

CONDIÇÕES DE DIVISÃO E REGENERAÇÃO EM NAIDIDAS

por **Gabriella Zuccari**

Introdução

A finalidade do presente trabalho, a análise das condições de divisão e regeneração em certas Naididas, necessita de um resumo introdutório, pois a pesquisa da divisão dos Oligoquetos límnicos, iniciada já no século XVIII (Goeze 1773, p. 171-174: relatório dos trabalhos de Réamur, Bonnet, e O. F. Müller), apresenta-se hoje como vasto campo de problemas complexos. Guiada principalmente pelos resumos de Stephenson (1930, p. 531-538; 585-590) e de Hyman (1916; 1940) escolho os pontos que considero essenciais para o entendimento dos problemas aqui encarados.

Agradeço à Snra. D. Eveline du Bois-Reymond Marcus pelo valioso auxílio prestado ao meu trabalho; à Snrta. D. Diva Diniz Corrêa pela revisão linguística do manuscrito; e aos Snrs. Prof. Dr. André Dreyfus e Lic. Antonio Brito da Cunha pela gentileza com que puseram à minha disposição a câmara de temperatura constante do Departamento de Biologia.

ÍNDICE

I. DIVISÃO E REGENERAÇÃO NOS OLIGOQUETOS	
a) Classificação dos tipos de divisão	6
b) Influência de fatores externos e internos sobre a divisão	7
c) O gradiente metabólico como efetuator e localizador da zona de divisão	9
d) O gradiente regenerativo como localizador da zona de divisão	10
e) Generalidades da regeneração nos Oligoquetos	11
f) Análise do trabalho "The Relation between Natural Fission and Re- generation" de J. Chu & S. Pai (1944)	12
II. OBSERVAÇÕES E EXPERIÊNCIAS PRÓPRIAS	
a) Material e técnica do trabalho	14
b) Aparecimento das gônadas	16
c) Influência da amputação sobre a divisão	19
d) Influência do "crowding" sobre a divisão	21
e) Diferenças regenerativas nos vários níveis	22
f) Regenerações anômalas	28
III. RESUMO	33
IV. SUMMARY	35
V. LITERATURA	37
VI. ESTAMPA	40

I. Divisão e regeneração dos Oligoquetos

a) Classificação dos tipos de divisão

Estudando a divisão dos Turbelários do gênero *Microstomum* O. Schmidt 1848, F. v. Wagner (1890, p. 393-397) distinguiu os tipos divisórios, a arquitomia e a paratomia, ambos ocorrentes também nos Oligoquetos límnicos.

Na arquitomia, o verme divide-se em vários fragmentos, que, como tais, regeneram as partes que lhes faltam. Na paratomia, os órgãos cefálicos e terminais formam-se, enquanto os futuros indivíduos (zoóides) ainda constituem uma cadeia coerente. A paratomia poderia ser chamada também de brotamento pré-divisório; a arquitomia, de regeneração post-divisória (Marcus 1943, p. 133). Certo tipo intermediário, em que apenas o material reconstituído se acumula nos zoóides da cadeia, e a regeneração dos órgãos se realiza depois da divisão, foi chamado de paratomia precoce (ibid.). A arquitomia ocorre mais raramente, mas em maior número de famílias dos Oligoquetos que a paratomia. A última deve a sua maior frequência à sua preponderância pronunciada nas Naididæ, ricas em espécies (Marcus 1944, p. 84). Entre estas escolhi os objetos das minhas experiências.

O tipo paratômico apresenta variantes "que dependem da velocidade específica do brotamento, e, com isso, da aceleração das cissiparidades" (L. Dehorne 1916, p. 96-97). A autora franceza distingue a cissiparidade lenta observada nos gêneros *Dero* e *Ophidonais*, da cissiparidade rápida. A última, a mais freqüente, caracteriza-se por uma zona de divisão precoce. Tal zona situa-se anteriormente à zona formada antes e aparece enquanto os segmentos proliferados na zona mais velha ainda conservam seu caráter histológico não diferenciado, chamado embrionário. A zona de divisão precoce pode surgir no segmento da zona mais velha, p. ex., no gênero *Nais* (L. Dehorne, l. c. f. 53 no texto); neste caso, o indivíduo delimitado pela nova e a velha zona não contém segmento antigo algum. A zona precoce pode também aparecer no segmento que precede ao que contém a zona mais velha, p. ex., nos gêneros *Stylaria* e *Pristina* e, destarte, o novo zoóide abrange um segmento da cadeia antiga (l. c., f. 61 no texto). A ocorrência da paratomia lenta ou da rápida em uma ou outra espécie depende, segundo Lucienne Dehorne (l. c., p. 96), de dois fatores, a saber: 1) do número específico dos segmentos, pois os fragmentos do verme paucisegmentado completam-se rapidamente; 2) do ritmo da histogênese que apresenta diferenças igualmente específicas.

Como o nome indica, a arquitomia passa por filogeneticamente mais primitiva; a paratomia, que é morfológicamente mais complicada, por mais adiantada (Heider 1909, p. 601-603). As Lumbriculidæ com autotomia efetuada sob estímulos externos, portanto com processos pseudo-divisórios (Marcus 1944, p. 86) e, além disso, com arquitomia como modalidade reprodutora normal, sugerem a sequência filogenética: autotomia-arquitomia-paratomia. Stephenson (1930, p. 705) considera as Lumbriculidæ como uma família arcáica. Mesmo se tal opinião não for adotada universalmente, podemos admitir que as Lumbriculidæ tenham conservado, na sua reprodu-

ção vegetativa, o tipo antigo. Fala ainda em favor da sequência aqui estabelecida o fato de ocorrer a arquitomia em 3 das 4 famílias dos Oligoquetos com divisão. Duas circunstâncias dificultam a aceitação da dita ordem filogenética: 1) a ausência da arquitomia nas Aeolosomatidæ encaradas como ancestrais por Michaelsen (1928, p. 86-87) e Marcus (1944, p. 48-49); e 2) a eficiência reprodutiva da arquitomia, pelo menos em certos casos (Marcus 1943, p. 153). Quero, porém, lembrar que a reprodução sexual das Aeolosomatidæ exhibe traços decididamente não primitivos (du Bois-Reymond Marcus 1944, p. 7).

A teoria do gradiente, cuja última síntese foi dada na grande obra de Child (1940, p. 7-12; 272-282; 304-308; 706-727), considera a cabeça como um campo que domina os processos morfogenéticos dos segmentos, i. é, das partes subordenadas. À luz desta teoria, a arquitomia e a paratomia não apresentam diferenças essenciais. Em ambos os tipos divisórios isolam-se segmentos que se subtraem, pela sua distância da cabeça, à dominância cefálica. Depois da divisão, a região apical do trecho agora isolado ocupa o nível mais alto no gradiente metabólico, e torna-se nova região dominante, i. é, cabeça. Na arquitomia, a isolação fisiológica coincide com o desatamento da cadeia, i. é, com a isolação mecânica. Na paratomia, a isolação fisiológica precede à mecânica.

b) Influência de fatores externos e internos sôbre a divisão

O valor de n , i. é, o número de segmentos precedentes à zona de divisão, foi considerado por Bourne (1891, p. 347-354) como constante para cada espécie. Trabalhos ulteriores, porém, verificaram variações tanto do valor de n , quanto da intensidade divisória. Tais oscilações notaram-se não sômente nas culturas mantidas nos laboratórios, mas também nas populações encontradas na natureza. Dos fatores externos, foram estudados por vários autores: a quantidade de alimento disponível, cujo efeito sôbre a rapidez da divisão se entende sem delongas (Galloway 1899, p. 116-117); a acumulação de numerosos vermes em culturas sem renovação regular da água, condições que retardam o ritmo divisório (ibid., p. 122); a temperatura e a estação do ano. Conforme as espécies observadas, são contraditórios os resultados que se referem à influência da temperatura ou à estação do ano, como se depreende do relatório de Lucienne Dehorne (1916, p. 109). A autora notou haver ritmo constante da reprodução vegetativa durante o ano inteiro em *Chaetogaster diaphanus*; diminuição da mesma, no verão, em *Stylaria lacustris* e nos vermes do gênero *Dero*. Atribuiu esta parada da divisão durante a estação quente ao desenvolvimento das gônadas. L. Dehorne considerou o aumento da alimentação disponível durante a estação fria ser a causa da aceleração das divisões nesta época, pois nela abunda o material vegetal morto. Segundo a autora franceza, a própria temperatura baixa não favorece a divisão, mas age indiretamente, fazendo morrer muitas plantas da água, de cuja substância em decomposição os animais se alimentam. Segundo Hempelmann (1923, p. 403), a temperatura atua diretamente sôbre a frequência das divisões de duas espécies de *Pristina*. Aumenta-a, ao descer de 18,2° C. (termo médio da temperatura do mês de julho em Leipzig) ou mais até 16°, diminuindo-a com queda ulterior.

As flutuações independentes da temperatura que Hempelmann observou nas populações de vida livre, levaram-no a admitir um ritmo interno não analisado. Pouco nítido foi o resultado das experiências, em que Hempelmann tentou correlatar a intensidade da divisão com as variações da salinidade d'água.

Ressalta claramente dos vários trabalhos a relação entre a frequência da divisão e o valor de n . Quanto menor a primeira, tanto maior o segundo, i. é, tanto mais compridos os zoóides que se formam. Depreende-se ainda da literatura que n oscila ao redor de um valor médio mais frequente; as indicações dos limites da variação de n , como são encontradas nos trabalhos sistemáticos, referem-se geralmente às populações observadas numa certa época na natureza.

Em certas espécies, p. ex., em *Stylaria lacustris*, n varia regularmente em divisões sucessivas, pois cada zona forma-se num segmento anterior à zona precedente, até um certo limite mínimo ($= 12$); n volta, na divisão seguinte, ao seu valor máximo ($= 17$) (Eckert 1927, p. 610). As outras oscilações de n estudadas nas pesquisas relativas à influência dos fatores externos podem, evidentemente, ser reconduzidas à maior ou menor intensidade divisória.

Dos fatores internos já mencionei o desenvolvimento das gônadas. Antigamente (Semper 1877; citado segundo Stephenson 1930, p. 532) admitiu-se exclusão da reprodução vegetativa pela sexuada. Hoje, sabe-se que as divisões param apenas na fase final do crescimento dos ovócitos. Entre as várias espécies existem, é verdade, diferenças graduais quanto ao estágio em que a reprodução vegetativa é, inicialmente, retardada, e, depois, impedida pelo desenvolvimento das células germinativas (L. Dehorne 1916, p. 42-43).

A idade atua, segundo Stolte (1922, p. 162 e 173), só indiretamente. O valor de n aumenta, porque os vermes velhos não podem mais aproveitar-se suficientemente do alimento ingerido. Eckert viu na idade de certo segmento um fator localizador da zona de divisão. Esta precisa, para poder surgir, de determinado grau de diferenciação; o último, por sua vez, depende, entre outros fatores (p. ex., temperatura), da idade. A zona nunca se forma num segmento muito novo. Sob condições naturais pode haver produção muito intensa de segmentos na zona de acréscimo ("Zuwachszone"), sempre presente nos vermes em questão e homóloga à zona de brotamento ("Knospungszone") pré-anal da trocófora. Também sob condições artificiais, p. ex., depois da amputação, novos segmentos podem preponderar numericamente sobre os velhos. Em ambos os casos, o segmento em que se formaria a zona de divisão específica, quer dizer, com o n normal, é, para tal, novo demais. Por isso, a zona será deslocada mais para a frente, desenvolvendo-se no segmento mais diferenciado disponível.

A posição dos nefrídios condiciona, segundo Hempelmann (1923, p. 438-439), a posição da zona de divisão em duas espécies de *Pristina*, gênero em cujos representantes o número dos segmentos "cefalizados" e destituídos de nefrídios é de sete. Nas espécies estudadas por Hempelmann, os nefrídios faltam regularmente ainda em muitos segmentos do tronco. O primeiro emunatório ocorre no 9.º ou 10.º segmento. Segundo

Hempelmann, a zona de divisão localizar-se-ia de tal modo que o 9.º ou 10.º segmento do futuro verme posterior se tornasse o primeiro dotado de nefrídio. Este verme recebe os seus 7 segmentos cefálicos formados no segmento divisório, e 1-2 segmentos velhos, sem nefrídios, da cadeia materna. O 9.º ou o 10.º segmento do novo verme seria, destarte, o primeiro provido de emunatório. A posição da zona dependeria de tal modo da ausência dos órgãos de excreção, que ela aparece somente num segmento situado anteriormente a um (ou dois) sem nefrídios. A zona divisória de *Pristina* não se desenvolve, porém, em qualquer segmento seguido por um sem órgão excretor, mas, apenas entre os segmentos 11-18, em *P. aequiseti*; entre 14-17, em *P. longiseta*. Diante do grande número dos segmentos sem nefrídios, nas espécies examinadas por Hempelmann, o leitor permanece em dúvida, se realmente a ausência destes induz o aparecimento da zona de divisão em determinada região. A região da zona independe, em todo o caso, do fator “nefrídio”, pois os emunatórios faltam também anteriormente e posteriormente a ela.

Os processos regenerativos e os divisórios influenciam-se mutuamente. Galloway (1899, p. 120) observou retardada a regeneração em fragmentos dotados duma zona de divisão. Por outro lado, Hyman (1938, p. 134) verificou separação acelerada dos zoóides após a decapitação do verme. Também pelo corte da cauda foi apressada a divisão (Marcus 1943, p. 43 e seg.). O último resultado não se enquadra na teoria de Child acima resumida (veja p. 7). Dá-se o mesmo com a involução da zona de divisão muito jovem depois da amputação da cabeça do verme (Harper 1904, p. 74; Van Cleave 1937, p. 47; e outros). Também o talho caudal, aplicado num verme com zona de divisão inicial, faz desaparecer tal zona.

c) O gradiente metabólico como efetuator e localizador da zona de divisão

Os fatores precedentemente resumidos modificam o processo divisório, mas, nenhum deles determina o segmento, em que a zona se forma, e ainda menos efetua o aparecimento duma zona de divisão. Com Hempelmann (1923, p. 438) deveríamos, portanto, supôr que fatores internos ainda ignorados localizam a zona e evocam-na. Somente dentro dos limites traçados pelos fatores internos, os externos poderiam exercer a sua influência modificadora.

