

OSMORREGULAÇÃO EM *APLYSIA BRASILIANA*
RANG, 1828 — MOLUSCO GASTRÓPODE-OPIS-
TOBRÂNQUIO — TECTIBRÂNQUIO.

WINSTON MENEZES LEAHY *

Instituto de Biologia Marinha e Departamento
de Fisiologia Geral da Universidade de São Paulo.
Caixa Postal 11230 — São Paulo, 10000, Brasil

RESUMO

Aplysia brasiliana submetidas a diferentes variações de salinidade de 30‰ (100%) a 16‰ (57%) aumentam sensivelmente de peso. Em salinidades crescentes, i.é. de 16‰ (50%) a 30‰ (100%) retornam aproximadamente ao peso inicial. O esfôfago isolado em banho de perfusão oxigenado, apresenta contrações espontâneas, que desaparecem quando a salinidade decresce a 20‰, ou seja 6‰, e reaparecem com o retorno do fluido perfusor a 30‰ (27‰). Os sais de cálcio são essenciais à regulação osmótica deste animal.

OSMORREGULATION OF *APLYSIA BRASILIANA* RANG, 1828
(MOLLUSC — GASTROPOD — OPISTHOBRANCH — TECTIBRANCH)

ABSTRACT

Aplysia brasiliana under different salinities from 30‰ (100%) to 16‰ (50%) increase the weight. When submitted, afterwards to higher salinities from 16‰ to 30‰ they return to the initial weight. The oesophagus of *A. brasiliana* in perfusion bath bubbled with oxygen, supports decreasing of salinity down to 6‰. Under such a condition the spontaneous contraction disappear. It is recorded that ion Ca^{++} has intense influence in the osmotic regulation of this animal.

I — INTRODUÇÃO

O estudo sobre a osmorregulação em Moluscos tem despertado o interesse de vários autores, possivelmente devido ao fato de serem animais que habitam, normalmente, diferentes meios como o mar, estuários, rios, lagos e a terra.

Não obstante esse interesse, ainda são escassas as informações sobre muitos deles, principalmente as *Aplysias*.

Neste particular, afora as experiências clássicas de BOTAZZI (1908: 161) sobre as relações entre o teor iônico do meio interno e do meio externo de *Aplysia fasciata*; de BETHE (1929: 357-358; 1934: 629) e as de SCHLIEPER (1929: 478), que apresentam dados interessantes sobre diferentes aspectos da osmorregulação de organismos marinhos, entre os quais incluem a *Aplysia*,

e cujos resultados se mencionam na maioria dos tratados da matéria (KROGH, 1939: 55; NICOL, 1964: 36; PROSSER & BROWN, 1961: 10; POTTS & PARRY, 1964: 45; HYMAN, 1967: 545 e outros), quase nada se encontra sobre o comportamento desse animal.

Sawaya e Leahy (1970: 360) assinalaram a ocorrência de *Aplysia dactylomela* no litoral do Espírito Santo e fizeram várias observações sobre *Aplysia brasiliiana* nas praias costeiras de São Paulo, indicando serem estes animais habitantes peculiares das zonas entre-marés, de salinidade entre 29‰ e 30‰. Não ocorrem no oceano aberto. Tais observações levaram a procurar conhecer a causa ou as causas dessa distribuição.

Não resta dúvida que um dos fatores que podem determinar tal distribuição vem a ser a capacidade osmoreguladora. Por sugestão do Prof. Dr. PAULO SAWAYA procurei verificar a resistência e o comportamento de *Aplysia brasiliiana* a diferentes graus de salinidade.

No decorrer das experiências planejadas, estendeu-se o projeto de pesquisa a outro tema também de alta importância, o da influência da falta de sais de cálcio na água do mar, sobre o comportamento e regulação osmótica do animal.

As experiências de BETHE (1929: 357) contraditas por SCHLIEPER (1929: 478) mostraram claramente que *Aplysia punctata* possui alto poder de regulação osmótica. Para refutar a SCHLIEPER (l.c.) BETHE (1934: 629) fez uma série de outras experiências com o mesmo animal, em que verificou a perda de peso quando submetido a salinidades baixas após ligadura da boca e do ânus, tendo encontrado uma definida passagem de íons (Cl^- , SO_4^{--} , Ca^{++} e Mg^{++}) através do tegumento, e a recuperação do peso quando o animal era recolocado na água do mar. Aliás, a afirmação de que *Aplysia* é especialmente permeável aos cloretos já havia sido feita em 1904 por QUINTON.

Para verificar o comportamento de *Aplysia brasiliiana*, típica da região subtropical, julguei de interesse estudar este Molusco, procurando determinar o limite máximo a que resiste quando submetido a diferentes variações de salinidade.

No presente trabalho tratarei dos seguintes tópicos:

1. Determinação da resistência de *Aplysia brasiliiana* a baixas concentrações de salinidade;
2. Determinação da resistência de *Aplysia brasiliiana* a altas concentrações de salinidade;
3. Observações sobre os efeitos da carência de sais de cálcio na água do mar, no comportamento de *Aplysia brasiliiana*.

II — MATERIAL E MÉTODOS

Aplysia brasiliana, conhecido vulgarmente por “lebre do mar” e “tintureiro das pedras”, designações generalizadas também para as outras espécies de *Aplysia*, foi o material escolhido para o presente estudo.

VON IHERING (1940: 794 e 1968: 693) no Dicionário de animais do Brasil, já informava que em Torres, o conhecido balneário do Rio Grande do Sul, os pescadores davam tal nome a uma lesma do mar, propriamente Moluscos Opistobrânquios, cuja concha ou casca quase sempre é muito atrofiada e envolvida pelo corpo ou faltando de todo. Outras designações são encontradas na linguagem popular, embora usadas mesmo freqüentemente como “morcego do mar” e “vaca do mar”. Talvez a denominação mais empregada em todo o litoral brasileiro seja a de “lesma do mar”.

A espécie estudada foi encontrada com grande freqüência na zona entremarés e em regiões protegidas, fixas às rochas ou nadando livremente.

Segundo o plano de trabalho, estudou-se o comportamento e a resistência destes animais a diferentes graus de salinidade, para o que preliminarmente se determinou pelo método de HARVEY (1955) a salinidade da água a ser usada. Em aquários de vidro, de 5 litros de capacidade, colocaram-se em cada um três litros de água do mar a diferentes salinidades. Tomou-se a salinidade média de 30‰ da água do mar do canal de São Sebastião, da região de coleta das *Aplysias* como correspondente a 100% e, a partir daí, foram feitas diluições com água destilada, de modo a baixar as concentrações para 90%, 80%, 70%, 60%, e finalmente 50%. Registrou-se a salinidade da água de cada aquário, e paralelamente o pH, assim como a temperatura da água e a do ambiente.

