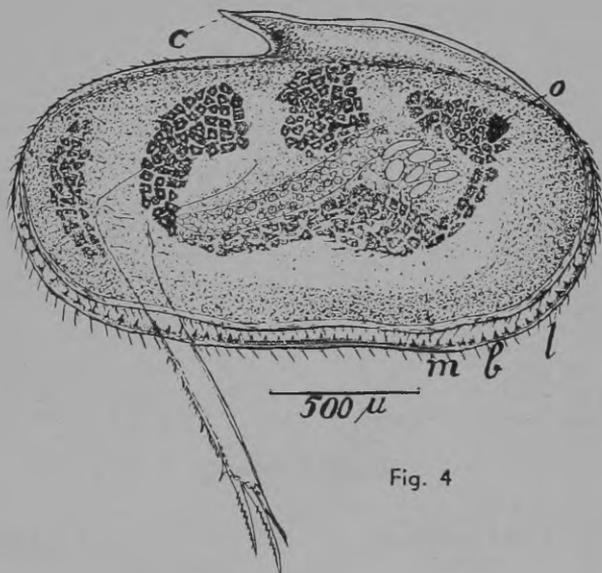


Fig. 4

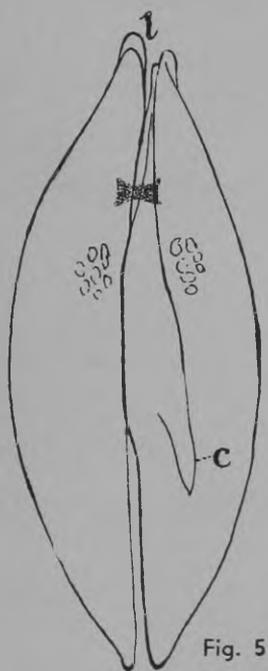


Fig. 5

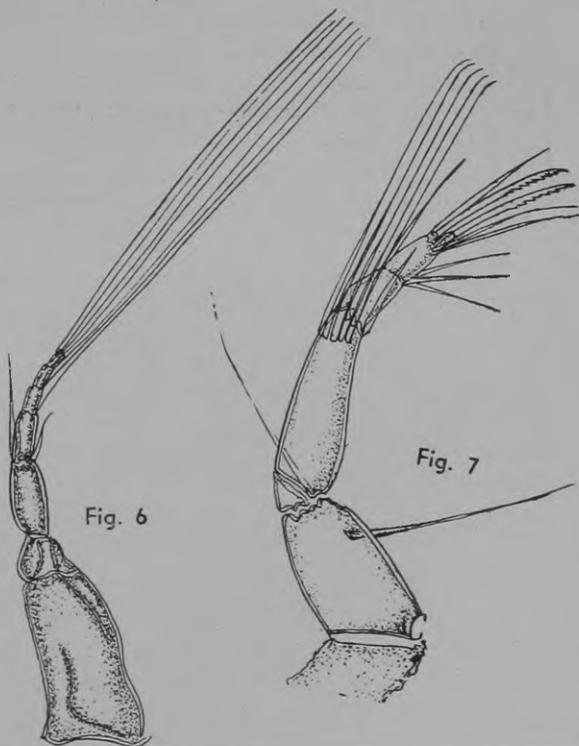


Fig. 6

Fig. 7

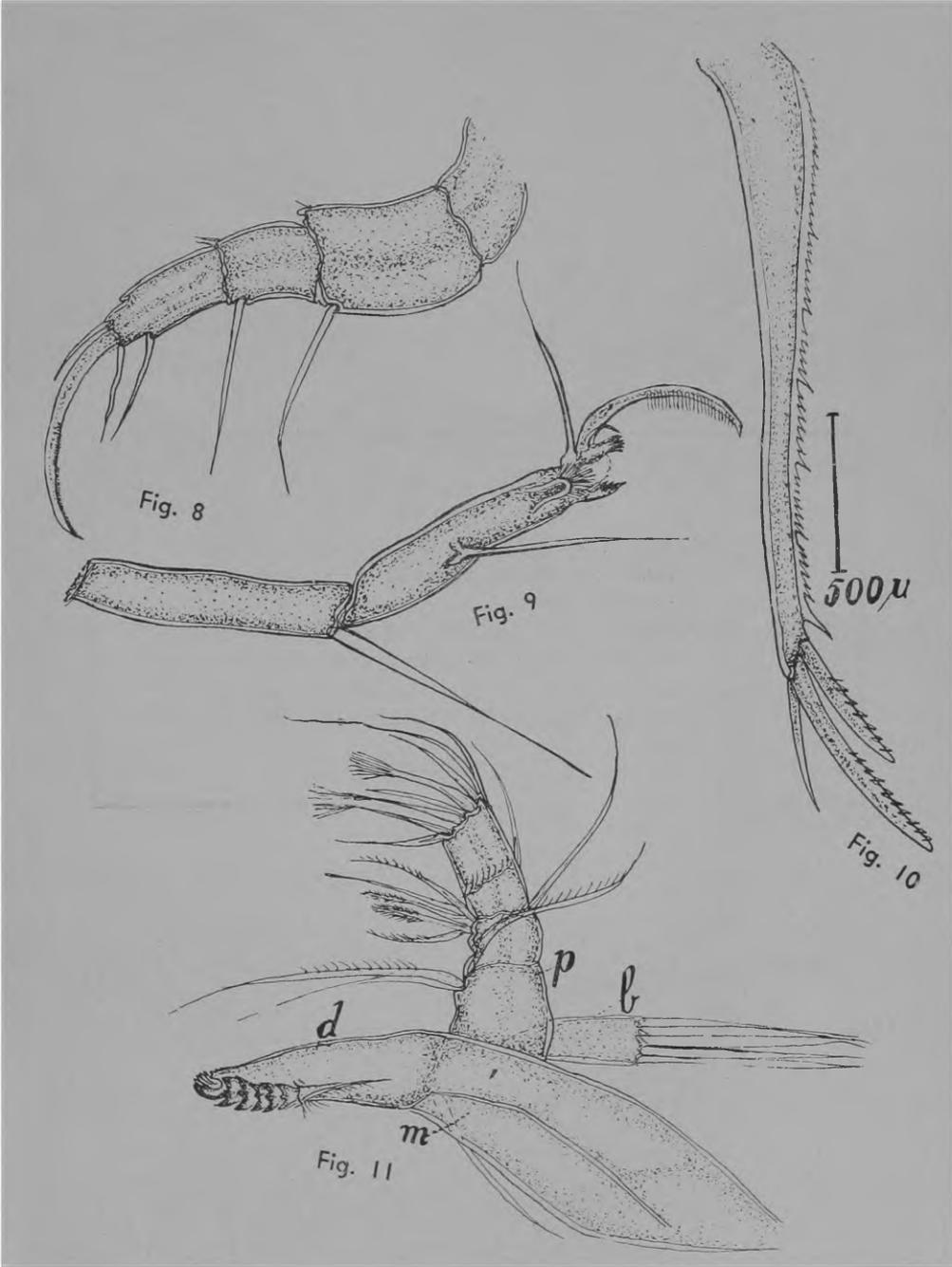
### ESTAMPA III

Fig. 8 — *Strandesia bicuspis bicuspis* Claus. Pata ambulatória.

Fig. 9 — Pata de limpeza ("Putzfuss", "scratch-foot").

Fig. 10 — Furca.

Fig. 11 — Mandíbula. b — processo branquial; d — processo distal mandibular; m — processo proximal; p — palpo mandibular.



#### ESTAMPA IV

- Fig. 12 — Maxila I. de *Strandesia bicuspis bicuspis* Claus. b — processo branquial; e — espinha plumosa; p — palpo maxilar.
- Fig. 13 — Parte do aparelho apreensor — vista de conjunto de frente. b — labio inferior; l — labio superior; m — mandíbula.
- Fig. 14 — Base da pirâmide do labio inferior. a — ancinhos ("rechenartige Kauorgane"); d — cerda de filtro; f — paragnato.

