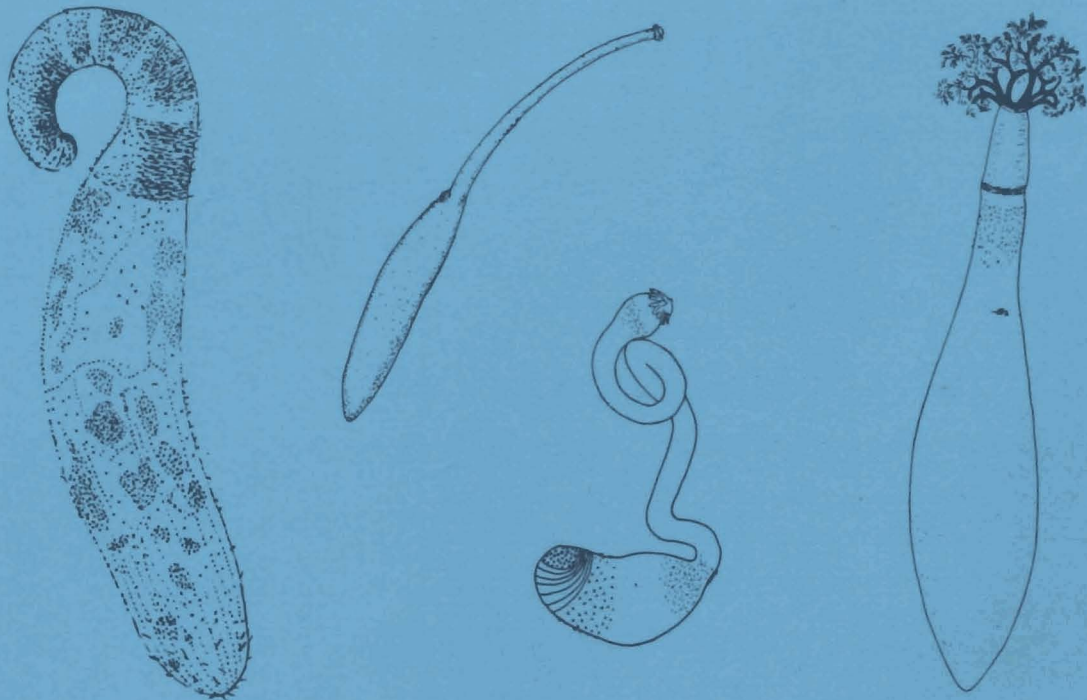


A.S.F. Ditadi
A. E. Migotto

O Filo Sipuncula

**Guia para coleta, identificação
e manutenção em laboratório**



CNPq

CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO
CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO

A. S. F. Ditadi

Departamento de Zoologia, Instituto de
Bióciências - Universidade de São Paulo

A. E. Migotto

Centro de Biologia Marinha - Universidade de
São Paulo

O Filo Sipuncula

**Guia para coleta, identificação
e manutenção em laboratório**

CNPq

CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO
CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO

Coordenação Editorial Brasília 1982

Presidente do CNPq
Lynaldo Cavalcanti de Albuquerque

Comitê Editorial

José Duarte de Araújo
Simon Schwartzman
Francisco Almeida Biato
Cícero Gontijo
Mário Guimarães Ferri
Fernando Félix Irajá de Carvalho
Ângelo Barbosa Machado
Elon Lajes Lima
Wilson Chagas de Araújo

Programa Nacional de Zoologia

Série
Manuais de Identificação da Fauna Brasileira

ERRATA

Página/Linha/Coluna	Onde se lê	Leia-se
23 18 2ª	aveolado	acorado
24 29	dentríticos	dendríticos
25 15 1ª	Stephan	Stephen
28 7 1ª	como	com
29 4 1ª	(Fig. 9 A-H)	(Fig. 9)
36 3	galapensis	galapagensis
40		A figura correta é da página 42
42		A figura correta é da página 43
43		A figura correta é da página 40

Ditadi, A. S. F.

O Filo Sipuncula; guia para coleta, identificação e manutenção em laboratório. Brasília, CNPq. CED, 1982. 44p. ilustr.