Após selecionadas, sendo preferencialmente escolhidas as *Aplysias* que pesavam de 100 a 150 gr, os animais foram colocados inicialmente no aquário contendo água do mar à 100%. Decorridos trinta minutos, retirava-se o animal em experiência, enxugava-se cuidadosamente com papel de filtro, para não eliminar a púrpura. Registrava-se o peso. Repetia-se a operação a cada trinta minutos, até duas horas, tempo limite de permanência em cada aquário para que apresentasse o peso estabilizado. Após a última pesagem, o animal era depositado no aquário com água a 90%, procedendo-se da mesma maneira como descrita. Verificava-se a salinidade após a última pesagem, sendo o animal transferido para água a 80%, e assim sucessivamente até utilizar o aquário com água do mar a 50%. Feita esta primeira série de experiências, procedia-se em sentido contrário, empregando o mesmo processo até retornar à água do mar normal, ou seja, a 100%, sempre sendo repetidas as mesmas

operações, isto é, registro do peso do animal, da temperatura e da salinidade da água antes de receber o animal após as passagens.

Em outra série de experiências, utilizei água do mar artificial de salinidade correspondente à do local onde foram coletadas as *Aplysias*, empregando-se as seguintes proporções de sais para um litro de água destilada: NaCl — 21,48 g; KCl — 0,745 g; CaCl₂·2H₂O — 1,472 g; MgCl₂ — 6,652 g; Na₂SO₄ — 5,03 g; NaBr — 0,634 g; NaHCO₃ — 1,278 g. (SAWAYA & CIPOLLI, 1969: 5).

A terceira série de experiências referiu-se à utilização da água do mar de salinidade acima de 30‰. Pela evaporação lenta obteve-se uma salinidade acima de 37‰, que é a salinidade máxima encontrada para a corrente do Brasil (HARVEY, 1955: 175). As operações seguiram o mesmo processo já descrito.

Finalmente, em uma última série de experimentos, procurei verificar o comportamento de um órgão isolado do animal, submetido às mesmas variações de salinidade, com o intuito de compará-lo com o animal vivo. Foi escolhido o esôfago, já empregado em experimentos farmacológicos, por SAWAYA & CIPOLLI (loc. cit.).

Como se sabe, o esôfago é dotado de contrações espontâneas, mesmo quando colocado em banho de perfusão. Registram-se em quimógrafo essas contrações.

Para a dissecação do órgão, efetuava-se uma incisão na região anterior do animal, pela face dorsal, iniciando logo acima da inserção dos dois parapódios, prosseguindo-se até a região cefálica, entre os dois rinóforos. Feito isso e expondo-se o esôfago, passava-se um fio de linha na parte anterior e outro na posterior, amarrando-se em seguida, de modo a deixar livre a cavidade esofágica. Seccionavam-se ambas as extremidades e o órgão, assim isolado, era colocado no tubo de perfusão de 1,5 cm de diâmetro e 10 de comprimento, fechado na região anterior com rolha de borracha provida de três vias de comunicação, constituídas por tubo de vidro, dois de maior tamanho, um para a entrada de água do mar filtrada, proveniente de um frasco de Mariotti ou de uma bureta graduada e outro para esgotamento de água, e o terceiro tubo, capilar, para o arejamento e ao mesmo tempo para fixar-se o esôfago na sua porção posterior. A outra extremidade livre do órgão era fixada a uma alavanca frontal isotônica do tipo Schild, ou a uma outra isométrica.

III — PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

As 20 *Aplysia brasiliana* (RANG, 1828) foram submetidas a salinidades mais baixas e mais altas que a do local onde foram coletadas, a fim de tentar verificar em que extensão a salinidade intervém na distribuição destes animais.

a) Variações do peso em relação à salinidade.

Realizaram-se experimentos preliminares procurando determinar a resistência à salinidades decrescentes, usando primeiramente água do mar natural, quando se observou que para concentrações abaixo de 50%, ou seja, abaixo de uma salinidade de 16‰, havia um desequilíbrio na capacidade osmorreguladora, permanecendo o animal sem qualquer movimento e entumecido pela água, atingindo, em proporções mais baixas, pesos que representavam o dobro ou o triplo do inicial. Ao tentar voltar, gradativamente, à salinidade considerada a 100%, pelo processo de passagens sucessivas em cada água, verificou-se que não havia a volta proporcional ao peso inicial, ocorrendo com freqüência a morte do animal.

KROGH (1939: 39) informa que, como em outros invertebrados marinhos, há geralmente um equilíbrio osmótico com a água do mar circulante, quando a concentração varia lentamente até um certo limite compatível com a vida.

Essas observações fizeram com que se considerasse a água do mar a 50% (em média 16‰ de salinidade) como o limite inferior para os experimentos, porque até este ponto se podia conseguir com que as *Aplysias* voltassem aproximadamente ao peso inicial, quando se realizava o processo contrário, ou seja, alcançada aquela salinidade, invertia-se o sentido do processamento, até que se atingisse a salinidade inicial.

Os resultados obtidos encontram-se nas tabelas I, II, III, IV, V, e na Fig. 8, a seguir.

Paralelamente às observações de ordem técnica, quanto à modificação de peso em função da salinidade, realizaram-se anotações sobre o comportamento do animal nas diversas salinidades, para informações à cerca das relações do mesmo quando em ambiente diverso de seu "habitat" natural. Verificou-se que, quando colocada em água do mar a 90%, correspondendo aproximadamente a uma salinidade de 27‰, o comportamento não divergia do normal, com movimentos natatórios regulares e fixando-se com facilidade às paredes ou no fundo do aquário. No entanto, já havia um aumento de peso ocasionado por uma maior absorção de água, sem haver porém qualquer modificação ou influência nas atividades do animal.