A teoria do gradiente metabólico elaborada por C. M. Child oferece, atualmente, um novo caminho para pesquisar as causas da formação e localização da zona de divisão. As diversidades qualitativas existentes na base e na superfície duma célula dum epitélio, na cabeça e na cauda dum animal linear, na zona de crescimento e no estolão radiceiforme das colônias de Hidrozoos e Briozoos, ou na epiderme e no coração de um girino, são condicionadas, segundo Child, pelas diferenças metabólicas quantitativas. O gradiente fisiológico do animal, i. é, a graduação da atividade metabólica das suas partes dispostas ao longo dum dos seus eixos, determina o seu “pattern”, o seu plano morfológico fundamental. As partes, cujo metabolismo é mais alto, dominam as outras de metabolismo inferior, estabelecendo, destarte, relações de hierarquia entre as várias regiões, con-

forme a localização axial das mesmas. Nas Naididas, a zona de crescimento já aludida alonga continuamente a região posterior do verme, distanciando-a da região cefálica, do campo de dominância. No primeiro segmento que escapa à dominância cefálica, origina-se a zona de divisão e, uma vez formados os órgãos (na paratomia), individualiza-se o zoóide posterior.

Na teoria de Child encontramos uma nova denominação dos fatores internos. A ausência da divisão nas minhocas poderia, p. ex., ser entendida pelo limite específico do número de segmentos nestes vermes, cuja zona de acréscimo funciona apenas como regeneradora, p. ex., depois da autotomia dos últimos segmentos repletos de cerdas gastas, cistos de Gregarinas e Nemátodes (Keilin 1925). Como não há crescimento indefinido nas minhocas, a região posterior não se subtrai à dominância e não há, porisso, divisão. Se encontrarmos uma população de Tricladida Paludicola, p. ex., *Dugesia tigrina* (Gir.), em reprodução vegetativa num certo biótopo, e, num outro, nunca vermes com divisão, diríamos tratar-se de duas raças com amplitude geneticamente diferente da dominância cefálica. Contra tais circunlóquios dirigiram-se certas críticas da teoria do gradiente; mas esta não se resume numa nova terminologia.

A graduação do metabolismo pode ser observada experimentalmente, por exemplo, pela desintegração mais ou menos rápida em soluções de cianetos ou anestésicos. Verificou-se, em tais pesquisas, que p. ex., em *Lumbriculus inconstans* e *Tubifex rivulorum* (Hyman 1916, p. 120-121), a cauda ocupa um nível mais alto no gradiente metabólico do que a cabeça. A hipótese auxiliar (Hyman 1916, p. 106) estipula que, não obstante, a dominância permanece, desde a fase embrionária, situada na cabeça. Tal postulado carece, por enquanto, de provas. O alto metabolismo cefálico de *Nais paraguayensis* estabelece dominância num trecho tão curto do eixo longitudinal do verme, que a maior parte do corpo é fisiologicamente isolada (Hyman 1938, p. 140). Entre os vermes adultos da mesma população, variam consideravelmente os pontos em que o verme se divide. Depreende-se disso ou uma variação da dominância ou uma receptibilidade variável das partes subordenadas. Em todo o caso, falta a concordância exigida pela teoria entre o gradiente do metabolismo que concretiza a dominância e o efeito produzido pela dominância. Em outras palavras, a cadeia contínua coerente, em muitos casos, numa extensão maior do que deveríamos esperar pelo seu gradiente metabólico. A formação da zona de divisão precedentemente descrita de *St. lacustris* (veja p. 8) constitue outro fenômeno dificilmente interpretável pela teoria. Chu (1946, p. 237) recorre a uma hipótese especial, neste conjunto, e pensa que há redistribuição das potências para regeneração anterior e posterior depois do aparecimento da zona de divisão.

d) O gradiente regenerativo como localizador da zona de divisão

Partindo da teoria de Child, Chu & Pai (1944, p. 166) consideraram os gradientes da capacidade regeneradora como fatores localizadores da zona de divisão. Na espécie examinada pelos autores chineses, a divisão natural pode realizar-se em qualquer segmento entre o 6.º e 22.º, que são os limites da variação de n. Mais freqüentemente, a divisão ocorre no

segmento 18. Possivelmente, existem, no dito segmento, potências iguais para a regeneração da cabeça e da cauda. Se o verme se dividir num outro segmento, será éste, provavelmente, o nível do equilíbrio entre as duas capacidades regeneradoras. Haveria, pois, variação do nível do equilíbrio regenerativo nos vários indivíduos da mesma população. Hei de entrar, logo a seguir, na análise do trabalho em questão.

e) Generalidades da regeneração nos Oligoquetos

Antes de examinar as pesquisas de Chu & Pai, que constituíram o ponto de partida das minhas experiências, tenho de resumir, dos inúmeros trabalhos sôbre a regeneração, certas premissas e fatores modificadores da regeneração. O papel morfogenético de certos órgãos, p. ex., do sistema nervoso na superfície do corte (Morgan 1902; citado segundo Stephenson 1930, p. 589), da epiderme ventral (Hyman 1940, p. 520), ou do intestino, para o sucesso da regeneração caudal (Krecker 1910, p. 400: Tubificidæ) evidenciam engrenagem complicada dos diversos sistemas.

A capacidade regeneradora das várias famílias dos Annelida Chætopoda oscila muito com respeito à reconstituição completa da região anterior, ao passo que a da posterior existe em quasi tôdas as famílias. Os vermes que se multiplicam por divisão, teem alta capacidade regenerativa (Hyman 1940, p. 513). Para entender a regeneração de um determinado número de segmentos anteriores, como ocorre nos meus objetos da família Naididæ, presta-se mais a explicação de Hyman (1916, p. 125, 127; 1940, p. 515) que a de Haffner (1928; Lumbriculidæ) e a de Iwanoff (1928; Tubificidæ, Lumbriculidæ). Nomeadamente a última baseia-se em dados embriológicos ainda não elaborados para as Naididæ. A autora norte-americana encara os segmentos anteriores como um órgão ou unidade morfológica e fisiologicamente diferente do resto do corpo. Tal modo de ver justifica-se pelos processos morfológicos observáveis nos segmentos post-cefálicos depois da regeneração da cabeça. A cabeça, como órgão, modifica as partes adjacentes, diferenciando-as do tronco restante. Morfogeneticamente apresenta-se a regeneração da cabeça como mais complicada que a do anus. Na última solda-se apenas a parede intestinal com a epiderme, reestabelecendo-se, destarte, o pigídio. Êste, por sua vez, transforma a região adjacente, prepigidual, em zona de acréscimo.

Dos fatores externos, cuja influência sôbre a regeneração foi estudada, menciono a temperatura, o tamanho do fragmento e a alimentação. Em vermes jejunos o tamanho, i. é, a quantidade do regenerado é afetada, não a qualidade, i. é, o gráu de diferenciação (Morgan 1906; seg. Stephenson 1930, p. 585; Janda 1926, p. 437).

Entre os fatores internos foram considerados: a idade (Hescheler 1896; seg. Stephenson 1930, p. 588; Stolte 1922, p. 171; Janda 1926, p. 437); e o amadurecimento das gônadas (Harper 1904, p. 185; Stolte, l. c.; Marcus 1943, p. 42), sem que pareça possível apontar, dum modo geral, a idade e a fase sexual mais propícias para a regeneração.

O número dos segmentos que compõem um fragmento isolado, e a posição dêstes no verme, antes da operação, são importantes para o êxito da regeneração (Wagner 1900, p. 614; Krecker 1910, p. 386; Hyman

1916, p. 128 e seg.). Os resultados diferem nas várias famílias. Em *Lumbriculus variegatus* Wagner observou o máximo regenerativo no meio do corpo e, daí para as duas extremidades, um declínio da capacidade regeneradora. Hyman verificou em *Lumbriculus inconstans* e *Dero limosa* (1916, p. 130-140) uma diminuição da potência regeneradora de diante para trás. A cabeça e o pigídio devem ser excetuados nesta observação. Existe, além disso, uma diferença entre a capacidade de regenerar a cauda e a de reconstituir cabeça. A primeira diminui quantitativamente de diante para trás, quer dizer, nos segmentos posteriores regeneram-se, num dado tempo, menos segmentos. A potência de reconstituir uma cabeça diminui qualitativamente, como se depreende do número de regenerados heteromorfos produzidos pelos segmentos posteriores. Os resultados de Haffner (1928, p. 43) obtidos em *Lumbriculus variegatus* são, ao meu vêr, semelhantes. A incapacidade regeneradora, fenômeno conhecido da cabeça e do pigídio de todos os Oligoquetos examinados, foi explicada por Haffner (ibid., p. 67-68) pela ausência de emunctorios nos ditos trechos do corpo. Hyman & Galigher (1921, p. 1) e Hyman (1940, p. 526) não admitem fatores morfológicos como efetuadores primários das diferenças regenerativas. Os ditos autores encaram os fenômenos da regeneração como funcionais e dependentes do tamanho do fragmento. Por isso, podem ser influenciados por condições, cuja atuação é principalmente quantitativa. A capacidade regeneradora da cabeça, assim como a possibilidade dum fragmento de reconstituir uma cabeça são determinadas por condições dadas na axiação ("axiation") ântero-posterior.

- f) Análise do trabalho: "The relations between natural fission and regeneration in *Stylaria fossularis*" de J. Chu & S. Pai (1944)

A semelhança morfológica entre os processos divisórios e regenerativos e a reação concordante de ambos aos mesmos fatores convidam à tentativa de elucidar o processo mais complexo, a divisão, pelo estudo da regeneração. A formação da zona de divisão, o aparecimento dela num determinado nível da cadeia, e a regeneração dum número determinado de segmentos após a individualização do zoóide (arquitomia) ou antes dela (paratomia) poderiam ser condicionados por vários fatores históricos (genéticos) intimamente interdependentes um do outro, e, provavelmente, inacessíveis à análise experimental.

Dos fatores externos e dos internos ou fisiológicos não se conhece algum que possa ser responsabilizado pela divisão. Os animais de crescimento contínuo, como as cadeias das Naididae, possuem, no seu gradiente metabólico, o seu único fator integrador. Tal cadeia não é uma individualidade; não é possível definir os seus limites no espaço, nem fixar os mesmos no tempo por observações da data do nascimento e da morte. Um verme que se reproduz por divisão, continúa a crescer além da medida da individualidade ("über das individuelle Maass hinaus"; K. E. v. Baer). Indivisibilidade orgânica caracteriza o indivíduo, p. ex., dos Insetos, Moluscos ou Vertebrados, que se transformam apenas qualitativamente, na metamorfose. Nos Chætopoda que se dividem, observamos transformações quantitativas e, com isso, relações dinâmicas continuamente diversas entre

os vários “regenerados regeneradores” (Driesch). Estas relações perfazem o gradiente; êle mantem a unidade em cada fase dos vermes lineares. Tal unidade distingue-os de Hidrozoos, Briozoos e outros animais coloniais, que se aproximam aos “sistemas abertos”, às plantas.

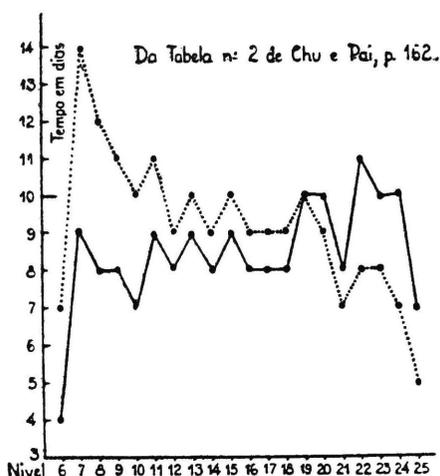
Feliz foi a idéia de Chu & Pai (1944), da escola de Child, de examinar uma eventual relação entre a posição da zona de divisão e um nível determinado do gradiente metabólico, o fator integrante de cada estágio das Naididæ. Mediram êste nível, como referi anteriormente (veja I d, p. 10), pelo exame da capacidade regeneradora. Obtiveram resultado aparentemente positivo: o segmento da zona divisória é o segmento, em que há equilíbrio entre as capacidades para a regeneração anterior e posterior. Assim sendo, torna-se inteligível a posição da zona de divisão aproximadamente no meio do corpo, a uma grande distância do limite caudal da influência dominadora da cabeça. Os métodos, porém, e o raciocínio que levaram a tal resultado que seria esplêndido suscitam objeções sérias.

A passagem em que os autores descrevem o seu método de trabalho mostra que compararam fragmentos de comprimentos diferentes. Cortaram o verme A, no meio, em 2 fragmentos aproximadamente iguais. No animal B, separaram o verme um segmento mais para diante; em C, mais um segmento para diante, etc., obtendo, destarte, fragmentos anteriores e posteriores de comprimentos sempre mais diferentes. Em outra série de experiências, procederam com a separação do meio do corpo para trás, estabelecendo agora fragmentos anteriores sempre mais compridos, posteriores mais e mais curtos. Nas extremidades, houve finalmente cabeças e caudas com tão poucos segmentos que foram incapazes de regeneração. Tal fato, aliás já conhecido da literatura, deveria ter mostrado aos autores a importância do comprimento do fragmento para o êxito da regeneração. Regenerador muito curto não produz regenerado. No meu material, *Dero botrytis*, como em outras espécies, a velocidade da regeneração depende, dentro de um certo limite, do número de segmentos que constituem o fragmento isolado. Justamente esta velocidade serve, nas experiências de Chu & Pai, como índice da capacidade regeneradora.