1. Filo Sipuncula. I. Migotto, A. E. II. Título

CDU 592(083.85)

Sumário

Introdução	5
Características do Filo	7
Glossário	9
Coleta	13
Preparo de Espécimes para estudos	15
Anatomia externa	17
Anatomia interna: Dissecção	19
Classificação	23
Biologia do desenvolvimento	27
Referências bibliográficas	31
Ilustrações	35

Introdução

Dentre os vários grupos de invertebrados que ocorrem no Brasil é pequeno o número daqueles relativamente bem conhecidos quanto à sistemática. Considerado por Hyman (1959) como um dos "filos menores", os Sipuncula, entretanto, não são incomuns, sendo conhecidos pelos habitantes das praias oceânicas dos pólos ao equador. Os Sipuncula constituem um filo de invertebrados bentônicos exclusivamente marinhos. São animais celomados, vermiformes, não segmentados, de hábitos sedentários e recônditos. Entretanto, a característica mais notável, e pela qual eles são facilmente identificados, é a presença de um introverte (= tromba) retrátil que é protraído e retraído rapidamente.

As notícias sobre a existência de sipúnculos são antigas, havendo referências ao grupo desde meados do século XIV. Neste século, a excelente monografia de Stephen & Edmonds (1972) faz um apanhado minucioso a respeito das 320 espécies do filo, até então descritas. Além das informações gerais sobre anatomia externa e interna, métodos e locais de coleta, anestesia, fixação e conservação, o presente trabalho contém indicações sobre a criação e manutenção de adultos, bem como um capítulo especial sobre reprodução e desenvolvimento.

A identificação de sipúnculo nem sempre é uma tarefa fácil, por várias razões. Em primeiro lugar, a maioria das espécies não tem partes duras ou estruturas esqueléticas, tais como as placas calcárias das holotúrias ou as cerdas quitinosas dos anelídeos, as quais mercê de sua forma fixa e tamanho relativamente constante podem ser usadas como caracteres específicos. Além do mais, o corpo dos sipúnculos é muito mole e muscular; por isso os animais se contorcem e se contraem violentamente quando colocados diretamente no fixador, o que

ocasiona, não raramente, ruptura e deslocamentos de órgãos internos; pode-se evitar em grande parte este problema através de uma cuidadosa anestesia. Animais muito contraídos prejudicam uma boa dissecação o que vai refletir numa provável descrição insuficiente. Assim, tornar-se-á difícil precisar o número, a natureza e o arranjo dos tentáculos e/ou se existem ou não espinhos e ganchos na probóscide.

Em se tratando de animais sedentários, os sipúnculos são alvos de um considerável número de inquilinos e/ou parasitas. Os parasitas internos de sipúnculos podem ser Sporozoa, Turbellaria Rhabdocoella, metacercária de Trematoda, Nematoda ou Copepoda. Alguns destes parasitas são exclusivos dos sipúnculos, outros também infestam outros invertebrados ou mesmo aves marinhas, porém nenhum deles utiliza o homem em qualquer estágio de seu desenvolvimento. Os inquilinos, comensais ou invertebrados com os quais os sipúnculos vivem em associação, pertencem aos grupos dos corais solitários, *Cerianthus*, Brachiopoda, Entoprocta, Bivalvia da família Montacutidae e um Polychaeta da família Syllidae.

De uma forma geral os sipúnculos não possuem cores vistosas; são muitas vezes esbranquiçados ou cor de creme, com tonalidades mais ou menos intensas de marron, devido à presença de estruturas cornificadas da parede do corpo; alguns são rosados e alguns apresentam uma cutícula iridescente tirante a alaranjado. Espécimens com mais de 15 centímetros de comprimento, cujos músculos longitudinais e circulares da parede do corpo entrecruzam-se em ângulos retos, apresentam uma superfície externa "quadriculada" (veja figura 1A), lembrando o aspecto de uma "cobra cega". Espécimens pequenos, fixados e muito contraídos, po-

dem ser confundidos, às vezes, com poliquetos ou com holotúrias ápodas.

Devido às profundas semelhanças anatômicas, principalmente internas, existentes entre os Sipuncula e Echiura, estes grupos foram estudados durante muito tempo em conjunto, sob a denomi-

nação comum de Gephyrea; este nome, entretanto, deve ser abandonado da literatura zoológica; por outro lado, esta prática gerou uma bibliografia comum aos dois filos, de tal forma que o sistemata de Sipuncula geralmente se ocupa, também, de Echiura.