Quando colocado em água do mar que apresentava a proporção de 80%, o animal inicialmente mostrava-se excitado, nadando constantemente com movimentos que iam diminuindo com o passar do tempo, de modo que, após a primeira pesagem, isto é, decorridos trinta minutos, procurava fixar-se às paredes do recipiente, movimentando ligeiramente os parapódios e a cabeça. Os resultados das pesagens demonstravam maior absorção de água e, conseqüentemente, aumento de peso, possivelmente para manter o equilíbrio osmótico com o meio externo. Esse aumento continuava nas três pesagens iniciais e tendia a estabilizar-se na final, quando então era colocado em outro aquário contendo água do mar de salinidade inferior. Nesta concentração de 70% o animal tinha um comportamento especial, tanto na escala decrescente de salinidade como no processo inverso, permanecendo quase imobilizado, fixando-se sem muita firmeza às paredes do aquário e, especialmente, mantendo os parapódios afastados, mostrando com bastante nitidez os quitenídios totalmente expostos. Este comportamento, bastante singular, foi observado na maioria das *Aplysia brasiliiana* e exatamente quando na concentração a 70%. O aumento de peso continuou, chegando mesmo a haver uma diferença marcante em relação ao peso inicial.

Nas concentrações seguintes e finais, 60% e 50%, o comportamento e reações do animal se assemelhavam, permanecendo imóveis e parcialmente fixados ao fundo do aquário, havendo então eliminação de excreta. Devido à quantidade de água absorvida tornavam-se túrgidos e de volume sensivelmente aumentado. Qualquer agitação da água do recipiente fazia com que se desprendessem do fundo ou das paredes do mesmo e ficassem à mercê dos movimentos do líquido.

O aumento de peso era bastante acentuado, comprovando serem esses animais poiquilomóticos em relação ao meio. Quando do processo inverso, aumentando-se gradativamente a concentração salina da água do mar na qual eram mantidas as *Aplysias*, as observações sobre o comportamento corresponderam às verificadas e descritas acima.

Atingida a salinidade tomada como padrão e considerada normal para a vida da *Aplysia brasiliiana*, estas voltavam aproximadamente ao peso inicial retornando os movimentos característicos o que indica ser o processo reversível até aquele limite mínimo de salinidade alcançada (50%).

TABELA I

Aplysia brasiliana nº 1. Variação do peso em diferentes salinidades de água do mar natural. Médias de quatro pesagens em gr. Tº 23º C. Diluição da água do mar com água destilada.

Al Agua do Mar natural

salinidade ‰	% de salinidade	media de pesos	diferença entre os pesos	P H
30,61	100	120,82	—	8,2
27,85	90	125,17	4,35	7,8
25,20	80	137,45	16,63	7,5
21,22	70	144,33	23,51	6,7
19,23	60	156,23	31,41	6,4
15,83	50	170,80	49,98	6,0
19,23	60	167,57	46,75	6,4
21,22	70	161,71	40,89	6,7
25,20	80	148,73	29,91	7,5
27,85	90	132,95	12,13	7,8
30,61	100	122,19	1,37	8,2

TABELA II

Aplysia brasiliana nº 2. Variação dos pesos em relação às salinidades da água do mar natural. Médias de quatro pesagens em gr. Tº 23º C. Diluição da água do mar com água destilada.

A2 Agua do Mar natural

salinidade ‰	% de salinidade	média de pesos	diferença entre os pesos	P H
30,43	100	105,03	—	8,0
27,30	90	120,92	15,89	7,5
24,36	80	126,98	21,95	7,2
21,28	70	132,44	27,41	7,0
18,24	60	137,15	32,12	6,5
15,18	50	147,92	37,89	6,2
18,24	60	138,55	33,52	6,5
21,28	70	132,55	27,52	7,0
24,36	80	127,48	22,45	7,2
27,30	90	122,87	17,84	7,5
30,43	100	118,00	12,97	8,0

TABELA III

Aplysia brasiliana nº 3. Variação do peso em diferentes salinidades de água do mar natural. Médias de quatro pesagens em gr. Tº 24ºC. Diluição da água do mar com água destilada.

A3 Agua do Mar natural

salinidade %	% de salinidade	media de pesos	diferença entre os pesos	PH
30,27%	100	119,03	—	8,1
27,20	90	122,84	3,81	7,5
24,22	80	129,68	10,65	7,0
21,19	70	137,95	18,92	6,5
18,17	60	145,32	26,29	6,2
15,21	50	152,68	33,65	6,0
18,17	60	149,55	30,52	6,2
21,19	70	141,15	22,12	6,5
24,22	80	133,65	14,62	7,0
27,20	90	126,37	7,34	7,5
30,27	100	121,07	2,04	8,1

TABELA IV

Aplysia brasiliana nº 4. Variação do peso em diferentes salinidades de água do mar natural. Médias de quatro pesagens em gr. Tº 24°C. Diluição da água do mar com água destilada.

A4 Agua do Mar natural

salinidade %	% da salinidade	média de pesos	diferença entre os pesos	P H
30,24	100	121,08	—	8,0
27,21	90	124,55	3,74	7,5
24,19	80	130,62	9,54	7,0
21,15	70	137,01	15,93	6,7
18,12	60	141,69	20,61	6,4
15,09	50	146,72	25,64	6,0
18,12	60	143,68	22,60	6,4
21,15	70	135,55	14,47	6,7
24,19	80	126,97	4,88	7,0
27,21	90	125,30	4,22	7,5
30,24	100	122,13	1,01	8,0

TABELA V

Aplysia brasiliana nº 5. Variação do peso em diferentes salinidades de água do mar natural. Média de quatro pesagens em gr. Tº 24°C. Diluição da água do mar com água destilada.

A5 Água do Mar natural

salinidade ‰	% da salinidade	média de pesos	diferença entre os pesos	P H
30,55	100	123,07	—	8,2
27,50	90	127,90	4,83	7,8
24,45	80	123,94	9,87	7,5
21,48	70	137,04	13,97	6,5
18,39	60	141,30	18,97	6,3
15,33	50	145,97	22,87	6,0
18,39	60	139,11	16,04	6,3
21,48	70	134,04	10,97	6,5
24,45	80	130,31	7,24	7,5
27,50	90	125,63	2,56	7,8
30,55	100	121,39	— 1,68	8,2