Evidencia-se a impossibilidade de obter resultados comparáveis, quando os fragmentos isolados são desiguais. Construi, na base dos dados da tabela 2 dos autores (p. 162) o Gráfico 1 que mostra a pequena variação da regeneração na região média do corpo, mas aumento nítido do ritmo da regeneração nas duas extremidades, onde deveria haver diminuição do mesmo. Sem termostato, os autores não puderam comparar os dados obtidos nos vários dias de temperaturas diferentes (p. 162). Para contornar essa dificuldade, dividiram, em cada nível, o valor da velocidade da regeneração anterior (R_a) pelo da posterior (R_p). Chamaram o resultado “capacidade relativa de regeneração anterior”; o resultado do cálculo inverso, $R_p:R_a$, de “Capacidade relativa de regeneração posterior”

Mesmo abstraindo da desigualdade dos fragmentos, não posso entender o sentido dessas divisões. Feitas com fragmentos do mesmo comprimento e em temperatura constante, poderiam, talvez, indicar a capacidade relativa geral da regeneração dum certo nível. Morfológicamente os dois processos, a reconstituição da cabeça e a regeneração da cauda, divergem

GRÁFICO 1



Variação no tempo necessário à regeneração de fragmentos de *Stylaria fossularis*, segundo a tabela n.º 2 de J. Chu & S. Pai.

..... regeneração posterior

———— regeneração anterior

tanto, que a divisão do tempo necessário para um, pelo tempo exigido pelo outro, carece de qualquer sentido. Os dois gráficos obtidos com as divisões Ra:Rp, e Rp:Ra não concretizam a variação de dois fatores, um distinto do outro, mas são construídos com dados idênticos, apenas invertidos. Chu & Pai sobrepõem um gráfico ao outro e o ponto de intersecção coincide com o segmento 18, i. é, o em que a zona de divisão se forma, na espécie examinada, com maior freqüência. Tenho de deixar aos leitores a explicação d'êste "resultado", não resultante do estudo, mas, desejado e, por isso, anexo.

Continúa, portanto, aberto o problema, cuja solução Chu & Pai tentaram encontrar aritmeticamente.

II. Observações e experiências próprias

a) Material e técnica do trabalho

Não dispondo da espécie examinada por Chu & Pai, escolhi *Dero botrytis* Marcus (1943, p. 37), da mesma família (Naididæ). As minhas objeções metodológicas resumidas acima tornam impossível a comparação entre os resultados do trabalho de Chu & Pai e os do meu, independentemente da diferença no material usado. *Dero botrytis* apresenta-se favorável pelo seu tamanho (10 mm. de comprimento e 0,6 mm. de diâmetro), e pela facilidade com que se mantinha no tanque cimentado da Secção de Ciências Naturais da Faculdade de Filosofia da Universidade de São Paulo, como também no da minha casa. No tanque da Faculdade, alimenta-se, principalmente, de fôlhas de *Ficus elastica* em decomposição. Os vermes

podem ser criados em cristalizadores, cuja água é regularmente trocada, e cujo fundo é coberto por areia ou outro substrato semelhante que possibilite aos animais positivamente tigmotáticos o contacto adequado. Fôlhas de alface cozida servem como alimento. Nos arredores de São Paulo a espécie pode ser encontrada em quasi todos os meses, em número suficiente.

Pesquisei a amplitude de n , i. é, a variação da posição da zona de divisão, nas populações de vida livre, nas dos 2 tanques, como também nos vermes mantidos em cristalizadores.

Foram verificados o tamanho mínimo dos fragmentos capazes de regeneração completa ao longo do eixo principal, e a variação do tempo necessário para a regeneração. Adotei os critérios seguintes para poder chamar completa uma regeneração:

Para a regeneração posterior: o aparecimento de uma cerda ventral na zona de acréscimo regenerada. Foi encarada a zona de acréscimo, e não a fosseta branquial, pois esta é freqüentemente regenerada, pelo menos no início, menor que uma normal ou de outro modo imperfeita. Isto dificulta a comparação.

Para a regeneração anterior: o abrimento da boca, de verificação fácil, se alguns grãos de carmim forem colocados na água das pequenas placas de Petri, em que os fragmentos foram mantidos. Os animais ingerem o carmim, então visível no tubo digestivo. Os grãos de carmim formam também um substrato mais favorável que o vidro liso. Os fragmentos aderem aos grãos, quando começam a se locomover e, tendo a cabeça atingido certo grau de desenvolvimento, constroem tubos com êles.

Para examinar a capacidade regeneradora, os vermes foram cortados em fragmentos de tamanho igual, do modo seguinte: Um lote de 100-130 animais foi decapitado. Depois de poucos minutos, os vermes estendem-se. Ficam relativamente parados se colocados numa lâmina com pouca água e um fio, ao qual se apõem tigmotacticamente. Foram então cortados debaixo da lupa com agulhas de metal, em certo número de fragmentos. Depois da operação, os fragmentos provenientes do mesmo nível foram reunidos em plaquinhas de vidro e colocados no termostato, cuja temperatura foi mantida entre 19 e 22° C. Sem anestesia, é impossível cortar com exatidão rigorosa, pois os vermes locomovem-se vivamente, contraem-se e dificultam, destarte, a contagem. Às vezes, autotomizam, estimulados pela agulha. As tentativas de anestesia feitas com gelo, cloretona, e cloral hidratado não deram bons resultados. A mortalidade aumentou; a dóse e o tempo da anestesia ainda suportados e suficientes para imobilizar os animais variam muito, de indivíduo para indivíduo. Na contagem dos segmentos posteriores, considere os segmentos novos, cujas cerdas foram visíveis com o aumento médio da lupa. O resto continha geralmente de 5 a 10 segmentos esboçados; foi incluído sob a denominação de zona de acréscimo. Tal critério não é absolutamente exato, pois depende do estado de contração ou distensão do animal no momento da observação, sendo a contagem dos vermes estendidos, naturalmente, mais fácil.

Nas experiências preliminares, foram usados animais criados em cristalizadores. Mais tarde, trabalhei somente com vermes recém-colhidos nos tanques ou na natureza, para evitar efeitos desfavoráveis eventual-

mente surgidos nos cristalizadores, p. ex., pela acumulação dos produtos do metabolismo.

b) Aparecimento das gônadas

Quando comecei as experiências, instalei culturas nos cristalizadores com poucos exemplares colhidos no tanque da Faculdade. Estes, no início, dividiram-se muito rapidamente, mas, depois de pouco tempo, apareceram exemplares sexuados, e o ritmo das divisões diminuiu. A minha tentativa de relacionar o aparecimento das gônadas com a ação de algum fator externo falhou, pois sempre observei, em cada época do ano, e em material de tôdas as procedências, gônadas numa ou noutra fase do seu desenvolvimento; verifiquei 60% de vermes sexuados, na maioria das populações examinadas. Em abril-maio de 1945, a temperatura no laboratório esteve relativamente baixa, variando entre 15 e 20° C. Vermes que tinham sido mantidos em cristalizadores e que alí se tornaram sexualmente maduros, foram decapitados e colocados na estufa a 25-27°C. Desenvolveram invariavelmente gônadas.

Stolte (1921, p. 547) viu nas suas experiências com *Nais elinguis* que existe um optimum de concentração de oxigênio para o desenvolvimento das gônadas. As minhas observações impossibilitam generalizar as indicações de Stolte. No tanque da minha casa e no do terreno da Secção de Ciências da Faculdade, diferiram muito, no tempo das minhas observações, os produtores de oxigênio. No primeiro, abundou Elodea; no segundo, pouco iluminado, houve poucas plantas aquáticas. Não obstante, as populações tornaram-se sexualmente maduras nos dois lugares.

Conhece-se o efeito prejudicial da acumulação de muitos animais ("crowding") num vaso, cuja água não é trocada regularmente. Para verificar, se o "crowding" também influencia o desenvolvimento das gônadas, coloquei 60-70 fragmentos, que acabaram de regenerar, numa placa de Petri provida do alimento e substrato costumeiros. Estiveram constituídos por uma cabeça recém-formada; 7 segmentos antigos; e 5-7 segmentos formados pela zona de acréscimo regenerada. Deixei-os crescer com alimentação abundante sem renovar a água. Como controle, coloquei 70 fragmentos do mesmo material numa placa, com o mesmo meio, renovando a água. Nas duas culturas, apareceram ovócitos em crescimento depois de 15-18 dias. O aspecto dos vermes e o seu ritmo de divisão eram diversos nas culturas "crowded" e "uncrowded", mas, a maturação sexual não foi afetada.

Discute-se na literatura europeia sôbre as Naididas tanto o efeito dos fatores externos sôbre o amadurecimento das gônadas, quanto o fator condicionador das mesmas. Vários estudos referidos por Stolte (1921, p. 536) e Stephenson (1930, p. 532-535) chegaram a considerar como decisiva a salinidade da água, aumentada pela evaporação; a temperatura; o alimento; e outros fatores ainda. Mas nenhum resultado de caráter geral foi obtido. A hipótese mais interessante para nós é a de Stolte (p. 538), pois refere-se ao gênero *Dero*. Alimentação abundante seria a premissa; o teor de oxigênio, o efetivador do desenvolvimento das células germinativas. Os vermes dos gêneros *Dero* e *Pristina* habitam o lodo, onde só

raramente seria alcançada a concentração necessária do alimento e do oxigênio. Por isso, seriam tão extremamente raros os exemplares sexuais de *Pristina* e *Dero*. Evidentemente, contrasta o comportamento do material manipulado por mim com o dos espécimens europeus, de modo que deve ser outro o fator condicionador das gônadas. Como foi dito, nem mesmo consegui vêr uma periodicidade na formação das células germinativas de *Dero botrytis*, durante os dois anos das minhas observações. Como em *Dero evelinæ* Marcus (1943, p. 41-42) e outras Naididæ (ibid., p. 26, 71, etc.), o óvulo de *Dero botrytis* não pode ser evacuado pelos funis demarcadamente pequenos dos ovidutos. A região anterior do corpo degenera; é autotomizada, sem que haja fecundação; a região posterior regenera segmentos anteriores e, sem grande pausa, originam-se novamente testículos e ovários no 5.º e 6.º segmento respectivamente. Nas Aeolosomatidæ (Marcus 1944; du Bois-Reymond Marcus 1944) e nas Naididæ, as gônadas são mais freqüentes na nossa zona que nas latitudes mais altas. Também em *Catenula lemnae*, Turbelário cosmopolita, comum e conhecido desde 1832 (ou, provavelmente, desde 1820; Marcus 1945, p. 13), o testículo foi visto somente no material de São Paulo (Marcus 1945a, p. 48-49). A freqüência das gônadas na nossa região poderia ser condicionada genéticamente, como o é, provavelmente, o aparecimento dos machos haplóides nos Rotatoria e Cladocera (Luntz 1931, p. 588). Poderia também ser condicionada pelo meio, como foi provado com respeito ao momento, em que o ciclo bissexual dos ditos animais substitue o partenogenético. Neste caso, o problema poderia ser analisado experimentalmente. Não existe diferença essencial entre os ovos diplóides partenogenéticos das fêmeas amícticas dos Rotifera e Cladocera e os neoblastos que atuam na divisão das Aeolosomatidæ e Naididæ. Nestas famílias, a linhagem germinativa coincide com a somática (Marcus 1944, p. 38: literatura), tendo Stolte (1933, p. 107) advogado os termos "neoblastos vegetativos" e "neoblastos generativos" (= gonócitos). Em muitos casos, os chamados generativos revelam-se, no seu efeito final, até como "degenerativos", levando à autotomia da região dos órgãos sexuais. Quanto mais rara for a formação das gônadas, tanto maior a probabilidade de a espécie poder enfrentar as adversidades do meio com grande número de indivíduos. As condições do meio inânime são, em grosso, menos favoráveis para a vida dos animais nas altas latitudes que nas baixas. Nomeadamente o congelamento periódico, que diminui o teor do oxigênio na água, constitui fator seletivo poderoso da limnofauna setentrional. Ou tais condições deixaram sobreviver, no Norte, apenas raças e espécies com gônadas formadas raramente ou inibem formação freqüente dos órgãos reprodutivos. Para a análise experimental recomendar-se-ia, talvez, uma espécie de *Dero*, *Aulophorus carteri* Steph., ou *Aulophorus superterrenus* Mich. Menos aconselhável seria *A. furcatus*, espécie quase cosmopolita, em que a ovipostura ocorre, se bem que raramente (Marcus 1943, p. 89), ou *Pristina evelinæ* (ibid., p. 112), cujas gônadas envolvem sem tolher a divisão ou levar à degeneração e autotomia (ibid., p. 124).

Para examinar a influência da idade sobre o desenvolvimento das gônadas, procedi da maneira seguinte: Regenerados de fragmentos de 7 segmentos foram mantidos sob as condições regulares, em placas com fundo

de areia, alimento de alface cozida, e troca água. Depois da primeira divisão, os zoóides anteriores foram isolados dos posteriores e mantidos em placas separadas. Nas divisões sucessivas, foram reunidos, numa placa A, todos os zoóides anteriores; numa placa P, os posteriores. Depois de 17 dias, 4 dos 6 animais da placa A possuíam gônadas, ao passo que, mesmo depois de dois meses nenhum exemplar da placa P esteve sexuado. Para excluir a atuação de eventuais fatores desconhecidos nesta placa dos zoóides posteriores, mantive nela 2 zoóides anteriores oriundos da 5.^a divisão de 2 vermes da placa P: ao cabo de alguns dias, desenvolveram gônadas. Os dados obtidos parecem indicar que os segmentos do tronco de *Dero botrytis* devem alcançar certa idade antes de formarem gônadas. Do mesmo modo como na ontogênese iniciada pelos gonócitos, o "travail évolutif" (Lacaze-Duthiers) precede ao estágio adulto, caracterizado pela reprodução, os segmentos jovens desenvolvem-se durante certo tempo, antes de alcançarem o estágio interno em que surgem nêles as gônadas. Existem porém, com respeito a *Stylaria lacustris* e *Aulophorus carteri*, indicações contrárias (Stolte 1933, p. 105; Marcus 1943, p. 83).