Características do Filo

Um sipúnculo pode ser diferenciado de outros invertebrados pelos seguintes caracteres fundamentais do grupo:

a) Um corpo mole, denominado tronco, em forma de clava ou bastão, às vezes piriforme, com parede muscular bem desenvolvida (fig. 1 A-F).

b) Um introverte ou probóscide, também muscular, situado na região anterior do tronco; esta estrutura pode invaginar-se completamente no tronco (fig. 1 A-F).

c) Uma boca na extremidade apical do introverte (figs. 1 A-B, D-E; 4).

d) Um grupo de tentáculos (fig. 1 A-B, D-F) que geralmente rodeia a boca por completo, às vezes apenas parcialmente; o grupo de tentáculos pode, inclusive, localizar-se dorsalmente à boca (fig. 2 A).

e) Um ânus situado na região dorsal e anterior do tronco, (fig. 1 A, F), ou, raramente no introverte.

f) Ausência de cerdas, vesículas anais e segmentação.

Além destas características externas, os estudos de anatomia interna e de desenvolvimento mostraram que existe uma relação de parentesco muito grande entre os Sipuncula e os Annelida. Entretanto, os sipúnculos não podem ser classificados como anelídeos porque não apresentam segmentação, quer no estágio adulto quer durante o desenvolvimento. Visto que o estomódeo origina-se do ou no lugar do blastóporo, os sipúnculos fazem parte do grupo dos animais protostômios. Assim eles estão colocados ao longo da linha evolutiva que conduz aos Annelida, Mollusca e Arthropoda. Segundo Hyman (1959), entre outros, os sipúnculos podem ser considerados como um estágio intermediário na evolução dos celomados protostômios segmentados.

Glossário

ALÇA POST-ESOFÁGICA
(Ver *espiral intestinal extra*).

ÂNCORAS

Estruturas coriáceas em forma de ferradura, com ou sem dentes, encontradas na parede do corpo de espécies de *Phascolion* (fig. 3 J).

ÂNUS

Abertura posterior do canal alimentar, situada na superfície dorsal anterior do tronco; no gênero *Onchnesoma* e em algumas espécies de *Golfingia*, o ânus localiza-se no introverte (fig. 1 A, D-E).

BOCA

Abertura anterior do canal alimentar, situada na extremidade do introverte; pode localizar-se no centro da coroa de tentáculos ou fora dela, neste caso os tentáculos dispõem-se dorsalmente à boca (figs. 1 A-B, D-E; 2 A-C; 4).

CANAIS CELOMÁTICOS

(=*sacos celomáticos*) – canais dérmicos, espaços ou divertículos que se comunicam com a cavidade do corpo através de pequenos poros; estes espaços contêm fluido celomático. Os canais ocorrem nos gêneros *Sipunculus*, *Xenosiphon*, *Siphonosoma* e *Siphonomecus*.

CECO

Estrutura em forma de botão ou dedo de luva, presente no reto de muitas espécies de sipúnculos; situa-se, geralmente, na extremidade posterior do sulco ciliado, no fim do tubo digestivo (fig. 4).

CÉLULAS CLORAGÓGENAS

Células encontradas nas superfícies peritoneais dos sipúnculos, particularmente na superfície intestinal.

CÉREBRO

(=gânglio cerebri) – estrutura bilobada que se

assenta sobre o dorso da faringe, na extremidade anterior do introverte (fig. 5 A-B).

COLARINHO

(=*colar*) – estreita região do introverte, desprovida de ornamentação, localizada logo após a coroa de tentáculos (fig. 2 A).

CORDÃO NERVOSO

(=*corda nervosa*) – uma fita de tecido nervoso, simples, mediana e não segmentada que ocorre ao longo da superfície ventral da parede do corpo, desde o cérebro até a extremidade posterior do tronco (fig. 4).

CORPÚSCULOS DÉRMICOS

Grupos de células glandulares, muitas vezes presentes na superfície do tronco.

DISSEPIMENTOS

Uma série de bandas de tecido peritoneal, situada transversalmente na cavidade celomática de algumas espécies de *Siphonosoma*.

ESCUDO ANAL

(= escudo anterior) – uma área espessada da pele, de forma circular ou oval, situada na região anterior do tronco e em frente ao ânus. Este escudo pode ser córneo ou calcário (fig. 1 B).

ESCUDO CAUDAL

(=*escudo posterior*) – uma área espessada, sempre córnea, da extremidade posterior do tronco; quase sempre achatada e circular ou subcônica; geralmente sulcada (fig. 1 B).

ESÔFAGO

A região do tubo digestivo que se situa entre a faringe e a alça descendente do intestino (fig. 4).