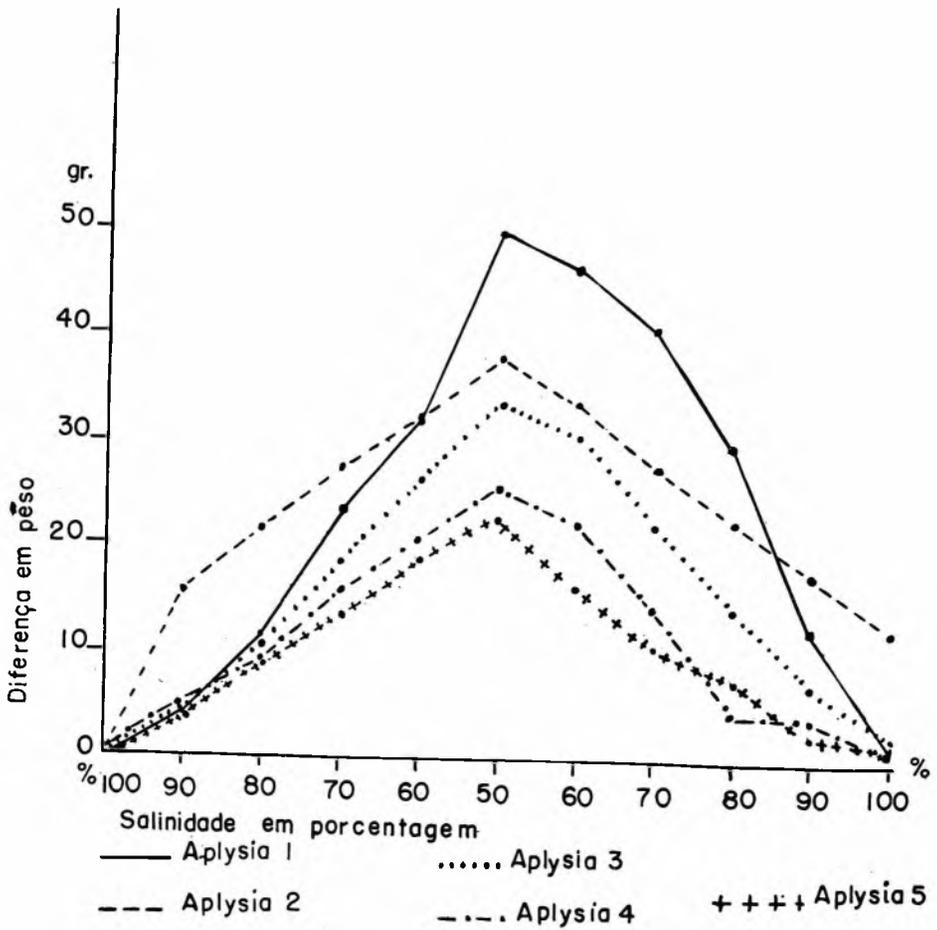


Fig. 8 — Variação do peso de *Aplysia brasiliana* em relação com a variação da salinidade.

Empregou-se também água do mar artificial, cuja concentração salina correspondia à do local onde são coletadas, realizando a mesma série de experiências descritas para a água do mar natural. As observações efetuadas mostraram que não havia diferença acentuada quanto ao comportamento, embora houvesse uma diminuição dos movimentos quando em salinidades baixas e visível aumento de peso. Foi obedecido o limite mínimo de 50% como sendo a salinidade final, na escala decrescente. Conseguiu-se assim que ao voltar o animal, gradativamente, às salinidades mais elevadas, mantivesse o equilíbrio osmótico, perdendo peso e voltando, quando na concentração a 100%, aproximadamente ao peso inicial.

As Tab. VI, VII, VIII e a Fig. 9, a seguir, mostram a média dos resultados obtidos.

A fim de completar as informações obtidas, foram realizados experimentos colocando-se os animais em água do mar cuja salinidade era maior que a do local onde vivem, para verificar a resistência dos mesmos a altas salinidades.

Assim conseguiram-se concentrações correspondentes a 35,02‰; 36,00‰; 37,60‰; 38,00‰; 39,03‰ e 40,10‰. Colocando-se a *Aplysia*, gradativamente, nessas salinidades, sempre obedecendo à técnica já descrita, verificou-se que o animal, inicialmente, apresentava natação constante, fixando-se finalmente às paredes ou ao fundo do aquário e efetuando uma reação característica de defesa, quando eliminava constantemente a púrpura, o que vem mostrar a reação do animal para altas salinidades. Com as pesagens realizadas pôde-se observar constante perda de peso a fim de manter o equilíbrio osmótico com o meio. Na salinidade de 40‰ os movimentos eram quase ausentes e o animal, permanecendo mais horas nessas condições não mais se recuperava, chegando à morte.

Procurou-se verificar ainda, em outra série de experimentos, a resistência de um órgão isolado e em perfusão do mesmo animal, em diferentes gradientes de salinidade. Escolheu-se o esôfago para este estudo.

Observou-se que à medida que decrescia a concentração dos sais da água do mar contida no tubo de vidro do banho de perfusão, também decrescia a intensidade das contrações espontâneas, até que em água do mar a 20‰, ou seja, com uma salinidade de 6,03‰ as contrações desapareciam completamente. Voltando gradativamente à salinidade do início do experi-

mento, as contrações também reapareciam, aumentando de intensidade e alcançando mais uma vez as contrações normais quando tendo água do mar a 100% como líquido perfusor.

As diluições foram feitas com água destilada e as proporções utilizadas foram as de 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30% e finalmente 20%.

A Tab. IX e a Fig. 10 representam a média dos resultados obtidos.

b) Comportamento de *Aplysia brasiliana* em função do teor de sais de cálcio da água do mar artificial.

SAWAYA & CIPOLLI (1969: 8) demonstraram que a ausência de sais de cálcio na água do mar inibe as contrações espontâneas do esôfago isolado de *Aplysia brasiliana*. Assim, a falta desses sais inibe a ação da acetil-colina sobre esse órgão.

Observações de SAWAYA e LEAHY (1970: 375) mostraram que há uma quantidade mínima de sais de cálcio necessária, na água do mar artificial, para que haja contração espontânea.

No presente trabalho, procurei verificar o efeito da ausência de sais de cálcio na água do mar artificial sobre o animal vivo, com o intuito de relacionar os dados já existentes do esôfago, com o efeito sobre o organismo inteiro.

Logo nos primeiros minutos, após a colocação da *Aplysia* nesta água, observou-se que os movimentos característicos diminuíam consideravelmente e havia um aumento de peso, provavelmente motivada pela diminuição da salinidade. Este aumento de peso persistia, enquanto o animal apresentava um aspecto bastante desfavorável, sem movimentos e sem se fixar ao fundo ou às paredes do aquário. Decorridas seis horas foi colocada novamente em água do mar completa, voltando a apresentar o comportamento característico, após algumas horas.

Isto demonstrou a correlação existente quanto à ação da ausência de sais de cálcio sobre o animal e sobre o esôfago isolado, podendo-se deduzir que esses sais são de grande importância para o bom funcionamento das atividades orgânicas desses Moluscos.

Os resultados obtidos com as diversas pesagens realizadas são mostrados na Tab. X e na Fig. 11, a seguir.