Como se ve pela tabela n.º 1, o valor de n oscila dentro de limites bastante amplos a saber, 23 e 65.

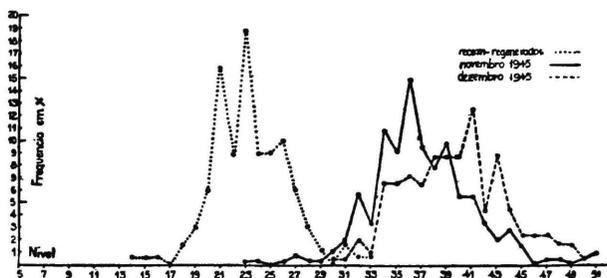
TABELA N.º 1

Época	Proveniência	Varição de n	Moda	% de zonas	% de gônadas
III/IV/1945	tanque Fac.	31-52	42	98	‡
IV/1946	Pinheiros	32-53	42	28,61	39
II/1946	tanque Fac.	36-65	53	12,11	70
IV/1946	" "	31-62	40	38,28	53
V/1945	" "	25-51	36	‡	‡
VIII/1945	" "	23-51	36	‡	‡
IX/1945	" "	31-51	36	54,5	66
IX/1945	" casa	30-49	34	42,9	68
XI/1945	" Fac.	31-53	40	‡	‡
XII/1945	" "	31-50	41	34,26	‡

O número médio de segmentos que um verme de *Dero botrytis* alcança é de 60-70, sem contar a zona de acréscimo. Principalmente nos vermes sexuados, mas, também nos estéreis, ocorrem 100 segmentos e mais ainda. A posição da zona de divisão manteve-se, de maio a setembro de 1945 no tanque da Faculdade, nos segmentos 34 a 36, sendo 35 o segmento divisório indicado na diagnose de *Dero botrytis* (Marcus 1943, p. 39) (veja Gráfico 2).

Em maio de 1946, analisei 350 indivíduos de uma rica população encontrada num charco perto do rio Pirajussara. A porcentagem das zonas de divisão, a posição das mesmas e o estágio de desenvolvimento das gônadas ajustaram-se bem aos dados correspondentes que obtive, na dita época, do material do tanque. Enquanto a porcentagem de vermes sexuais oscilou, de fevereiro a maio de 1946, entre 40 e 92%; a de ovócitos crescidos foi, em abril e maio, pequena (5-12%), pois a maioria dos ver-

GRÁFICO 2



Variação do valor de n, verificada em animais recém-regenerados e em 2 populações naturais de *Dero botrytis* nos meses de novembro e de dezembro de 1945.

mes encontrou-se na fase masculina. Durante esta época, aumentou a intensidade divisória.

A influência conhecida das gônadas sobre a divisão nota-se, em *Dero botrytis*, como nas outras Naididæ, apenas quando os órgãos reprodutivos atingem certo tamanho (Marcus 1943, p. 38). O verme aumenta de diâmetro, e os seus músculos tornam-se mais flácidos. Tocado pela agulha operadora, fragmenta-se muitas vezes. Nesta fase, a divisão pode ainda continuar, embora em ritmo lento e, por consequência, com valor alto de n. Quando os ovócitos alcançam o máximo do seu crescimento, e estendem o ovisaco até o 13.º ou 14.º segmento, os processos preparatórios da divisão param completamente, e o brotamento de novos segmentos na zona de acréscimo cessa. Os segmentos já esboçados crescem ainda, mas não atingem o tamanho dos anteriores. Às vezes, degeneram a fosseta branquial e a zona de acréscimo; os cloragócitos tornam-se pretos; o diâmetro do intestino diminui consideravelmente; e, em escala menor, também o do corpo. Visto que o intestino anterior se atrofia, o verme não pode mais alimentar-se. O material para o crescimento e mesmo o destinado à divisão, nem sempre é afetado na sua substância, durante o processo sexual. Em 2 ou 3 casos, observei, depois da autotomia dos segmentos anteriores que contêm as gônadas, uma zona de divisão em formação, antes mesmo de se ter completado a regeneração cefálica. Os neoblastos vegetativos começaram, portanto, a acumular-se, antes de o verme readquirir a capacidade de ingerir alimento. Em *Dero evelinæ*, espécie vizinha, a capacidade regenerativa, igualmente ligada aos neoblastos, pode permanecer inalterada no verme sexualmente maduro (Marcus 1943, p. 42).

c) Influência da amputação sobre a divisão

Quando pequenos fragmentos são isolados do tronco, tal processo chamado de "redução do sistema biológico" (Janda 1926, p. 433) influencia, juntamente com a regeneração subsequente, o valor de n, diminuindo-o acentuadamente. Hyman (1916, p. 146) atribui o efeito à ação estimuladora do corte. É difícil, porém, admitir um estímulo que continue como tal durante todo o tempo da regeneração. Parece antes que a re-

geração provocada pelo corte rejuvenesce o animal, talvez pelo desenvolvimento dum grande número de segmentos jovens, após o corte.

Quando reuni numa placa, pela primeira vez, fragmentos com 7 segmentos velhos já regenerados, para examinar, se o abrimento da boca garante sobrevivência do regenerado, e, por isso, representasse bom sinal de "regeneração completa", verifiquei o seguinte: os fragmentos tornaram-se animais jovens completos, com tôdas as atividades normais. Os seus 25-30 segmentos mostraram-se finos e pouco pigmentados. Depois de decorridos 10-12 dias, desde a regeneração completa, apareceram zonas de divisão situadas entre os segmentos 15 e 25, havendo, portanto, $n = 14-24$.

TABELA N.º 2

Variação de n nos fragmentos recém-regenerados:

Nível:	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	
∴	N.º	1	1	1	—	2	4	8	21	11	25	11	13	14	8	5	3	—	2	1	1

A consequência da operação e da regeneração ressalta sem delongas, e manifestou-se em tôdas as repetições das experiências descritas. O aspecto dos vermes concorda de tal modo com o de segmentos jovens formados na zona de acréscimo, que creio devemos atribuir a divisão precoce, com pequeno valor de n , à renovação post-operativa do sistema. Acompanhei os ditos animais durante 70 dias, contados do abrimento da bôca, separando os vermes anteriores dos posteriores. Apesar de serem os últimos compostos totalmente por segmentos jovens, formados há pouco tempo por regeneração, dividiram-se apenas 4 vezes no lapso de tempo indicado, enquanto os anteriores se dividiram 6 vezes. Eleveu-se, conseqüentemente, o valor de n nos vermes posteriores, aproximando-se, com $n = 31-36$, ao normal. Nos vermes anteriores, o valor de n diminuiu mais ainda que na primeira divisão post-operativa. A zona apareceu sempre num dos 3 últimos segmentos, de maneira que o zoóide posterior abrangeu de 2 a 0 segmentos antigos, i. é, presentes antes da operação.

Mais tarde, formaram-se as gônadas e, com isso, manifestaram-se, na fase de crescimento intenso dos ovócitos, os fenômenos conhecidos: retardamento da seqüência das divisões, e deslocamento da zona de divisão para trás, onde ela surgiu nos segmentos 40 e 41 recém-produzidos pela proliferação da zona de acréscimo. Os segmentos que continham as gônadas, afastei pelo corte, ou os vermes eliminaram-nos por autotomia. Na época post-sexual, diminuiu o valor de n (até 26-34), mas não tanto quanto no período pré-sexual. Novas gônadas desenvolveram-se com os mesmos efeitos. Evidentemente, o rejuvenescimento agora conseguido pelas autotomias ou pelos cortes não conseguiu mais alterar consideravelmente a disposição interna dos vermes regenerados.

Quando isolei fragmentos de 3 segmentos, observei nos regenerados sobreviventes novamente o deslocamento da zona para a frente. O resultado aparentemente menos nítido ($n = 25-34$) deve-se à demora no aparecimento da primeira divisão post-operativa: Quando se dividiram, os vermes já possuíam um número de segmentos muito mais elevado que os regenerados de 7 segmentos. Constituídos quasi exclusivamente por

segmentos jovens, comportam-se de um modo semelhante aos zoóides posteriores. Também nesta população desenvolveram-se gônadas.

Certamente é impossível avaliar, mesmo com aproximação, a idade dos vermes manipulados. Os indivíduos que evidenciaram os sinais de senilidade descritos por Stolte (1924; 1927) não operei. Comparando, porém, os segmentos em que a zona de divisão se formou, nas minhas experiências, depois da operação, com os que compõem o tronco dum verme não operado, posso considerar os primeiros como muito mais jovens.

Êstes resultados "artificiais" que obtive numa espécie de *Dero* concordam com os que Chu (1945, p. 200-205) observou em populações naturais de *Stylaria fossularis*. Já foi dito (veja p. 6) que o tipo divisório normal de *Stylaria* se distingue pela aceleração da seqüência das divisões do de *Dero*, podendo porém, o último, como se vê pelas experiências descritas, ser aproximado ao de *Stylaria*.

d) Influência do "crowding" sôbre a divisão dos vermes jovens

Regenerados produzidos por fragmentos curtos representam um material comparável aos filhotes recém-saidos do ovo. Constituídos de numerosos segmentos novos e alguns outros rejuvenescidos, possuem um estado fisiológico quasi uniforme. Tal raramente existe numa população da natureza, cujos antecedentes individualmente diferentes podem resultar em reações muito diversas.

Experimentei os efeitos do "crowding" sôbre fragmentos curtos com regeneração realizada. Reuni 60 dêstes numa placa de Petri (A) e outros tantos vermes também recém-regenerados numa placa B, para servirem de controle. Depois de 6 semanas, durante as quais a água de A não foi renovada, houve aí 224 animais. As divisões, no início muito rápidas, pararam. Na placa B, cuja água foi trocada diàriamente, as divisões continuaram durante todo o período da observação no mesmo ritmo, exceto nos vermes, cujos ovócitos cresceram. O número dos vermes de B foi de 336. Os vermes da placa A tinham percorrido, em média, 2 divisões; os de B, 3. Muitos vermes da placa A mostravam flacidez dos músculos, autotomia dos segmentos, e degeneração da zona de acréscimo e das brânquias. Apesar da abundância do alimento disponível, exibiam intestinos vazios. Nada disso notou-se na população mais numerosa da placa B. A porcentagem dos vermes sexuais em A foi muito mais alta que em B.

Afastei então os vermes da placa A, em cuja água não renovada coloquei um novo lote de recém-regenerados. Instalei, ao mesmo tempo, nova cultura de controle. Nesta experiência, o efeito foi mais drástico ainda. Ao cabo de 15 dias, sobrevivia na água dos dois "crowdings" sucessivos apenas um fragmento em degeneração; na população de controle as divisões processavam-se normalmente.

Ressalta das experiências descritas a sensibilidade pronunciada de vermes jovens (fragmentos recém-regenerados) e da zona de acréscimo de vermes adultos às condições surgidas no "crowding". A resistência geralmente pequena das células pouco diferenciadas aos efeitos das irradiações com raios X e rádio depreende-se das pesquisas de Turner (1934,

p. 111), Preu (1938, p. 404-406), O'Brien (1942, p. 214), e outros. Possivelmente, a divisão celular, intensa nos segmentos jovens, é especialmente exigente quanto às condições do meio externo e interno do organismo.

Nas pesquisas sobre o gradiente metabólico precedentemente referidas (veja I c, p. 10), a sensibilidade da região caudal dos vermes adultos foi considerada como índice do metabolismo especialmente alto na zona de acréscimo, originadora dos segmentos jovens. A parte da esplanopleura que permanece na fase neoblástica fornece as células basilares substituidoras do intestino (Marcus 1943, p. 158). A julgar pelos intestinos vazios, pararam, como em vermes jejunos (ibid., p. 159-160), também nos animais expostos ao efeito do "crowding", as divisões celulares nos centros substituintes do intestino.

Certa particularidade do aspecto dos segmentos novos, nos vermes do "crowding", mostrou ser afetada, além da divisibilidade celular, ainda a histo-diferenciação. Os segmentos formados nas zonas de divisão e de acréscimo permaneceram pequenos e pouco pigmentados. Muito mais lentamente que nos vermes de controle, ou mesmo nunca, tais segmentos adquiriram os caracteres de segmentos adultos.

Os valores mais altos de n , a saber, 70 e 72, foram verificados em dois animais mantidos numa placa, em cuja água coloquei substância animal em putrefação. Depois de transferido à água limpa, o verme com $n = 72$ formou, antes de dividir-se na zona mais velha, outra em posição normal ($n = 35$). Surgiu, destarte, uma cadeia constituída por 3 zoóides. Tais cadeias com mais de dois zoóides são raras na natureza; um pouco mais freqüentes, em populações de intensa atividade divisória, como por ex., as compostas de vermes provindos de fragmentos curtos. Uma vez, encontrei, no tanque, uma cadeia composta de 4 zoóides da constituição seguinte: zoóide I: cabeça de 5 segmentos e 31 segmentos do tronco; zona de divisão 1; zoóide II: um segmento e zona de acréscimo; zona de divisão 2; zoóide III: 32 segmentos; zona de divisão 3; zoóide IV: 47 segmentos e zona de acréscimo; pigídio com brânquias.