ESPINHOS

Estruturas quitinóides, microscópicas e pontiagudas da parede do corpo do introverte; importantes para a sistemática (fig. 3 F).

ESPIRAL INTESTINAL ASCENDENTE

(= *espiral intestinal normal, espiral B, espiral intestinal regular, espiral Y*) – a mais longa do trato digestivo de todas as espécies de *Sipunculus* e de algumas espécies de *Xenosiphon*; inicia-se no fim da espiral intestinal extra e termina no reto (fig. 4).

ESPIRAL INTESTINAL EXTRA

(= *espiral intestinal descendente, espiral A, espiral X, alça post-esofágica*) – uma espiral extra do trato intestinal de todas as espécies de *Sipunculus* e de algumas espécies de *Xenosiphon*; inicia-se no esôfago terminal e acaba na espiral intestinal regular (fig. 4).

FARINGE

Porção anterior do canal alimentar, geralmente encoberta pelos músculos retratores da probóscide.

GANCHOS

Estruturas quitinóides, microscópicas e com ponta recurva, encontradas na parede do corpo do introverte; importantes para a sistemática (fig. 3 G-I).

GÂNGLIO CEREBRÓIDE

(Ver *cérebro*).

GLÂNDULAS RACEMOSAS

(= *órgãos tufosos*) – estruturas glandulares, geralmente um par, que se localizam a cada lado do reto de algumas espécies de *Sipunculus*; freqüentemente elas se prendem ao músculo alar que tem origem no reto (fig. 4).

GÔNADAS

Não passam de mesentérios que se desenvolvem na base dos músculos retratores da probóscide (geralmente do par ventral) e que produzem as células reprodutoras.

INTROVERTE

(= *probóscide, tromba, extrovertido*) – a parte anterior e invaginável do animal; sua extremidade anterior contém a boca e os tentáculos (figs. 1 A-F; 2 A; 4).

MANCHAS OCELARES

(= *ocelos, olhos*) – manchas pigmentares fotossensíveis, em forma de taça, geralmente em número de duas, embutidas no gânglio cerebral de muitos sipúnculos. O pigmento situa-se na base de uma depressão tubular denominada *tubo ocular*.

MÚSCULO ALAR

(= *músculo aliforme*) – delgada camada muscular que se prende ao reto e às base dorsais dos músculos retratores da probóscide; quando muito desenvolvido (como em algumas espécies de

Sipunculus) forma como que um septo incompleto (fig. 4).

MÚSCULO FUSO

(= *músculo columelar*) – músculo filiforme que tem sua origem na musculatura da parede do corpo da frente do reto; ele serve de apoio às espirais do intestino, podendo ou não fixar-se posteriormente no tronco (fig. 4).

MÚSCULOS CIRCULARES

A camada mais externa de musculatura que constitui a parede do corpo dos sipúnculos.

MÚSCULOS DIAGONAIS

(= *músculos oblíquos*) – uma fina camada de músculos orientados obliquamente, a 45°, e situada entre a musculatura circular e a longitudinal.

MÚSCULOS FIXADORES

Finas faixas musculares que ancoram diversas porções do canal alimentar à parede do corpo.

MÚSCULOS LONGITUDINAIS

A camada mais interna da musculatura constituinte da parede do corpo dos sipúnculos. Em alguns gêneros, os músculos desta camada formam faixas bem definidas e desenvolvidas as quais podem ou não apresentar anastomoses; em outros, a camada longitudinal é contínua (fig. 4).

MÚSCULOS PROTRATORES DA PROBÓSCIDE

Um par de pequenos músculos com inserção no introverte, perto do gânglio cerebral, e origem na parede do corpo da região anterior do tronco; encontrados apenas no gênero *Xenosiphon*.

MÚSCULOS RETRATORES DA PROBÓSCIDE

Músculos responsáveis pela retração do introverte, quando contraídos; em muitas espécies ocorrem em número de dois pares (um ventral e um dorsal), em algumas existe apenas o par ventral, e, em certos gêneros existe apenas um músculo retrator da probóscide (fig. 4).

MÚSCULOS PARANEURAI

Um par de finos músculos que ladeia o cordão nervoso em sua região anterior; estes músculos são especialmente visíveis nos gêneros *Sipunculus*, *Xenosiphon* e *Siphonosoma*.