TABELA VI

L

Aplysia brasiliana nº 6. Variação dos pesos em relação às salinidades da água do mar artificial. Média de quatro pesagens em gr. Tº 24°C. Diluição da água do mar com água destilada.

AI Agua do Mar artificial

salinidade %	% de salinidade	média de pesos	diferença entre os pesos	P H
30,14	100	150,01	—	7,8
27,18	90	153,89	3,88	7,2
24,13	80	158,96	8,95	7,0
21,10	70	162,84	12,83	6,5
18,09	60	165,98	15,97	6,0
15,12	50	169,59	19,58	5,8
18,09	60	166,34	16,33	6,0
21,10	70	162,28	12,27	6,5
24,13	80	158,51	8,50	7,0
27,18	90	154,14	4,13	7,2
30,14	100	151,24	1,23	7,8

TABELA VII

Aplysia brasiliana nº 7. Variação do peso em relação às salinidades da água do mar artificial. Média de quatro pesagens em gr. Tº 23°C. Diluição da água do mar com água destilada.

A2 Água do mar artificial

salinidade %	% da salinidade	média de pesos	diferença entre os pesos	p H
30,14	100	199,53	—	7,8
27,18	90	204,02	4,49	7,2
24,13	80	208,06	8,53	7,0
21,10	70	212,80	13,27	6,5
18,09	60	217,09	17,56	6,0
15,12	50	221,44	21,91	5,8
18,09	60	218,81	19,28	6,0
21,10	70	215,61	16,08	6,5
24,13	80	210,97	11,44	7,0
27,18	90	205,60	6,07	7,2
30,14	100	202,08	2,55	7,8

TABELA VIII

Aplysia brasiliana nº 8. Variação do peso em diferentes salinidades de água do mar artificial. Média de quatro pesagens em gr. Tº 24°C. Diluição da água do mar com água destilada.

A3 Água do Mar artificial

salinidade % o	% de salinidade	media de pesos	diferença entre pesos	P H
30,14	100	109,02	—	7,8
27,18	90	112,22	3,20	7,3
24,13	80	117,00	7,98	7,0
21,10	70	121,70	12,68	6,5
18,09	60	124,87	15,85	6,2
15,12	50	129,74	20,72	6,0
18,09	60	127,39	18,30	6,2
21,10	70	123,78	14,76	6,5
24,13	80	117,60	8,58	7,0
27,18	90	113,56	4,54	7,3
30,14	100	110,52	1,50	7,8

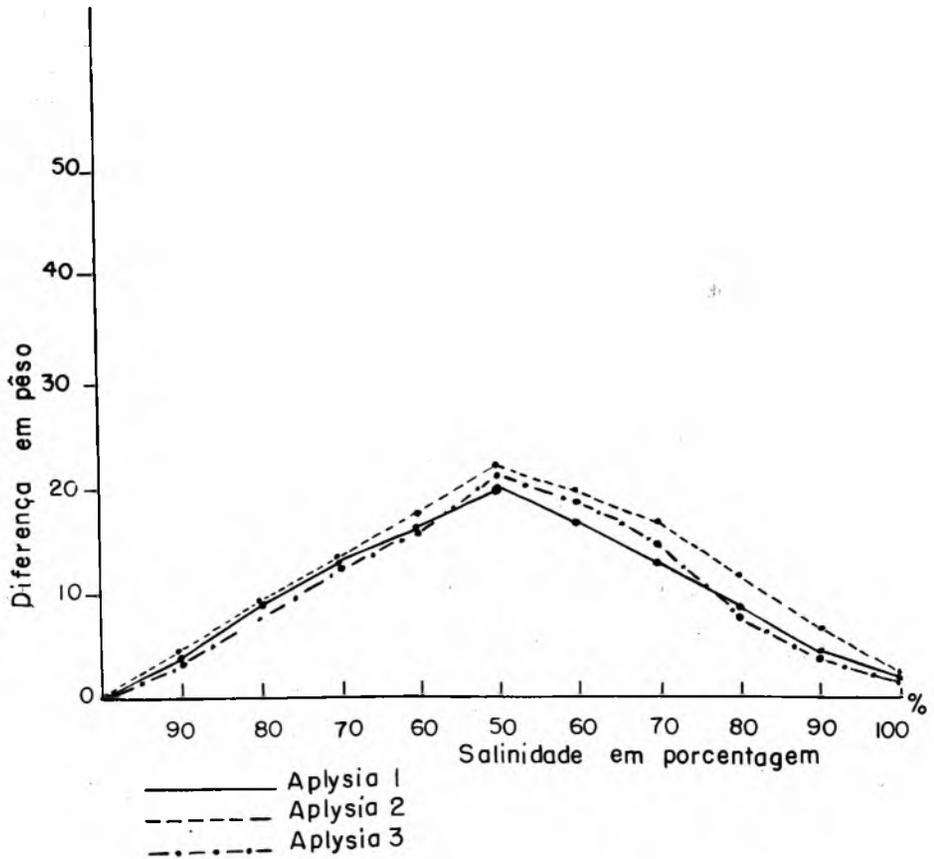


Fig. 9 — Variação do peso de *Aplysia brasiliiana* relacionada com a variação da salinidade da água do mar artificial.

TABELA
 Esôfago de APLYSIA BRASILIANA. Valores da tensão em
 gramas das contrações em relação com as dife-
 rentes concentrações de sais da solução perfusora —
 (água do mar filtrada)

concentra- ção da á- gua do mar em %	100	90	80	70	60	50	40	30	20	30	40	50	60	70	80	90	100
salinida- de respe- ctiva	30,2	27,9	24,8	21,5	18,16	15,13	12,11	9,02	6,03	9,02	12,11	15,13	18,16	21,15	24,18	27,8	30,20
valores datensão em gra- mas	3,4	3,3	3,1	2,6	2,0	1,4	1,0	0,5	0	0,4	0,8	1,5	1,9	2,7	3,0	3,4	3,5

FIG.— 10— Influencia da variaçãõ da salinidade sôbre a contraçãõ espontanea da musculatura do esôfago isolado de *Aplysia brasiliana* (molusco gastrópode)