Outra cadeia de mais de 2 zoóides foi encontrada em 25. VIII. 46 no rio Pirajussara. A cadeia era assim composta: zoóide I: 5 segmentos cefálicos e 27 segmentos do tronco; zona de divisão 1; zoóide II: 27 segmentos; zona de divisão 2; zoóide III: 52 segmentos e zona de acréscimo; pigídio com brânquias.

e) Diferenças regenerativas nos vários níveis

Cabeças isoladas ou cabeças com 1-2 segmentos do tronco excepcionalmente sobrevivem durante 2-3 dias; elas ficam imóveis e entumescem sem regenerar. A cabeça com 3 segmentos sobreviveu até 6-7 dias, em alguns casos. Com 4 segmentos do tronco, raramente regenerou uma extremidade posterior normal; às vezes formou uma fosseta branquial reduzida e uma zona de acréscimo que produziu poucos segmentos, mas, acabou morrendo. A cabeça com 5 segmentos do tronco (portanto 10 segmentos ao todo) regenerou normalmente, em 10% dos casos. O fato de a cabeça necessitar dum número tão alto de segmentos do tronco, poderia ser atri-

buido ou à ação inibidora exercida por ela sôbre os segmentos ou à fraca capacidade regeneradora dos segmentos anteriores.

Com respeito à extremidade posterior é difícil apontar exatamente o mínimo, pois êste varia conforme o estado de desenvolvimento dos segmentos. Se compararmos os dois indivíduos recém-formados por divisão, o verme originado pela região anterior da cadeia possui, imediatamente à frente da sua nova zona de acréscimo, segmentos velhos, completamente desenvolvidos. O indivíduo provindo do ex-zoóide posterior tem, na frente da velha zona de acréscimo, um número de segmentos mais novos que o verme originado da zona rostral da cadeia. Quando isolados, os 2-3 últimos segmentos do primeiro animal (mais a zona de acréscimo) são capazes de regeneração cefálica. O ex-zoóide posterior precisa de 10-15 segmentos mais a zona de acréscimo para poder regenerar a cabeça. Mesmo com a dita constituição do fragmento, a regeneração realiza-se sòmente numa pequena porcentagem dos casos.

Escolhendo vermes (ex-zoóides posteriores) com zona de acréscimo um tanto débil, pude obter regeneração cefálica com fragmentos de 7-8 segmentos posteriores. A presença da região pré-pigidial não diferenciada dificulta, evidentemente, o processo regenerativo. Tal achado concorda com as idéias da Dra. Hyman (1916). Segundo ela, uma região em intensa divisão celular e, porisso, com alto nível metabólico, obsta ao estabelecimento dum campo cefálico independente. Sòmente tal ação fisiológica torna compreensível a supressão da regeneração, pois, materialmente, a zona de acréscimo deveria facilita-la.

Fragmentos muito curtos do tronco, constituídos por 1 a 2 segmentos, podem sobreviver por 2 a 5 dias, e mesmo regenerar uma fosseta branquial. Com 2 segmentos, em raros casos, regeneraram posteriormente uma cauda e anteriormente uma cabeça. Tal cabeça apresentava-se sempre hipomérica, i. é, com número de segmentos inferior a 5, o número normal em *Dero*. O número de segmentos do tronco, que sobrevivem e regeneram freqüentemente cabeça e brânquias, é de 3 segmentos. Ainda nestes fragmentos, a mortalidade foi muito alta. Êstes dados concordam com os obtidos por Hyman (1916, p. 131) em *Dero limosa*. Fragmentos de 10 segmentos ou mais regeneram com grande rapidez e facilidade.

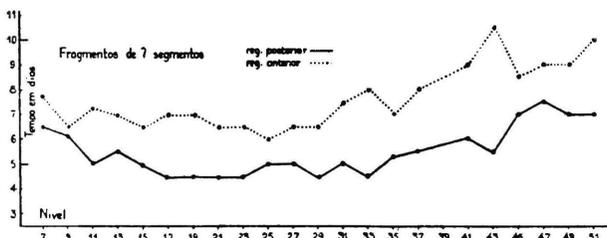
A influência do tamanho do fragmento sôbre a regeneração manifesta-se tanto na velocidade da regeneração quanto na porcentagem da sobrevivência. A resenha seguinte, que se refere à região média do corpo (segmentos de 15 a 30) ilustra isso (temperatura d'água: 18-20°C). De fragmentos de 7 segmentos, sobreviveram 70-85%, regenerando as partes anterior e posterior completamente, em 6 a 7 dias; dos de 5 segmentos, os dados correspondentes são 35-40%, e 10 a 11 dias; dos de 3 segmentos, 6-22% e 10 a 13,5 dias.

A diferença notada deveu-se principalmente à quantidade material. O fator dinâmico, quer dizer a porção do gradiente contida no fragmento, não se manifestou, pois em fragmentos de 10 segmentos, 12 segmentos, 15 segmentos, etc., sempre com parte maior do gradiente, não notei influência sôbre o tempo necessário para a regeneração em temperatura constante.

Elevando a temperatura consegui acelerar a regeneração dos fragmentos de 7 segmentos, obtendo com 4° C. a mais da temperatura ambiente (18-20°C) a regeneração cefálica completa com 24 horas de antecedência. Não se modificou o número de 5 segmentos anteriores formados até o momento em que a boca se abriu. O número de 5 segmentos cefálicos é genéticamente fixo. O número de segmentos posteriores produzidos pela zona de acréscimo aumenta em temperaturas mais altas.

Ao examinar a regeneração dos fragmentos isolados das várias regiões do corpo observei em concordância com as indicações de Hyman (1916, p. 128) diferenças ao longo do eixo ântero-posterior do verme. Tais diferenças da capacidade regenerativa manifestaram-se: 1) na velocidade da regeneração (v. Gráficos 3 e 6); 2) na porcentagem dos regenerados sobreviventes (v. Gráfico 4); 3) no número de segmentos regenerados posteriormente; 4) na freqüência de regenerados hipo e heteromórficos (v. Gráfico 5); e 5) no número mínimo de segmentos capazes de regeneração completa.

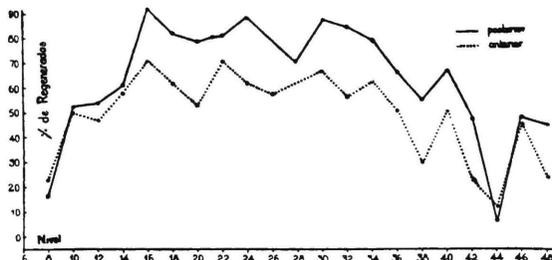
GRÁFICO 3



Variação no tempo necessário à regeneração em fragmentos de 7 segmentos de *Dero botrytis*. Em abscissas: nível sobre o eixo longitudinal. Em ordenadas: tempo em dias.

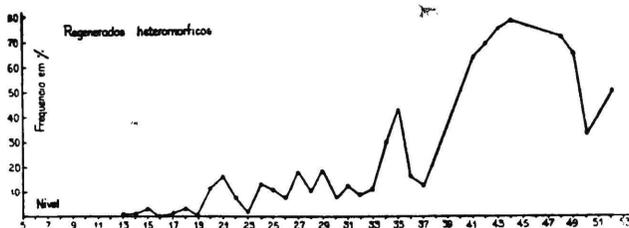
— regeneração posterior;
 regeneração anterior.

GRÁFICO 4



Porcentagem de fragmentos de 7 segmentos de *Dero botrytis* que completaram sua regeneração. Em abscissas: nível sobre o eixo longitudinal. Em ordenadas: freqüência em %.

GRÁFICO 5



Porcentagem de regenerados heteromórficos em fragmentos de 7 segmentos de *Dero botrytis*. Em abscissas: nível sobre o eixo longitudinal do corpo. Em ordenadas: frequência em porcentos.

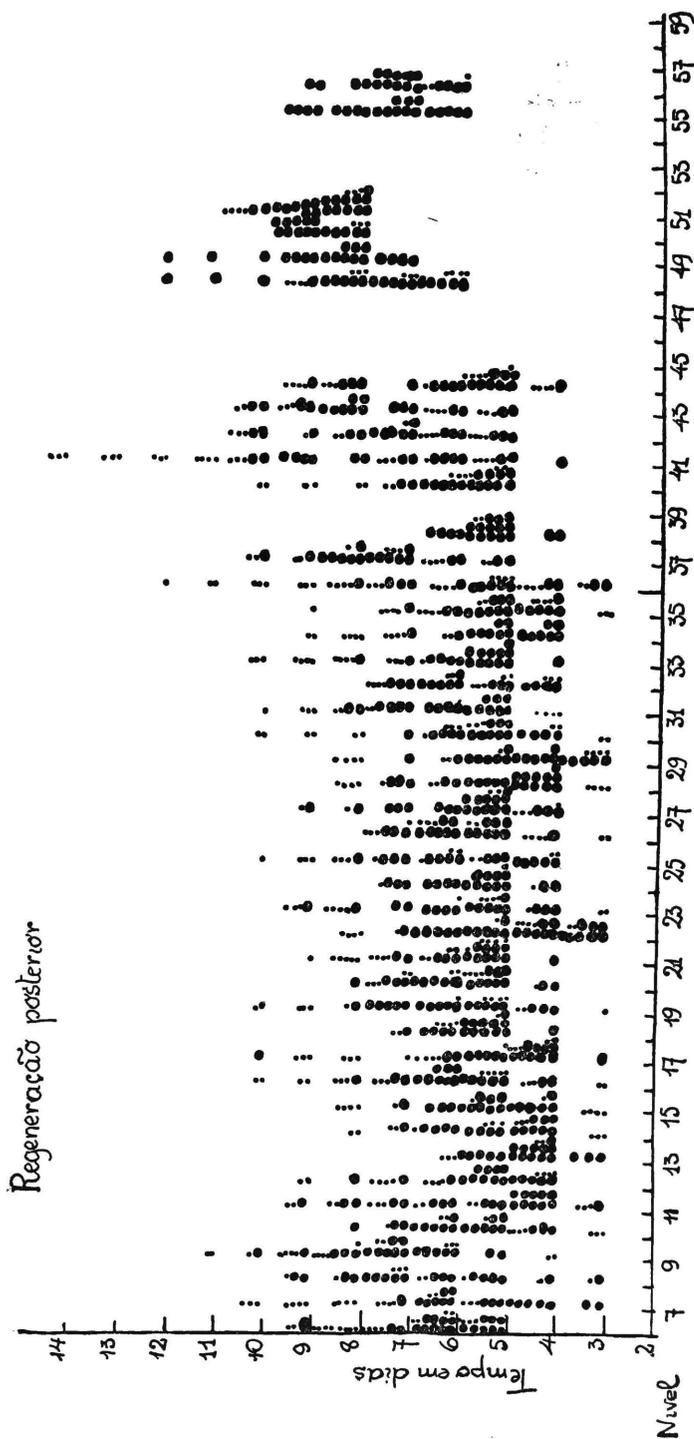
O número mínimo de segmentos necessários examinei do modo seguinte: cortei, p. ex., depois da eliminação dos 5 segmentos cefálicos incapazes de regeneração, fragmentos de 2, 3, 4 segmentos e mais, começando com o 6.º. Nesta região anterior, até o 8.º segmento, o fragmento capaz de regeneração completa deve possuir 6 segmentos, no mínimo. Na região seguinte, aumenta a capacidade regeneradora. Fragmentos cujo primeiro segmento é o 11.º podem regenerar cabeça e brânquias com 3 segmentos apenas. Na região situada atrás da zona de divisão normal, ao nível do 45.º segmento aproximadamente, diminui a capacidade regeneradora, sendo necessários 5-6 segmentos para a reconstituição completa. Mais para trás ainda, declina a capacidade regeneradora novamente: fragmentos, cujo primeiro segmento é o 48.º, devem abranger 7 a 10 ou mais segmentos ainda, para poderem reconstituir um verme.

O comprimento diverso dos vermes dificulta determinar exatamente até que nível um fragmento de 3 segmentos é suficiente para a regeneração. Níveis numericamente iguais são fisiologicamente diferentes conforme o número total de segmentos do animal. Por isso, indico, como mais favorável à regeneração, a região entre os segmentos 15-30, sem especificar um determinado nível. Da dita região, a capacidade regeneradora diminui para o lado de ambas as extremidades.

Em fragmentos constituídos por segmentos anteriores, encontrei, frequentemente, fossetas branquiais regeneradas em proporções infra-normais ou regenerados acaudados. Consta disso, que os níveis anteriores regeneram mais facilmente a cabeça que a cauda. Nos níveis posteriores, ocorreu sempre regeneração da cauda, mas, em numerosos casos, foram produzidas cabeças hipomórficas ou heteromórficas, havendo também regenerados acéfalos. Depreende-se disso uma diferença com respeito às regenerações anterior e posterior ao longo do corpo, esta, de certo modo, independente do gradiente geral da regeneração. As observações descritas revelam uma diferença qualitativa, como foi notada em *Lumbriculus inconstans* (Hyman 1916, p. 133), ao passo que o gradiente da capacidade regeneradora geral manifesta uma diferença quantitativa.

Quando cortei fragmentos de 3 segmentos, o tamanho mínimo para obter regeneração, e esta com dificuldade, supunha que tais fragmentos.

GRÁFICO 6



Varição no tempo necessário à regeneração posterior de fragmentos de 7 segmentos de *D. botrytis*. Frequência das regenerações em cada dia. Em abscissas: nível sobre o eixo longitudinal. Em ordenadas: tempo em dias.

- 1 animal com regeneração completa;
- 5 animais com regeneração completa.

mostrassem as diferenças existentes ao longo do eixo ântero-posterior com nitidez especial. Os resultados, porém, não confirmaram a minha conjectura. Mesmo em níveis que deveriam regenerar bem, houve uma mortalidade tão alta que o efeito do gradiente ficou obscurecido. Quaisquer variações das condições internas e externas, inevitáveis em centenas de operações executadas em dias diferentes, devem ter causado as hecatombes notadas nos meus protocolos. Nem mesmo as regenerações completas que obtive evidenciaram variação pronunciada do tempo necessitado para a reconstituição nos vários níveis. A maioria dos fragmentos que consegui regenerar, precisou para isto de 11-12 dias (temperatura água 18-20°C); os que não tinham regenerado, decorridos 15 dias, morreram. Como em *Dero limosa* (Hyman 1916, p. 130) e em *Nais paraguayensis* (O'Brien 1942, p. 210) a variação ao longo do eixo ântero-posterior de *D. botrytis* é tão pequena que pode ser mascarada mesmo por pequenas diferenças ocasionais, por sua vez determinadas pelos antecedentes dos vários indivíduos, ou pelo seu estado fisiológico no momento da operação. Não atribuo à maturidade dos órgãos reprodutivos, inevitável no meu material, o descrito resultado negativo, pois obtive alta porcentagem de sobrevivência dos níveis médios e dos fragmentos compostos por 7 segmentos.