NEFRÍDIOS

Um par de estruturas saciformes que funciona como saco excretor e gonoduto. A abertura para o exterior situa-se na região anterior ventral, próxima ao ânus. Nos gêneros *Onchnesoma* e *Phascolion* existe apenas um nefrídio (fig. 4).

NEFRÓPOROS

A abertura externa dos nefrídios.

NEFRÓSTOMA

A abertura interna (para o celoma) do nefrídio.

ÓRGÃO CEREBRAL

A margem anterior do gânglio cerebróide, constituída de um epitélio colunar alto; provavelmente não se trata de estrutura sensitiva.

ÓRGÃO GLANDULAR

(= *glândula do lábio*) – uma estrutura proeminente, situada na porção médio-ventral do disco oral das pelagosferas (fig. 8 C-D).

ÓRGÃO NUCAL

(= *órgão ciliado sensitivo, lobo cefálico*) – uma espécie de almofada de células epidérmicas ciliadas, situada na linha médio-dorsal do disco oral (fig. 2 A-B).

ÓRGÃO SEGMENTAR

Denominação obsoleta dos nefrídios.

ÓRGÃO TERMINAL

Uma pequena invaginação em forma de saco, da extremidade posterior do tronco das espécies de *Sipunculus* e *Xenosiphon*. Esta estrutura, com capacidade de evaginar-se, ocorre em algumas larvas de sipúnculos (fig. 8 B-C).

PAPILAS

Elevações da superfície do tronco ou do introverte, usualmente associadas com células glandulares. A forma e a estrutura das papilas de uma dada região do corpo são caracteres muito usados na identificação das espécies (fig. 3 A-E).

PAPILAS CELOMÁTICAS

Pequenas expansões da superfície interna do corpo, e em forma de folha, situadas logo a frente dos nefrídios.

PELAGOSFERA

O estágio larval dos sipúnculos, resultante da metamorfose de uma trocófora, que nada por meio de uma metatroca ciliada e proeminente, e na qual a prototroca desapareceu ou sofreu drástica redução (fig. 7-9).

PROCESSOS DIGITIFORMES

(= *processos cerebrais*) – um grupo de delicadas expansões digitiformes, às vezes em forma de folha, que se projetam da superfície dorsal do cérebro (fig. 5 A-B).

RETO

A região mais posterior do canal alimentar; é

geralmente retilínea e pode conter um, ou mais raramente numerosos cecos (fig. 4).

SACOS DE COMPENSAÇÃO

(= *vasos contráteis, vasos de Poli*) – um par de tubos (um dorsal e um ventral) ou um simples tubo (dorsal) preso à superfície do esôfago e da faringe. Comunica-se, anteriormente, com finos vasos aos tentáculos e, posteriormente, termina cego (fig. 4).

SULCO CILIADO

Um longo canal ciliado da superfície ventral do intestino; origina-se na altura da faringe ou do esôfago e prolonga-se até o reto; terminando no ceco quando este existe. Os cílios deste sulco vibram em direção ao reto.

TENTÁCULOS

Extensões da parede do corpo, localizadas na extremidade anterior do introverte; podem ser filiformes, digitiformes, dentríticos ou aparecer como uma membrana muito pregueada. As cavidades dos tentáculos são contínuas com as cavidades dos vasos contráteis (figs. 1 A-B, D-F; 2 A-C; 4).

TRONCO

A parte mais calibrosa do corpo do animal e que recebe o introverte quando este se invagina (figs. 1 A-F; 4).

TUBO OCULAR

(Ver *mancha ocelar*).

TÚBULOS CONTRÁTEIS

(= *divertículos* ou *vilosidades dos sacos de compensação, túbulos de Poli*) – ramificações dos vasos contráteis, que se projetam para o celoma; podem ser poucos ou numerosos, curtos e simples ou longos e ramificados.

TÚBULOS DE POLI

Denominação obsoleta dos túbulos contráteis.

VASOS CONTRÁTEIS

(Ver *sacos de compensação*).

VASO DORSAL

(Ver *sacos de compensação*).

VASO VENTRAL

(Ver *sacos de compensação*).