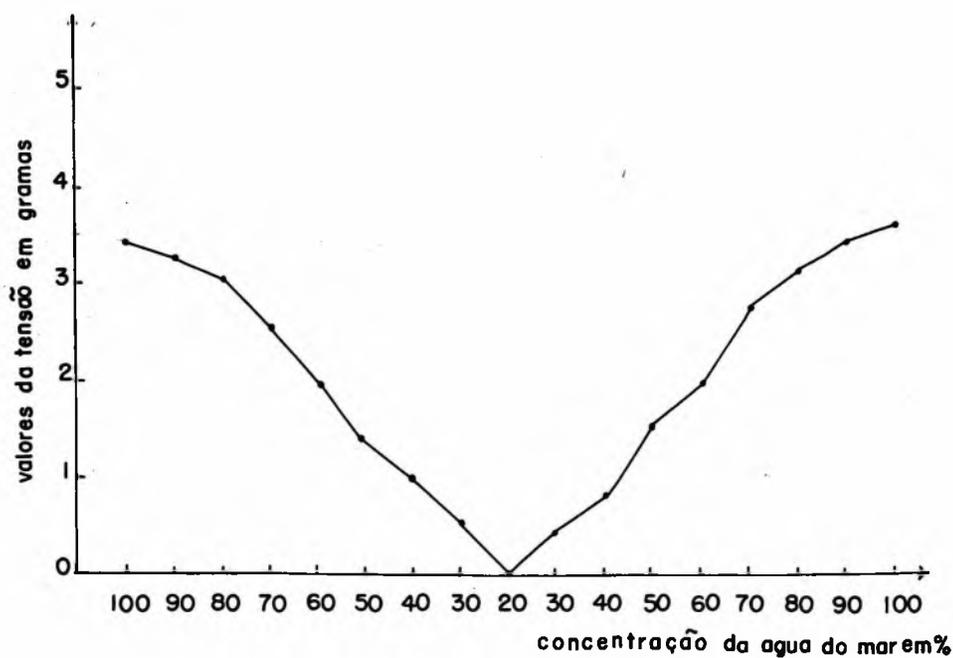


Fig. 10 — Influência da variação da salinidade sobre a contração espontânea da musculatura do esôfago isolado de *Aplysia brasiliana* (molusco gastrópode).

TABELA X

Aplysia brasiliana nº 9. Influência dos sais de cálcio sobre a osmorregulação. Tº 24º C. Peso em gr.

agua do mar artif. tº 24cº	horas	média de pêso	diferença entre os pesos	s %.	P H
ca ++	1	127,31	—	30,48	8,2
s/ca ++	2	133,47	6,16	25,36	7,5
	3	134,07	6,76	25,36	7,5
	4	135,12	7,81	25,36	7,5
	5	135,21	7,90	25,36	7,5
	6	135,21	7,90	25,36	7,5
ca ++	7	134,71	7,40	30,48	8,2
	8	133,47	6,16	30,48	8,2
	9	131,86	4,55	30,48	8,2
	10	130,10	2,79	30,48	8,2
	11	128,85	1,54	30,48	8,2

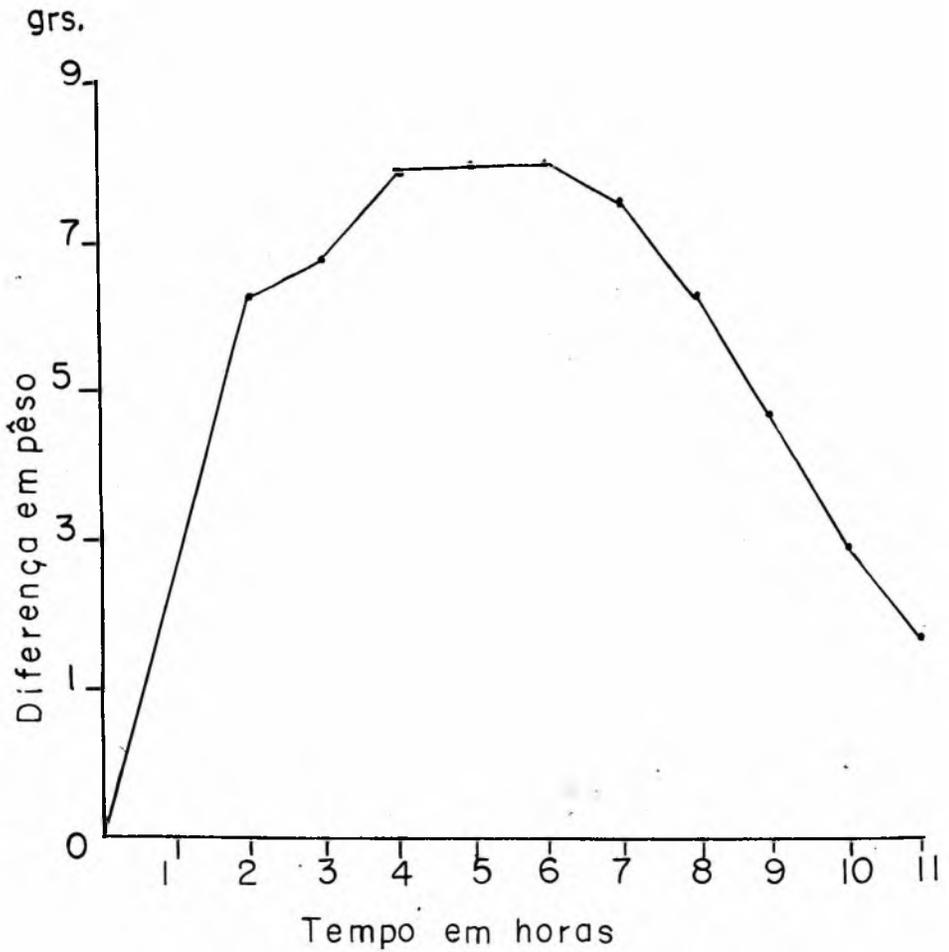


Fig. 11 — Variação do peso de *Aplysia brasiliana* relacionada com a variação do teor de sais de cálcio na água do mar artificial.

IV — DISCUSSÃO

A capacidade osmorreguladora das *Aplysias* foi investigada principalmente por BETHE (1934) e depois por van der WEEL (1957). Notaram estes autores que *A. juliana* colocada em água do mar a 80% apresentou um aumento inicial do consumo de oxigênio e do peso corpóreo, mas uma diminuição do teor iônico do sangue. Verificaram ainda, que o referido Opistobrânquio não suportou a diminuição da salinidade. Todavia, em água do mar a 95% pôde sobreviver, mostrando ser capaz de regular a concentração osmótica que voltava aos valores normais após um aumento inicial do consumo de oxigênio, com aumento de peso do corpo.