Os gráficos da regeneração anterior e da posterior mantem-se sempre aproximadamente paralelos. Isto poderia significar que os efeitos do gradiente da regeneração geral encobrem os da variação das duas capacidades regenerativas: a anterior e a posterior. Esta conclusão não é a única que se apresenta. A variação das duas capacidades é, como foi dito, de ordem qualitativa. Por isso, talvez não se manifeste nos dados analisáveis estatisticamente, a saber, a porcentagem de regenerados realizados e o tempo necessário para a regeneração.

Encarando o caráter qualitativo das capacidades regenerativas anterior e posterior, poderíamos examinar a qualidade dos regenerados e, disso, deduzir o nível de equilíbrio entre as duas capacidades. Tal exame levaria à região entre os segmentos 10 e 25. Aí existe um máximo de regenerados completos e normais. Daqui para diante, como já foi dito, aumenta o número dos acaudados; para trás, o dos regenerados cefálicos inibidos da terminologia de Hyman (1916, p. 135), quer dizer, hipó e heteromórficos.

Tanto nos gráficos da porcentagem da regeneração quanto nos do tempo necessário para a reconstituição, a regeneração posterior conserva-se em nível mais alto que a anterior. Isso concorda com a simplicidade descrita da regeneração posterior em comparação com a da cabeça, processo materialmente exigente e morfológicamente complexo. Afora os níveis anteriores extremos, todos os outros são capazes de regeneração posterior; eventuais diferenças entre os níveis do tronco são pequenas. A queda da capacidade regeneradora que se observa nos níveis anteriores é menos pronunciada e abrange número menor de segmentos que a queda posterior. São diferentes os fatores que determinam uma e outra. Ponderei as causas possíveis da exígua capacidade regeneradora dos primeiros segmentos, sem chegar a uma explicação segura. A mais plausível parece ainda a grande distância destes segmentos do centro de origem dos neoblastos, situado, nas Naididæ (Dalla Fior 1909, p. 6; Stolte 1935, p. 642-643), na zona

de acréscimo pré-anal. O papel morfogenético dos neoblastos, na regeneração cefálica, parece medíocre, a julgar pela resenha dada por Marcus (1943, p. 142). Todavia, não faltam; poderiam, em analogia aos neoblastos na regeneração posterior das Tubificidæ (Kreeker 1910, p. 430), exercer uma influência estimuladora para a regeneração cefálica e, destarte, ser necessários também para esta.

Em *Dero batrytis*, encontra-se o primeiro par de nefrídios no 8.º segmento. Assim sendo, os fragmentos de 3-4 segmentos do nível post-cefálico possuem, pelo menos, um par de emunatórios intactos. Como consequência, a morte de tais fragmentos não pode ser atribuída ao sistema excretório, indispensável para a regeneração (Haffner 1928, p. 71). No verme examinado por Haffner, *Lumbriculus variegatus*, revelou-se um par de emunatórios como suficiente para a regeneração. Se reconduzirmos a perda da capacidade regenerativa dos segmentos anteriores ao estado altamente diferenciado dêles, formulamos apenas o mesmo problema em outros termos (Hyman 1940, p. 523). A autora citada pensa que qualquer fator interno relacionado com o gradiente metabólico deve ser responsável pelo fenômeno em questão. Não entendo, porém, por enquanto, porque tais segmentos que ocupam nível alto do gradiente regeneram mal. Uma vez separados da ação inibidora da cabeça deveriam, pelo contrário, regenerar bem.

A falta de capacidade regeneradora nos segmentos posteriores parece realmente ser relacionada ao estágio jovem dêstes segmentos. Sendo jovens, possuem metabolismo intenso que, como foi dito, dificulta a regeneração da cabeça (Hyman 1916, p. 129). Possivelmente, as energias dos segmentos posteriores concentram-se na execução do "travail évolutif". Na região caudal do corpo, deveria ser máxima a potência do fragmento de regenerar segmentos posteriores. Não obstante, é maior que nesta região o número de segmentos posteriores regenerados por fragmentos da região média do corpo. Isto sugere insuficiência de reservas materiais nos segmentos jovens, incompletamente diferenciados. Os cloragócitos, são p. ex., escassos na região mais jovem do corpo, e êstes desempenham, na regeneração cefálica das Lumbricidæ, um papel decisivo (Liebmann 1945).

f) Regenerações anômalas (Figs. 1 a 7)

Fragmentos compostos por 7 segmentos, isolados dos níveis 5-8, mostram, freqüentemente, regeneração posterior incompleta, permanecendo acaudados. Dêstes foram observados:

no nível 5	..	35%
" " 6		30%
" " 7		6,3%
" " 8	9,2%
" " 9		4,8%
" " 10		2,5%

Nos níveis seguintes, os regenerados acaudados são raros, mas, ocorrem até os níveis 30-35. As falhas ocasionais da regeneração posterior, nos níveis 11-35, concordam com a verificação precedentemente exposta.

dé regenerar a região anterior mais facilmente cabeça que cauda. A dificuldade interna foi, nos casos de regeneração caudal não sucedida, provavelmente acentuada por condições externas, p. ex., o corte separador aplicado no momento, em que o intestino é muito estendido. Neste caso, o trato digestivo contrai-se intensamente após o corte e pode afastar-se irreparavelmente da epiderme, com que não mais consegue entrar em contato.

Tais fragmentos acaudados, provindos dos níveis 11-35, tendo cicatrizado a região posterior, foram novamente cortados na extremidade caudal. Com êste segundo ou com um terceiro corte, consegui, por via de regra, regeneração do anus e das brânquias. Tais operações repetidas nunca levaram à regeneração caudal normal, quando aplicadas a regenerados acaudados dos níveis 5-10. Nos níveis 5-10, formaram-se, às vèzes, fossetas branquiais reduzidas ou cônes de regeneração posterior. Os órgãos caudais parecem ser inibidos, seja pelos fatores internos já aludidos, seja pela incapacidade do intestino de proliferar nesta região muito distante dos centros de origem das células basilares substituidoras. A epiderme, com que o intestino de crescimento lento não conseguiu ligar-se, encobre a ferida.

Poucas vèzes, foi observada a formação duma zona de acréscimo não seguida pelo anus e pela fosseta branquial. O regenerado, nestes raros casos, tem a forma de um cône. Uma vez, o cône cresceu durante vários dias, esboçando 7 novos segmentos, todos percorridos pelo vaso dorsal. O intestino terminou sem anus, antes de atingir o ápice do cône. Evidentemente houve, neste caso, insuficiência regenerativa do intestino. Os fenômenos relatados são comparáveis aos descritos por Marcus (1943, p. 28 f. 109A, 109B): “se houver, por razões ignoradas, aceleração da reconstituição da zona de acréscimo, atizam-se os órgãos anais”, ou, como aqui, não se formam. O coto permanece então, na extremidade posterior, no estádio do intestino fechado, freqüentemente observado como passageiro, em *Nais paraguayensis* (ibid., p. 153 f. 132). Em fragmentos muito pequenos (de 3 segmentos), ou expostos à influência prejudicial da anestesia durante a operação, os regenerados acaudados ocorrem esporadicamente em todos os níveis. Sem interêsse teórico são ainda anomalias, às vèzes transitórias, freqüentes durante a regeneração em níveis posteriores. O tubo músculo-dermático pode contrair-se mais intensamente que o intestino, dando-se então prolapso parcial dêste. As deformações surgidas nestes casos são regularizadas durante a regeneração.

Fragmentos isolados atrás dos níveis 25-30, muitas vèzes, fecham a ferida anterior e permanecem acéfalos, ou regeneram um cône obtuso e estreito, no qual alguns cromatóforos podem ocorrer. Em tais casos cortes ou picadas ulteriores não provocam regeneração da cabeça. Entre os regenerados acéfalos e os de cabeça normal há todos os tipos intermediários. Hyman (1916, p. 132) denominou os regenerados infra-normais de hipoméricos. Vi, uma vez, um fragmento que tinha regenerado prostômio e bôca sem algum segmento setífero. Os regenerados hipoméricos mais freqüentes são os que teem 2-3 pares de feixes de cerdas em vez dos 4 pares normais. Mais raros são os cilindros massiços sem boca

e faringe, irrigados pelo sistema circulatório, e providos de 3-4 feixes de cerdas irregularmente dispostas. Este tipo foi descrito em *Stylaria lacustris* por Harper (1904, p. 183). Não observei, em tais casos, regulação ulterior; os fragmentos sem bôca morreram todos. Os hipoméricos que possuíam bôca, comportaram-se normalmente, mas não restituíram o número normal de segmentos. Um lote dêles tinha completado, em 5-IV-1946, a sua regeneração cefálica hipomérica e tinha atingido, em 20 de abril (temperatura d'água 20°C), o seu tamanho definitivo, i. é, 50-70 segmentos. Os vermes dividiram-se, suas gônadas alcançaram pleno desenvolvimento, sem que as cabeças tivessem sido reguladas. A frequência das cabeças hipoméricas varia ao longo do eixo principal. No 5.º segmento, cabeças hipoméricas ocorrem copiôsamente; de 6.º-30.º, escasseiam; daí para trás, o seu número aumenta novamente. Em vermes um tanto débeis no momento da operação, o número dos regenerados anteriormente hipoméricos aumenta. O'Brien (1942, p. 213-214) observou numerosos regenerados hipoméricos em animais expostos aos raios X, correspondendo o grau de redução à intensidade da irradiação.

Ainda a porcentagem de hipoméricos depende do tamanho dos fragmentos: os compostos por 3 a 5 segmentos fornecem muito mais regenerados hipoméricos que os constituídos por 7. Entre os fragmentos de 7 segmentos, verifiquei a frequência máxima (39%) de cabeças hipoméricas no nível 40; a mínima (2,5%) no nível 19.

De superregenerados, observei uma cabeça hipermérica, em que havia 6 segmentos em vez dos 5 normais. Duas vêzes vi duplicação caudal, na forma de uma segunda fosseta branquial situada lateralmente. A regeneração cefálica não se realizou nestes fragmentos. O superregenerado caudal mais nítido apareceu num fragmento de 8 segmentos do nível 21-29, em que igualmente a regeneração cefálica não se realizou. Decorridos 4 dias depois da operação, a extremidade posterior achou-se regenerada com 7 novos segmentos esboçados na zona de acréscimo. Acidentalmente, o verme foi vulnerado no penúltimo segmento velho, e uma parte do intestino saiu pela ferida. Três dias mais tarde, tinha regenerado, ao nível da lesão, uma 2.ª fosseta branquial e o primórdio de nova zona de acréscimo. O intestino da zona primeiramente regenerada, agora com 12 segmentos, degenerou, possivelmente porque foi isolado do intestino anterior pelo segundo regenerado, que ainda tinha levado consigo os vasos principais. Formação análoga dum segundo anus situado lateralmente foi observada por Kreckler (1910, p. 400) numa espécie de *Tubifex*.

Regenerados anteriores múltiplos, como foram descritos, p. ex., por Hyman (1916, p. 139) em *Lumbriculus inconstans*, ocorreram também no meu material, *Dero botrytis*. Em tais multiplicações tratou-se, raramente, de duas cabeças; geralmente, de estruturas cefálica e caudal unidas. As últimas são muito vistosas nos vermes aqui manipulados, em virtude do grande número de apêndices branquiais ciliados, ricamente vascularizados e providos de cromatóforos numerosos. O epitélio branquial salienta-se do integumento restante do corpo (Marcus 1943, t. 9 f. 38) pela sua altura. Nos vermes normais (ibid., t. 6 f. 23), dirige-se a face ativa da cabeça ventralmente; a da fosseta branquial, dorsalmente. Esta orientação conserva-se nos regenerados anteriores múltiplos, pois o regenerado

cefálico ou cefalóide ocupa a posição ventral; o branquial ou caudal, a dorsal. O branquial é sempre amplamente suprido pelos vasos sanguíneos. Apresenta-se diversamente diferenciado; uma vez, como fosseta branquial regular; outra vez, como goteira ciliada sobreposta à faringe; ou como excrescência cefálica dorsal, coberta por epitélio de caráter branquial. Por via de regra, o verme com o regenerado anterior múltiplo re-individualiza-se (Steinmann 1928), completando a cabeça e envolvendo a cauda. Apenas nos casos em que o intestino anterior tinha entrado completamente no regenerado branquial e aí dado origem a um anus cefálico-dorsal, a dita involução foi substituída por autotomia dos segmentos anteriores deformados. Na regeneração seguinte, surgiu uma cabeça normal.

Nos fragmentos compostos por 3 a 5 segmentos, observei só muito raramente regenerados múltiplos, possivelmente por causa da escassez de material regenerativo. Fragmentos compridos constituídos de 20-30 segmentos podem, quando isolados das regiões terminais do verme, regenerar estruturas múltiplas. Entre os fragmentos de 7 segmentos, as regenerações múltiplas só começam a aparecer do nível 17 para trás, e atingem o máximo da sua frequência nos níveis 30-40. Nesta região, situa-se a zona de divisão normal, i. é, o segmento em que se originam os primórdios confinantes da fosseta branquial (zóide anterior) e da cabeça (zóide posterior). Na região posterior do verme aumentam, como foi dito, os regenerados cefálicos defeituosos (acéfalos); os múltiplos anteriores não são frequentes nos níveis de 40 para trás (v. Gráfico 5, p. 25).