Coleta

LOCAIS E MÉTODOS – Os sipúnculos são animais que vivem em lugares bem protegidos. Podem ser coletados nos oceanos, em todas as latitudes, desde a zona entremarés até profundidades de 8.500 metros. Na faixa entremarés esses animais ocorrem do nível inferior da maré baixa, e daí para baixo, em praias tanto arenosas quanto lodosas, entre raízes de fanerógamas, entre filamentos bisais de mexilhões, sob o rizóide de algas, dentro de esponjas e em outras tantas situações protetoras que se possa imaginar. Do limite inferior da maré baixa até profundidades atingíveis com um simples mergulho, isto é, sem o auxílio de escafandro autônomo, os animais poderão ser retirados de dentro de esponjas, tubos de *Cerianthus*, conchas vazias de moluscos e foraminíferos, esqueletos de briozoários e de corais, tubos de poliquetos, bem como da base de tunicados não coloniais; ou poderão ser obtidos a partir de coletas de sedimento-cascalho, areia, lodo – por meio de dragagens, seja com pegadores de fundo de diferentes tipos, seja por meio de arrastos. No caso de arrastos com redes “trawl” ou similares, a separação é feita manualmente, com pinça e em placas de plástico. Em grandes profundidades os sipúnculos são mais comumente encontrados em zonas de acúmulo de conchas, foraminíferos e de pedras, sendo coletados por meio de dragagens e/ou de pegadores de fundo.

A coleta de sipúnculos em praias arenosas e lodosas faz-se com uma pá reta; as praias devem ser abrigadas (em forma de baía) e/ou ter um declive muito suave. Neste tipo de habitat encontraremos, usualmente, animais de grande porte (com mais de 15 cm de comprimento). Entretanto, a localização de uma galeria de sipúnculo não é fácil e depende muito de treino de observação. Uma praia com as características mencionadas, pode apresentar uma quantidade enorme de “perfurações”, que corres-

pondem às entradas e/ou saídas das galerias de animais cavadores; as galerias de sipúnculos apresentam um ou dois (às vezes mais) orifícios para a superfície da praia; o diâmetro médio destes orifícios é de 0,5 cm; diferenciam-se das galerias ou “furos” feitos por crustáceos e/ou moluscos, porque os sipúnculos não esguicham água através destes orifícios. Desta forma, ao se localizar na praia orifícios que correspondam a esta descrição geral, cava-se à procura dos animais.

A pá deve ser introduzida rapidamente na areia, a uns 15 cm de distância do furo e com a lâmina em posição quase vertical em relação à superfície da praia; imediatamente, faz-se alavanca no cabo da pá a fim de, eventualmente, descobrir o sipúnculo. Visto que não é possível detectar a direção da galeria a partir da simples observação do orifício de entrada, algumas vezes o animal é cortado durante este procedimento de coleta; outras vezes, percebe-se a galeria por onde o animal está escapando; se assim for, cava-se rapidamente seguindo esta pista e, como resultado, consegue-se geralmente coletar exemplares que não vieram na primeira “pazada”. A profundidade média de localização das galerias dos sipúnculos é de cerca de 40 centímetros.

Uma espátula bem reforçada ou uma pequena pá, ou ainda martelo e talhadeira, são aconselhados para quebrar blocos de coral morto (quanto mais antigos, mais povoados), quando se procura espécies pequenas e ornamentadas, tais como as de *Aspidosiphon*, *Golfingia*, *Phascolosoma* e *The-miste*.

Uma rede de plâncton, com malha de aproximadamente 300 micrômetros, será necessária para coletar larvas, que aparecem em grande quantidade entre dezembro e março nas águas costeiras e superficiais do litoral norte do Estado de São Paulo.

Neste tipo de coleta, arraste lentamente a rede na superfície da água, durante 10-15 minutos. Se a profundidade do local estiver entre 3 e 10 metros, a rede deverá ser puxada entre 1-3 metros da superfície. Se a coleta for feita com barco equipado com motor de popa, utilize a mais baixa velocidade do motor; neste caso, é bem provável que seja necessário colocar um peso na boca da rede a fim de que ela não sobressaia da água.

TRANSPORTE E MANUTENÇÃO – Espécies grandes são muito difíceis de manter em aquário não equipado com sistema de água do mar corrente, por períodos de mais de 20 dias. O contrário é verdadeiro para animais de pequeno porte (até 3 cm de comprimento), e o método descrito a seguir é baseado com experimentos com espécimes da gama de comprimento de 0,5 a 3,0 cm.