Com as experiências realizadas com *A. brasiliana*, notei que este Molusco mostra comportamento diferente. O limite de variação da salinidade que suporta é bem maior. A faculdade de recuperação é também muito acentuada pois, transferido da água do mar aqui considerada como natural (salinidade 30‰) manteve-se bem até uma salinidade de 50% ou seja de 15,18‰, retornando à salinidade de 100% sem maiores inconvenientes. Haverá aumento e recuperação do peso à medida que é submetido às várias salinidades crescentes, como foi demonstrado.

Considerando-se um órgão isolado, como o esôfago, notou-se ser mais amplo o limite de variação de salinidade suportado. As contrações espontâneas do órgão só cessaram completamente quando a salinidade do fluido atingiu 20% ou seja de 6,03‰, mas logo reapareceram quando se aumentou a salinidade.

Quanto à temperatura, julgo de interesse relembrar o que afirmam PROSSER & BROWN (1961: 238), ser um fator limitante da distribuição dos animais e, ao mesmo tempo, regulador do índice de atividade.

No caso de *A. brasiliana*, o limite de temperatura variou entre 15°C e 27°C. É possível que estes opistobrânquios no ambiente natural suportem temperaturas acima e abaixo destes limites, mas tendo em mira tão somente verificar a condição física em que os animais viveram normalmente, o problema da resistência ao frio ou ao calor excede os limites deste trabalho.

Naturalmente, havendo aclimação, os animais poderão suportar temperaturas mais ou menos elevadas.

Foi demonstrado que os sais de cálcio exercem papel importante no comportamento de *A. brasiliana*. Em água do mar privada desses sais, o Molusco fica imóvel e aumenta o peso. Mantidos longo tempo nessas condições, os animais morrem.

Deve-se notar que, submetendo as *A. brasiliiana* a concentrações salinas mais elevadas que a água do mar do local de captura, há uma sensível diminuição de peso. Dado o número muito reduzido de experiências, os resultados são apenas preliminares sobre este interessante aspecto do comportamento.

BETHE (1930: 437) já havia verificado que a redução do conteúdo de cálcio da água do mar para 1/4 ou 1/5 do normal resulta na morte de *Aplysia punctata*.

A terminologia sobre a osmorregulação foi tratada pela primeira vez com profundidade por KROGH (1939).

Desta data em diante, o assunto foi revisto várias vezes nos tratados fundamentais (W. von BUDDENBROCK, 1956; PROSSER e BROWN, 1961; POTTS e PARRY, 1964 etc.) ou em artigos especializados (BEADLE, 1957).

Em todos os trabalhos dos autores citados, as referências à regulação osmótica de *Aplysia* limitam-se a mencionar as antigas experiências de BETHE (1929) e as de SCHLIEPER (1929).

Houve, infelizmente, certa confusão na terminologia que varia com os diferentes autores, e por isso julguei oportuno dar aqui a terminologia mais freqüentemente usada.

Seguirei as indicações que me parecem bem claras, apresentadas por FLOREY (1966, p. 98), que repete e desenvolve as mencionadas por KROGH (1939: 8; 1965: 8).

Sabe-se que os animais aquáticos que podem suportar ampla variação de concentração de sais são denominados espécies *eurihalinas*. Incluem as espécies *anádromas*, as que habitualmente migram de regiões de alta salinidade (o mar) para áreas de baixa concentração salina (água doce) e *catádromas* as que passam da água doce para o mar. Estas duas categorias compõem-se quase exclusivamente de peixes, sendo mais famoso o exemplo da Enguia e do Salmão. Entre os Invertebrados, o caranguejo *Eriocheir* exemplifica a migração catádroma. O siri azul (*Callinectes*), comum nas nossas praias, é um dos exemplos de animais tropicais que também fazem essa migração.

Algumas formas eurihalinas podem quase manter pressão osmótica constante ao enfrentar alterações da pressão osmótica externa; em outros, os fluidos do corpo seguem mais ou menos a pressão osmótica do meio exterior e podem resistir a grandes alterações da concentração desses fluidos.

Como é conhecido, animais que sobrevivem somente dentro de uma estreita faixa de salinidade e que não são limitados a um ambiente de constante teor

salino denominam-se *estenohalinos*. Não podem manter um ambiente interno que seja independente da concentração osmótica do ambiente externo, e não são capazes de sobreviver a grandes modificações externas da concentração osmótica e, conseqüentemente, também, às modificações internas.

Os animais cuja concentração interna se modifica com a do ambiente externo chamam-se *poiquilosmóticos*. Os animais estenohalinos são geralmente poiquilosmóticos e esta propriedade mostrou-se letal, mesmo que a concentração de água do mar externa se modifique. Muitas formas eurihalinas são mais ou menos poiquilosmóticas, mas as células do corpo não podem resistir a alterações da concentração dos fluidos internos.

Os que mantêm uma concentração osmótica mais ou menos constante dos fluidos do corpo, a despeito de uma concentração do meio externo diferente ou modificada, são designados por *homioismóticos*. Muitas espécies eurihalinas são mais ou menos homioismóticas e isto acontece com muitas formas que sempre vivem em um meio (água doce ou água do mar) de concentração constante, isto é, hiper ou hipotônicas com os fluidos do corpo.

O termo homioismótico implica em osmorregulação ativa. Deve-se ter em mente, porém, que é diverso da dos eurihalinos, pois os animais poiquilosmóticos podem existir sem mecanismos osmorreguladores. Demarcaríamos antes uma linha de limite entre os dois termos "poiquilosmóticos" e "homioismóticos", estabelecendo-se que as células do corpo dos animais poiquilosmóticos podem ajustar-se ou adaptar-se às alterações ou concentrações osmóticas dos fluidos do corpo, enquanto que os organismos homioismóticos, a osmorregulação ocorre a nível das membranas externas do corpo.

Nenhum animal é perfeitamente homioismótico, se bem que muitos sejam homioismóticos dentro de um certo limite de concentrações salinas.

Algumas espécies regulam a concentração osmótica interna somente quando o meio externo logo se torna hipotético. À medida que este meio passa de isotônico a hipotônico, a concentração osmótica interna simplesmente segue a do meio externo. Exemplo típico é o do *Carcinus maenas* e várias espécies de Gamaridae.

Recentemente, acostumou-se a usar o termo regulação "hiposmótica" quando um animal pode manter hipotônico o fluido do corpo, e o termo "regulação hiperosmótica" para descrever a capacidade de manter hipertônicos os fluidos do organismo. Animais que podem realizar um e outro são correspondentemente chamados *reguladores hiposmóticos* e *reguladores hiperosmóticos*.