Dos regenerados biaxiais considero primeiramente os caudais. Na extremidade anterior dum fragmento, regenera-se, às vezes, uma extremidade posterior normal. Anus, fosseta branquial e zona de acréscimo desenvolvem-se completamente. Tentei, por nova fragmentação, obter vermes com polaridade contrária à normal, mas não o consegui. Dos meus protocolos escolho um típico: o fragmento A contém 7 segmentos velhos, e, em cada lado, uma zona de acréscimo de 10 segmentos, mais um pigídio com fosseta branquial. Cortei A em três pedaços: A₁, A₂, A₃. A₁ com cauda e zona de acréscimo morreu. A₂ constituído por 5 segmentos velhos permaneceu acéfalo, regenerando apenas cauda. A₃ composto de 2 segmentos velhos, zona de acréscimo, e terminação posterior regenerou a cabeça e sobreviveu. Visto que esta última regeneração normal reestabeleceu a polaridade original, presente antes da isolação do fragmento de 7 segmentos, não se entende a falta de regeneração em A₂. Hyman (1916, p. 132) considerou caudas biaxiais como sendo condicionadas pelo metabolismo uniformemente alto dos cotos em regeneração e dos segmentos que perfazem o fragmento isolado. Em tais condições, nenhum dos cotos consegue isolar-se fisiologicamente. Permanece dinamicamente subordinado e torna-se, morfológicamente, extremidade caudal. Se fôsse assim, deveríamos esperar regenerados caudais biaxiais dos níveis anteriores, pois, nestes, a intensidade do metabolismo é reconhecidamente alta. Tais, porém, não ocorrem. Se compararmos, além disso, o grau do metabolismo nas várias regiões do fragmento A, precedentemente descrito, o da anterior que abrangia uma zona de acréscimo, deveria ter sido mais alto que o da região média com segmentos velhos. Depois da tripartição, A₁ cons-

tituido inteiramente por material jovem deveria ter acusado o metabolismo mais intenso; o de A_3 com 2 segmentos velhos e zona de acréscimo posterior deveria ter sido mais ativo que o de A_2 que continha somente segmentos velhos. Os resultados regenerativos, porém, não correspondem ao presumível gradiente metabólico.

De cabeças biaxiais foram vistos 4 casos típicos. Num fragmento de *Aulophorus furcatus* composto de 12 segmentos, havia uma cabeça hipomérica na extremidade posterior e uma anterior normal. Cortei o verme novamente, separando duas partes: a anterior B_1 e a posterior B_2 . O fragmento B_1 constituído de 5 fragmentos cefálicos e 6 segmentos do tronco, regenerou uma fosseta branquial normal. A parte B_2 , que abrangia 6 velhos segmentos e 3 segmentos cefálicos, regenerou cabeça normal. Para induzir, em B_2 , regeneração de polaridade regular, afastei a cabeça hipomérica caudal, mas, não obtive mais regeneração alguma. Em *Dero botrytis* observei resultados concordantes.

Cabeças biaxiais surgem, segundo Hyman (1916, p. 131-132), de fragmentos, cujo metabolismo é pouco ativo. Nomeadamente fragmentos curtos, que contem só um pequeno trecho do gradiente, regeneram facilmente cabeça em ambas as extremidades. Em outra exposição (ibid., p. 128), a autora norte-americana combinou a explicação citada com a escassez do material em tais fragmentos diminutos, mas, parece-me que tal insuficiência não se harmoniza com o, aparecimento de regenerados cefálicos biaxiais. Nos casos mencionados acima, as cabeças biaxiais formaram-se em fragmentos relativamente comprimidos, certamente dotados de material suficiente, tanto para a regeneração da região dominante quanto da subordinada. Nos cortes subsequentes, evidenciaram-se possesores das reservas necessárias para tais regenerações. Relativamente à intensidade do metabolismo nos tocos em regeneração quasi não existem observações. O'Brien (1942, p. 212) é verdade, verificou que as fases iniciais da regeneração cefálica precedem de certo modo as da caudal, em *Nais paraguayensis*. Isto não precisa ser atribuído à ação do gradiente. Segundo O'Brien, os 2 processos regenerativos anterior e posterior independem um do outro (ibid., p. 210). Por isso são hipotéticos os conceitos de dominância e subordinação, quando aplicados aos cônes regeneradores. Certamente, os anteriores e os posteriores terão, ambos, grande atividade metabólica, pois as divisões celulares aí são numerosas. A única diferença entre êles reside na posição que os seus materiais de origem ocuparam antes da operação, mas, esta desigualdade topográfica, evidentemente, pode ser obscurecida por novos fatores surgidos no fragmento.

Comparada a cabeça com as estruturas pigidiaias (anus e fosseta branquial) e as pré-pigidiaias (zona de brotamento) que são meros acréscimos do tronco pouco ou não diferenciados, ela apresenta-se com as suas diferenciações dos sistemas nervoso, circulatório e alimentício, como muito mais complicada. Talvez por isso, aparece, tão poucas vezes, nas duas extremidades. Cabeças biaxiais são muito raras, como já foi indicado na primeira resenha da literatura a respeito (Heider 1909, p. 620). Neste conjunto, poder-se-ia mesmo perguntar, se as regenerações múltiplas estão bem entendidas como tipos de "regeneração cefálica inibida" (Hyman 1916, p. 135). Parecem antes ser respostas exageradas ao estímulo do corte.

As regenerações múltiplas e biaxiais poderiam indicar a existência dum campo de reconstituição (Marcus 1945a, p. 70). Na fase inicial, o campo parece determinado no sentido geral de uma estrutura apical. Mais tarde, estreita-se a determinação para organização cefálica ou pigidial. Neste período da determinação especial, fatores ainda ignorados podem, evidentemente, sobrepujar a polaridade normal do fragmento. Quero, porém, lembrar, que nem mesmo se conhece o mecanismo da determinação da polaridade, embora que esta se manifeste na grande maioria dos regenerados. O aumento da frequência dos regenerados anômalos ao longo do eixo principal evidencia uma relação entre os fatores responsáveis pelas heteromorfoses e outros, cuja variação se revela pelo gradiente da desintegração.

III. Resumo

A posição da zona de divisão nos Oligoquetos paratômicos varia dentro da mesma população. Dos resultados obtidos pelos autores anteriores e das minhas experiências e observações depreende-se ser n (o número dos segmentos precedentes à zona de divisão) influenciado por várias condições externas, assim como por certos fatores internos. Um dos fatores conhecidos, sòzinho, não pode ser responsabilizado pela localização da zona de divisão e ainda muito menos pelo aparecimento dela. Dentro de certos limites, o valor de n pode ser diminuído por condições favoráveis do meio: alimentação adequada, oxigênio e temperatura ótima. Acumulação dum grande número de vermes numa cultura, cuja água não é renovada, tem efeito oposto: aumenta o valor de n , deslocando a zona para trás. As variações de n , que ocorrem conforme a estação nos climas temperados, não se observam nos arredores de São Paulo.

As condições acima mencionadas atuam sôbre a localização da zona, ao que parece, apenas indiretamente, afetando a intensidade do brotamento. Existe correlação nítida entre o ritmo da produção de novos segmentos na zona de acréscimo, a posição da zona de divisão, e o número de divisões realizadas pelo verme no decorrer de determinado tempo. Qualquer agente que diminua a quota dos segmentos produzidos por gemação aumenta a dos que precedem ao segmento divisório, quer dizer, amplia o valor de n .

Fatores internos que agem como localizadores eventuais da zona são: a posição dos nefrídios, a idade dos segmentos, a maturação das gônadas. A última afrouxa a gemação e a divisão especialmente nas espécies com ovos muito volumosos. Os processos regenerativos interferem igualmente na divisão.

Dois autores chineses, J. Chu & S. Pai, aventaram, há pouco tempo (1944), a hipótese seguinte: o valor de n é determinado pela relação entre a capacidade de regeneração cefálica e caudal. Em certo nível do corpo do verme, estas capacidades são iguais, e aí forma-se a zona de divisão. Os autores pretendem ter provado a existência de dois gradientes diferentes da capacidade regenerativa na Naidida, *Stylaria fossularis* J. Moore. O gradiente da capacidade regenerativa anterior diminui da cabeça à cau-

da; o da posterior, em direção oposta. Onde os dois gradientes atingem valores idênticos, origina-se a zona de divisão. Várias razões tornam esta hipótese grandemente interessante. Autores anteriores, diante dos seus resultados inconcludentes, tinham responsabilizado fatores internos, ainda ignorados, pela localização da zona de divisão. Além disso, existem relações de caráter geral entre a divisão e a regeneração. O método, porém, aplicado por Chu & Pai suscita dúvidas. Por isso, tentei resolver o problema com método diferente.

Nas minhas experiências usei a Naidida *Dero botrytis* Marc. Do mesmo modo como outras Naididæ analisadas a respeito, a espécie possui o máximo da capacidade regeneradora na região média do corpo. Daí para as duas extremidades do corpo, diminui a dita potência. O declínio é quantitativo, pois abrange a capacidade da regeneração cefálica e a da regeneração caudal. Além disso, existe variação qualitativa da capacidade regenerativa ao longo do eixo ântero-posterior. A regeneração da cabeça realiza-se mais facilmente nos níveis anteriores do corpo; a da cauda, nos posteriores. Diante disso, poder-se-ia admitir a existência de dois gradientes regenerativos diferentes. A variação qualitativa evidencia-se a) pela freqüência diversa de regenerados cefálicos infra-normais ao longo do eixo principal do corpo, e b) pela ausência da regeneração cefálica ou caudal. Nos últimos casos, os fragmentos vivem durante alguns dias, mas, permanecem acéfalos ou acaudados, respectivamente.

Regenerações heteromórficas não são raras. Podem apresentar-se como cabeças bi-axiais, caudas bi-axiais, ou estruturas anteriores múltiplas. As últimas são as mais interessantes. Consistem em formações cefálica e caudal, uma crescida ao lado da outra. Ocorrem mais freqüentemente entre os segmentos 30 e 40. Nesta região origina-se também a zona de divisão, na maioria dos casos; sendo $n = 35$ o valor da espécie em questão nas populações vigorosas. Convém lembrar que a cabeça (do zoóide posterior) e a cauda (do zoóide anterior) se formam dentro do mesmo segmento, o divisório. A freqüência de regenerações heteromórficas em forma de estruturas anteriores múltiplas na região típica da zona de divisão poderia indicar condição fisiológica especial no nível entre os segmentos 30 e 40. Dos resultados por mim obtidos, este é o único que corresponde, com certa aproximação, ao de Chu & Pai. De resto, não pude provar que o valor de n esteja relacionado estritamente à potência regeneradora dum nível determinado.

Durante as minhas experiências, surgiram ainda alguns outros fatos de interesse: 1) quando o verme é cortado em pequenos fragmentos, cada um de 6-8 segmentos, renova-se o sistema inteiro pela regeneração subsequente, como se manifesta pela redução de n nas divisões imediatamente seguintes. Nestas condições, consegui obter valores tão pequenos de n , como nunca os observei na natureza ou nas minhas culturas. 2) Tais vermes recém-regenerados acusam sensibilidade especialmente acentuada às condições desfavoráveis da acumulação em água não renovada ("crowding" ou superpopulação), e isso, evidentemente, por serem constituídos quasi completamente por segmentos jovens. As ditas influências noivas atuam dum modo semelhante sobre os segmentos novos, recém-originados na zona de acréscimo. 3) Em *Dero botrytis* ocorrem gônadas, em uma ou outra

fase do seu desenvolvimento, durante o ano inteiro, como provam as populações examinadas, provenientes da cidade de São Paulo e dos arredores. Na Europa, as espécies de *Dero* atingem a maturidade sexual somente em determinada época do ano, e mesmo isso não com regularidade. Fenômeno semelhante foi observado em outras Naididæ e nas Aeolosomatidæ de São Paulo, e até em certo Turbelário (*Catenula lemnæ*). 4) As regenerações múltiplas e bi-axiais chamam a atenção sobre o "campo de reconstrução" que evidencia o caráter epigenético da determinação. Inicialmente, é determinado apenas no sentido de produzir estrutura apical. Mais tarde, objetiva-se a influência especializada que leva, na maioria dos casos, à configuração de cabeça ou de cauda, em conformidade com a polaridade inerente ao fragmento. 5) Os regenerados anômalos tornam-se mais freqüentes de diante para trás. Daí podemos deduzir uma relação entre os fatores responsáveis pelas heteromorfoses e outros que se manifestam pelo gradiente da desintegração.

IV. Summary

The position of the fission zone in paratomic Oligochaetes shows individual variations within a population. From the results of earlier authors' experiments and my own observations it appears that a number of external conditions and internal factors influence the value of n , although no single known factor can be held solely responsible for the localization, let alone the evocation of a fission zone. The value of n can, within certain limits, be lowered by favourable environmental conditions: adequate food and oxygen supply, and optimal temperature; whereas the crowding of a great number of worms in a culture, the water of which is not regularly renewed, has the opposite effect, i. e., it removes the fission zone tailwards. In temperate climates n shows seasonal variations, which were not seen here.

The conditions mentioned above seem to act on the localization of the fission zone only indirectly by affecting the rate of budding activity. There is an obvious correlation between the intensity of segment formation in the posterior growth zone, the position of the fission zone, and the number of fissions the worm undergoes in a given time. Any agent which lowers the rate of budding will also raise the value of n .

Internal factors suggested as localizers are: the position of nephridia, the age of the segments, the approach of sexual maturity. The latter slows down budding and fissioning, particularly in species with very large eggs.