Para animais retirados de blocos de coral, e que devem ser transportados para locais distantes do mar, recomenda-se o seguinte tratamento:

a) deixar os animais em jejum, pelo menos 24 horas antes de acondicioná-los para viagem;

b) colocar cada grupo de dois a três animais em vidros ou frascos plásticos (não usar sacos plásticos) cuja cubagem seja igual ou 20 vezes maior do que o volume dos sipúnculos;

c) adicionar água do mar filtrada e recentemente coletada, até completar totalmente o volume remanescente dos frascos (não deixar bolhas de ar);

d) embrulhar os vidros em papel e acondicioná-los numa caixa de isopor;

e) adicionar algumas pedras de gelo, para manter a temperatura no interior da caixa a uns 5-8°C abaixo da temperatura ambiente. Este último detalhe é muito importante quando se coletam animais nos meses de verão.

Se não houver possibilidade de submeter os animais ao jejum acima prescrito, coloque então

apenas um animal em cada vidro. Com estes cuidados os animais deverão estar vivos mesmo depois de uma viagem de dois dias.

Um aquário de 15-20 litros de capacidade é suficiente para alojar uns 50 animais pequenos. O fundo do aquário deve conter uma camada de cerca de 3 cm de espessura, de uma mistura de areia grossa e pedaços de conchas de moluscos (pedaços não maiores do que 0,5 cm de diâmetro). Adicionar uma quantidade de lodo fino, não superior a 1/10 do volume da mistura de areia e conchas. Cuidar, na seleção dos animais, para que nenhum deles apresente o menor ferimento, pois um sipúnculo morto determinará a rápida contaminação do aquário e a morte dos restantes. A água do mar não precisa ser trocada, sendo as perdas por evaporação compensadas com adição de igual volume de água destilada. Com este tratamento consegue-se manter os animais por muitos meses. O aquário deve permanecer em lugar sombrio. O arejamento faz-se por intermédio de uma pequena bomba de ar, própria para aquários caseiros, podendo ser desligada à noite.

Quando se deseja manter várias espécies ao mesmo tempo, é possível construir vários pequenos aquários nos moldes desse descrito, separando as diferentes espécies em recipientes diferentes. Uma vez prontos, submergem-se os pequenos aquários (de cerca de 300 ml de capacidade, cada) no aquário maior. A espessura da camada de areia e cacos de conchas, nos pequenos aquários, pode ser igual à 1/3 ou 1/4 daquela sugerida para o aquário grande.

Quer pela sua simplicidade estrutural, permitindo o fácil isolamento de determinados músculos, quer pela sua resistência ao manuseio, quer ainda pela relativa facilidade de manutenção em laboratório, os sipúnculos são animais recomendados para experimentos de fisiologia, farmacologia e auto-ecologia.

Preparo de Espécimes para estudos

Os sipúnculos são animais bastante resistentes ao manuseio. Sua relativa simplicidade estrutural elege-os como excelentes animais para estudos de anatomia externa e interna. São melhor estudados em espécimes frescos, se bem que vermes preservados em formol ou álcool sejam também adequados a este propósito. Selecione um sipúnculo de comprimento igual ou superior a 10 centímetros; tratar-se-á, provavelmente, de um representante do gênero *Sipunculus* (fig. 1 A). Se o animal não for utilizado no mesmo dia, conserve-o em um aquário com areia e água do local de coleta, mais arejamento, ou simplesmente em água do mar e na geladeira. Certifique-se antes de que o verme não sofreu nenhuma escoriação, caso contrário o mesmo morrerá, entrando em decomposição rapidamente.

A extraordinária contratilidade destes animais torna-os impróprios para uma dissecação sem prévia e prolongada anestesia. Os espécimes grandes são muito resistentes a anestésicos de uma forma geral e portanto os resultados nem sempre são ideais. Indicamos a seguir alguns anestésicos, cujos efeitos narcotizantes sobre os sipúnculos, são positivos.

ANESTESIA

- Colocar o animal em álcool etílico 7-10% em água do mar. Em resposta a este tratamento o animal distende-se bem e a musculatura geral relaxa. Os órgãos internos, inclusive os cílios, permanecem em atividade por várias horas. Recomendado para animais grandes. Uma variação deste anestésico, indicada para espécimes pequenos, é gotejar álcool 70 a 90% pouco a pouco na água que contém o animal; ao final do processo (demorado) o

animal estará, também, fixado.

- Adicione, pouco a pouco, no recipiente que contém o animal, uma solução saturada de clorofórmio em água do mar.