Os resultados das experiências demonstram que *Aplysia brasiliana* é estenohalina e poiquilismótica. Pode resistir, praticamente, a uma diluição de salinidade até 50%. Além deste limite o animal perde os movimentos e não se recupera, chegando a morrer. A 50% de salinidade da água do mar, que corresponde aproximadamente a uma salinidade de 15,85‰, há profundas alterações em todo o organismo da *Aplysia*, impedindo-a de se fixar ao aquário e mesmo locomover-se. Naturalmente, há uma acentuada diminuição do peso específico o que a leva a flutuar. Isto acontece em decorrência da grande quantidade de água absorvida.

Se a diluição não progride além de 50%, o animal recupera-se inteiramente, voltando portanto à normalidade.

Os resultados destas experiências sobre a influência da salinidade diferem dos obtidos por BETHE (1934) ao verificar que a *Aplysia* ao ser transferida para água do mar diluída, apresenta uma expansão inicial muito menor que a de um animal semi-permeável ideal. Por outro lado, há concordância de resultados quando tanto *Aplysia punctata* como *A. brasiliana* readquirem o volume normal em algumas horas quando recolocadas em água do mar de concentração igual a da do local de captura.

V — CONCLUSÕES

1. A temperatura é fator de grande importância para a distribuição de *Aplysia brasiliana*. São animais que vivem em águas de temperatura média entre 22 e 24°C. Qualquer modificação acima ou abaixo destes limites, ocasiona uma diminuição de sua ocorrência no respectivo local, havendo talvez migração para outras regiões onde a temperatura da água do mar lhes seja favorável.
2. *A. brasiliana* submetidas a diferentes salinidades até o nível de 50% (salinidade 15,83‰) ainda se mostram ativas, não obstante terem aumentado de 27,6% do peso pela absorção de água. Recolocados nos aquários com água do mar (30-27‰) do local onde foram capturados recuperam-se, não apresentando alterações no comportamento.
3. As *Aplysia brasiliana* resistem a salinidades mínimas que atinjam em média 15‰. Abaixo deste limite os animais não mais se recuperam. Voltando a salinidades mais altas, mantêm-se entumescidos devido ao grande acúmulo de água absorvida. Não ultrapassando aquele limite, voltam aproximadamente ao peso inicial quando recolocados em água do

mar de salinidade semelhante a dos locais onde vivem (em média 30‰).

4. Substituindo-se a água do mar do local em que foram capturadas as *Aplysia brasiliana* (salinidades de 30,27‰), por água do mar artificial, do mesmo teor salino, não há diferença de comportamento, tanto no que se refere à absorção e expulsão de água como quanto à recuperação.
5. As *Aplysia brasiliana* submetidas à salinidade de concentração maior que a da água do mar no local que habitam (30,27‰) perdem peso, eliminam constantemente a púrpura, em salinidade de 40‰ cessam de movimentar-se. A este nível de salinidade perdem a capacidade de recuperação e morrem.
6. O esôfago de *Aplysia brasiliana* em banho de perfusão, suprido com oxigênio, apresenta contrações espontâneas que se modificam com a variação de salinidade do fluido de perfusão (água do mar filtrada). As contrações do esôfago de *Aplysia brasiliana* desaparecem quando o órgão é mergulhado no banho de perfusão de salinidade de 20‰ ou seja de 6,03‰. As contrações reaparecem com o retorno do banho de perfusão à salinidade normal (30,27‰).
7. Os sais de cálcio (CaCl₂) têm muita influência sobre o comportamento da *A. brasiliana*.
8. *Aplysia brasiliana* são moluscos estenohalinos e poiquilsmóticos.

BIBLIOGRAFIA

- BEADLE, L.C. — 1957 — Comparative Physiology: osmotic and ionic regulation in aquatic animals. *Ann. Rev. Physiol.*, 19: 329-358.
- BETHE, A. — 1929 — Permeability of marine invertebrates to water and salts. *Pfl. Arch. ges. Physiol.*, 221: 344-362.
- BETHE, A. — 1930 — The permeability of the surface of marine animals. *J. Gen. Physiol.*, 13: 437-444.
- BETHE, A. — 1934 — Die Salz- und Wasserpermeabilität der Körperoberflächen verschiedener Seetiere in ihrem gegenseitigen Verhältnis. *Pfl. Arch. ges. Physiol.*, 234: 626-694.
- BOIAZZI, F. — 1908 — Osmotischer Druck und elektrische Leitfähigkeit der Flüssigkeiten der einzelligen, pflanzlichen und tierischen Organismen. *Ergeb. Physiol.* 7: 161-402.
- BUDDENBROCK, W. von — 1956 — Vergleichende Physiologie, 3: 577 pp. Birkhäuser Verlag Basel und Stuttgart.

- FLOREY, E. — 1966 — An Introduction to General and Comparative Animal Physiology. xi + 713 pp. W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- HARVEY, T. W. — 1955 — Chemistry fertility of Sea Waters. 274 pp. Cambridge University Press, Cambridge.
- HYMAN, L.H. — 1967 — The Invertebrates. VI, Mollusca 1:v + 792 pp. McGraw-Hill Book, New York.
- IERING, R. von — 1940 — Dicionário dos Animais do Brasil, 898 pp. São Paulo.
- KROGH, A. — 1939 — Osmotic Regulation in Aquatic Animals, vii. + 242 pp. Cambridge University Press, London and New York.
- NICOL, I.A. — 1964 — The biology of marine animals. xi + 707 pp. Interscience Publishers, New York.
- POTTS, W. T. W. and E. Parry — 1964 — Osmotic and Ionic Regulation in Animals. xiii + 423 pp. MacMillan Company, New York.
- PROSSER, C.L. and A.A. Brown — 1961 — Comparative animal physiology. 2nd. ed., ix + 688 pp. Saunders, Philadelphia.
- SAWAYA, P. e I. Cipolli — 1969 — Calcium and effects of Drugs on Smooth Muscle of the Oesophagus of *Aplysia brasiliana* (Mollusc Opisthobranch). Bol. Zool. Biol., n.s. 26: 5-17.
- SAWAYA, P. e W.M. LEAHY — 1970 — Sobre a Fisiocologia de *Aplysia brasiliana* (Molusco-Opistobrânquio) IV Congr. Bras. Zool. Curitiba, Seção C 7.
- SCHLIEPER, C. — 1929 — Über die Einwirkung niederer, Salzkonzentrationen auf marine organismen. Z. vergl. Physiol. 9: 478-514.
- WELL, P.B., van — 1957 — Osmoregulation and volume control in *Aplysia*. Z. vergl. Physiol., 39: 492-506.