Regenerative phenomena also interfere with fission. Recently two chinese authors, J. Chu & S. Pai, advanced a new hypothesis according to which the value of n is determined by the ratio between capacities for anterior and posterior regeneration at a given level of the worm's body. They claim to have proved that in the Naidid *Stylaria fossularis* there are two separate gradients in regenerative capacity: a gradient in capacity for anterior regeneration decreasing from head to tail, and a gradient in capacity for posterior regeneration declining in the opposite

direction. The fission zone arises in the segment in which both gradients attain equal values. This hypothesis is particularly interesting for a number of reasons. In the first place, owing to the inconclusive results of their experiments other authors had suggested that unknown internal factors localized the fission zone.

On the other hand it is well known that a relationship of a general nature exists between fission and regeneration. However the method employed by these authors evokes some doubt. I therefore worked along the same lines with a different method.

The worm used in my experiments was the Naidid, *Dero botrytis* which, as other Naidids analyzed in this respect, showed highest regenerative capacity in the middle region of the body, and a decline in this same capacity toward both body ends.

This variation in regenerative capacity includes both anterior and posterior regeneration: it is of a quantitative nature. There is also, however, a qualitative variation along the antero-posterior axis, since head regeneration is carried on more easily at anterior than at posterior levels; the contrary is true for posterior regeneration. In this sense one might admit the existence of two separate regenerative gradients. The qualitative variation is evidenced by the different frequency along the longitudinal axis of subnormal cephalic regenerates or by failure to regenerate either a head or a tail (in which case the fragments survive during a number of days, but remain in the first instance headless, in the second tailless).

Heteromorphic regenerations are not infrequent. They may consist either of biaxial heads, biaxial tails, or multiple anterior structures. The latter are by far the most interesting: they comprise a head and a tail formation arising side by side. They occur with a maximum frequency between segments 30 and 40. This is also the level at which a fission zone most frequently appears ($n = 35$ for the species in question), and it is remarkable that in the fission zone both a head and a tail develop within the same segment. This coincidence may indicate the existence of a peculiar physiological condition at the level mentioned. This is the only result I obtained, which is in any way comparable to that of Chu & Pai. Otherwise I have been unable to prove any strict correspondence between the value of n and the regenerative potency at a given level. The quantitative variation mentioned above, is proved not only by the difference in regeneration rate, which is very slight, but also by the fact that the minimum number of segments capable of complete regeneration is affected by the level from which the fragment is isolated. In the middle region, 2 to 3 trunk segments are capable of complete regeneration in a small percentage of cases. The minimum for the region immediately following the head is 5 to 6 segments; for the tail region, 10 to 15. Posterior fragments containing the tail with its undifferentiated growth zone regenerate with greater difficulty than fragments of the same length and level, from which the active growth zone has been removed. The head must be followed by at least 4 segments if it is to regenerate.

Some other facts of interest emerged during the course of my experiments:

1) the cutting up of a worm into small fragments (6-8 segments long) and the subsequent renewal of the whole biological system through regeneration considerably reduces the value of n in the divisions immediately following regeneration, bringing it down to values never observed in freelifving populations or in my cultures. These newly regenerated worms are also particularly sensitive to the ill effects of crowding, probably owing to the fact that they consist almost entirely of young segments. Crowding exerts a similar action on young segments newly produced by the posterior growth zone.

2) in *D. botrytis* individuals captured from different habitats possessed gonads in one or another stage of development all the year round whereas in Europe *Dero* is reported to attain sexual maturity seldom or only at a certain time of the year. The same phenomenon has been observed in other animals with similar distribution, for instance some Aeolosomatids and a Turbellarian (*Catenula lemnae*).

V. Literatura

Bourne, A. G. 1891, Notes on the Naidiform Oligochaeta, etc. Quart. Journ. micr. Sci. n. ser. v. 32, p. 335-356 t. 26-27. London. **Child, C. M. 1940**, Patterns and Problems of Development, IX + 811 p. Chicago, Illin. (University Press). **Chu, J. & Pai, S. 1944**, The relations between natural fission and regeneration in *Stylaria fossularis*, etc. Physiol. Zool. v. 17, p. 159-167. Chicago. **Chu, J. 1945**, Genealogical analysis of fission in *Stylaria fossularis*. Proceed. Zool. Soc. London v. 115, p. 194-207. London. **1946**, Further experiments on the relation between natural fission and regeneration in *Stylaria fossularis*. Proceed. Zool. Soc. London v. 116, p. 229-240. London. **Dehorne, L. 1916**, Les Naidimorphes et leur reproduction asexuée. Arch. Zool. expér. génér. v. 56, p. 25-157 t. 1-3. Paris. **Eckert, F. 1927**, Experimentelle Untersuchungen über die Lage der Teilungszone von *Stylaria lacustris*. Zeitschr. wiss. Zool. v. 129, p. 589-642. Leipzig. **Galloway, T. W. 1899**, Observations on non-sexual reproduction in *Dero vaga*. Bull. Mus. Comp. Zool. v. 35, p. 115-140 t. 1-5. Cambridge, Mass. **Goeze, J. A. E. 1773**, Herrn Karl Bonnets Abhandlungen aus der Insektologie. 64 + 414 p. 6 t. Halle. **Haffner, K. v. 1923**, Über die Regeneration der vordersten Segmente von *Lumbriculus*, etc. Zeitschr. wiss. Zool. v. 132, p. 37-72. Leipzig. **Harper, E. H. 1904**, Notes on the regulation in *Stylaria lacustris*. Biol. Bull. v. 6, p. 173-190. Lancaster, Pa. **Heider, K. 1909**, Ungeschlechtliche Fortpflanzung. E. Korschelt & K. Heider, Lehrb. vergl. Entwicklungsgesch. wirbell. Tiere, Allg. Teil, fasc. 3, 4. Abschnitt, p. 471-896 fig. 332-649. Jena (G. Fischer). **Hempelmann, F. 1923**, Kausalanalytische Untersuchungen über das Auftreten vergrößerter Borsten, etc. Arch. mikr. Anat. & Ent. Mech. v. 98, p. 379-445. Berlin. **Hesse, R. 1930**, Vorgang und Ereignis in der Biologie. Sitz. Ber. Preuss. Akad. Wiss. Phys. Math. Klasse v. 19 (1930), 13 p. Berlin. **Hyman, L. H. 1916**, An analysis of the process of regeneration in certain Microdrilous Oligochaetes. Journ. Exper. Zool. v. 11, p. 126-143. Chicago. **1940** Aspects of Regeneration in Annelids. Americ. Natural. v. 74, p. 513-527. Boston, Mass. **Hyman, L. H. & Caligher, A. E. 1921**, Direct demonstration of the existence of a metabolic gradient in Annelids. Journ. Exper. Zool. v. 34, p. 1-16. Philadelphia. **Iwanoff, P. 1923**, Die Entwicklung der Larvalsegmente bei den Anneliden. Zeitschr. Morphol. Oekol. v. 10, p. 62-161 t. 1-7. Berlin. **Janda, V. 1926**, Die Veränderung des

Geschlechtscharakters und die Neubildung des Geschlechtsapparats von *Criodrilus lacuum*, etc. Arch. Entw. Mech. v. 107, p. 423-455. Berlin. **Keilin, D. 1925**, Parasitic Autotomy of the host as a mode of liberation of coelomic parasites from the body of the earthworm. Parasitology London v. 17, p. 170-172. London. **Korschelt, E. 1933**, Regeneration. Handwörterb. Naturwiss. 2.^a ed. v. 8, p. 269-306. Jena (G. Fischer). **Krecker, F. H. 1910**, On some phenomena of regeneration in *Limnodrilus* and related forms. Zeitschr. wiss. Zool. v. 95, p. 383-450. Leipzig. **Liebmann, E. 1945**, Experimental Studies on the role of trephocytes, etc. Growth v. 9, p. 43-54. Philadelphia. **Luntz, A. 1931**, Die sexuellen Zyklen der Rädertiere. Naturwiss. Jahrgang 19 fasc. 27, p. 585-590. Berlin. **Marcus, E. 1943**, Sôbre Naididae do Brasil Bol. Fac. Fil. Ci. Letr. Univ. S. Paulo, Zoologia no. 7, p. 3-247, 33 t. São Paulo. **1944**, Sôbre Oligochaeta limnicos do Brasil. Ibid. Zoologia no. 8, p. 5-135, 17 t. São Paulo. **1945**, Sôbre Cateulida brasileiros. Ibid. Zoologia no. 10, p. 3-133, 16 t. São Paulo. **Marcus, E. du Bois-Reymond, 1944**, Notes on Fresh-Water Oligochaeta from Brazil. Comun. Zool. Mus. Hist. Nat. Montevideo v. 1 no. 20, p. 1-8 t. 1-2. Montevideo. **Meewis, H. 1938**, Étude de l'organogénèse lors de la reproduction asexuée chez le *Chaetogaster*. Ann. Soc. Roy. Zool. de Belgique v. 68 (1937), p. 147-194. Bruxelles. **Michaelsen, W. 1928**, Oligochaeta. W. Kükenthal & Th. Krumbach, Handb. Zool. v. 2, 2.^a metade, p. 1-118. Berlin & Leipzig (W. de Gruyter). **O'Brien, J. P. 1942**, Studies on the effects of X-rays on regeneration in the fragmenting Oligochaete *Nais paraguayensis*. Growth v. 6, p. 203-229. Philadelphia. **1946**, Studies on the cellular basis of regeneration in *Nais paraguayensis*, etc. Growth v. 10, p. 25-44. Philadelphia. **Pasquini, P. 1923**, La neoformazione della faringe nell processo di divisione dell *Chaetogaster limnaei*, etc. Boll. Ist. Zool. Roma v. 1 (1923), p. 1-12 t. 1-2. Livorno. **Preu, T. 1938**, Die Wirkung ultravioletter Strahlen auf ausdifferenzierte und embryonale Zellen von *Nais communis*. Zeitschr. wiss. Zool. v. 150, p. 404-450. Leipzig. **Steinmann, P. 1923**, Über Re-Individualisation. Rev. Suisse Zool. v. 35, p. 201-224. Genève. **Stephenson, J. 1930**, The Oligochaeta. XVI + 978 p. Oxford (Clarendon Press). **Stolte, H. A. 1921**, Untersuchungen über experimentell bewirkte Sexualität bei Naiden. Biol. Centralbl. v. 41, p. 535-557. Leipzig. **1922**, Untersuchungen über die ungeschlechtliche Fortpflanzung der Naiden. Zool. Jahrb. Physiol. v. 39, p. 149-194 t. 2. Jena. **1933**, Über die zelluläre Grundlage geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzung, etc. Verhandl. D. Zool. Ges. 1933, p. 104-112. Leipzig. **Turner, C. 1934**, The effects of X-rays on the posterior regeneration in *Lumbriculus inconstans*. Journ. Exper. Zool. v. 68, p. 95-119 t. 1-2. Philadelphia. **Van Cleave, C. D. 1937**, A Study of the Process of Fission in the Naid *Pristina longiseta*. Physiol. Zool. v. 10, p. 299-314. Chicago. **Wagner, F. v. 1890**, Zur Kenntniss der ungeschlechtlichen Fortpflanzung von *Microstoma*. Zool. Jahrb. Anat. v. 4, p. 349-423 t. 22-25. Jena. **1900**, Beiträge zur Kenntniss der Reparationsprozesse bei *Lumbriculus variegatus*. Ibid. v. 13, p. 603-682 t. 41-44. Jena.

VI. Estampa

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

u, nível do corte.

Fig. 1 — Regenerado de 5 segmentos com cabeça biaxial (vista lateral):

d, boca funcional da cabeça anterior. g, gânglio suprafaríngeo da cabeça anterior. e, cerdas cefálicas da cabeça anterior. f, faringe. a, grão de carmim ingerido. b, bôca da cabeça posterior. w, cerdas da cabeça posterior. y, gânglio suprafaríngeo. e, epitélio de tipo branquial. t, cromatóforo. r, pequena cavidade ciliada.

Fig. 2 — Regenerado anterior múltiplo com formação caudal (x) bem desenvolvida (vista lateral):

k, cílios sensoriais. p, prostômio. b, início da formação da bôca (talvez invaginação estomodeal). e, cerdas cefálicas em disposição irregular. z, cerdas cefálicas supra-numerárias. v, vaso ventral. q, vaso dorsal. t, cromatóforos. o, brânquias. e, epitélio de tipo branquial. i, intestino com esboço de bifurcação.

Fig. 3 — Regenerado anterior múltiplo (vista lateral):

p, prostômio. z, cerdas cefálicas em disposição irregular e em número inferior ao normal. j, cadeia nervosa ventral. x, formação caudal. t, cromatóforos. e, epitélio de tipo branquial. s, cílios.

Fig. 4 — Regenerado anterior múltiplo (vista lateral):

e, cerdas cefálicas (só 3 feixes), em vez dos 4 normais. f, faringe. r, sulco ciliado. t, cromatóforos. n, nefrídio.

Fig. 5 — Regenerado cefálico hipomérico em forma de cilindro massiço (vista lateral):

e, 2 feixes de cerdas cefálicas. z, cerdas cefálicas em posição anormal. h, vaso. v, vaso ventral. q, vaso dorsal. i, intestino.

Fig. 6 — Regenerado de um fragmento de 8 segmentos com uma segunda fosseta branquial lateral:

x, primeira fosseta branquial (normal). t, cromatóforos. s, cílios. i, intestino em degeneração. m, zona de acréscimo com 12 novos segmentos esboçados. y, segunda fosseta branquial. v, vaso ventral.

Fig. 7 — Regenerado cefálico hipermérico incompleto (vista ventral):

k, prostômio. g, gânglio suprafaríngeo. y, segundo gânglio suprafaríngeo. f, faringe defeituosa com uma parte permanentemente extrovertida. b, bôca. e, 5 feixes de cerdas cefálicas (em vez dos 4 normais). i, intestino. v, vaso ventral.

O tamanho da cabeça regenerada é maior que o da normal.