- Imergir o animal na seguinte solução (Pantin, 1964):

Solução aquosa 7,5% de cloreto de magnésio ou de sulfato de magnésio 1 parte
Água do mar 1 parte

- Espalhar sobre a água que cobre o animal, cristais de mentol. Excelente para espécimes pequenos; não deixe o animal permanecer aí por muito tempo depois de anestesiado, pois o mentol tende a macerar os espécimes.

- Propilene-fenoxitol, em solução de 1-5% em água do mar; meça a quantidade de propilene que vai usar, em concordância com o volume de água do recipiente que contém o animal; agora, coloque o propilene em um pequeno frasco e adicione o equivalente a 5-10 vezes este volume de água do mar; agite o frasco fortemente até obter uma emulsão; a seguir despeje esta emulsão no recipiente a ser usado durante a anestesia, para obter a diluição desejada.

- Solução saturada de Cloretana em água do mar; excelente para larvas e animais pequenos.

- Hidrato de cloral; adicionar diretamente ao recipiente que contém o animal.

Um bom resultado pode ser conseguido pela combinação de dois (ou mais) anestésicos. Não há necessidade de manter o sipúnculo em ambiente escurecido antes e/ou durante a anestesia. Os tempos de anestesia variam de 3-5 minutos a mais de 36 horas, e dependem entre outras variáveis, do tamanho dos animais e do estado fisiológico dos mesmos; os tempos variam, também, de indivíduo para indivíduo de uma mesma espécie.

FIXAÇÃO

Depois de bem anestesiado, fixar o sipúnculo no seguinte líquido:

Água do mar, filtrada	450 ml
Água destilada (ou da torneira)	400 ml
Formol puro (comercial)	150 ml

Injetar alguns mililitros de fixador na cavidade celomática do sipúnculo (escolher uma agulha adequada ao tamanho do exemplar), mantendo uma certa pressão no êmbolo da seringa. A quantidade injetada deverá ser suficiente para produzir uma considerável turgescência no animal, incluindo a expansão dos tentáculos. Se o líquido fixador estiver aquecido (mais ou menos 60°C), a fixação será mais rápida e os resultados geralmente bem melhores. Manter a pressão no êmbolo, constante, durante uns 5 minutos. Na falta desse, qualquer lí-

quido fixador mencionado em livros de técnicas histológicas poderá ser injetado nos animais. Indivíduos pequenos demais para serem injetados devem ser anestesiados e depois colocados diretamente no fixador.

PRESERVAÇÃO

Álcool 80°GL, trocado anualmente, ou a própria água formolizada (= fixador) são recomendados como líquidos de preservação.

Na etiqueta, contendo o nome científico do material, cuja classificação até gênero pode ser conseguida com o auxílio das chaves no final deste trabalho, anote também os dados de coleta dos animais, tais como: data, local, substrato, nome do coletor e demais observações que puder fazer, como: nível de maré, temperatura da água, método de coleta, cor do exemplar, reações particulares dos animais, dimensões, estado de maturação das gônadas, presença de parasitas e/ou epizontes, etc.

Anatomia externa

Estude cuidadosamente a forma externa de seu espécimen. Anote as cores do animal vivo e suas dimensões (comprimento e diâmetro). Os menores sipúnculos medem cerca de 1 mm de comprimento, enquanto os maiores chegam até 70 centímetros; não obstante, a grande maioria das espécies mede menos do que 15 centímetros de comprimento. Observe que o corpo é divisível em duas regiões gerais: (1) Um introverte anterior (fig. 1 A-F), capaz de invaginar-se na (2) porção posterior, denominada tronco (fig. 1 A-F). O tamanho do introverte varia muito nos diferentes gêneros e espécies, podendo ser igual, menor ou 8-10 vezes maior do que o comprimento do tronco.

Os tentáculos são expansões da parede do corpo do introverte; apresentam-se sob a forma de lobos, projeções filiformes, digitiformes ou dendríticas (figs. 1 A-F; 2 A-C). Os tentáculos dispõem-se ao redor da boca em uma ou mais voltas completas, ou, em forma de crescente como em *Phascolosoma*; neste caso, a boca fica em posição ventral e fora da região tentacular.

Alguns gêneros apresentam, dorsalmente à coroa de tentáculos, o chamado órgão nugal (fig. 2 A-B); esta estrutura é uma espécie de almofada constituída de epitélio ciliado e provida de rica inervação, daí a sugestão de tratar-se de um órgão sensitivo.

À coroa de tentáculos segue-se uma pequena zona glabra, o colarinho (fig. 2 A) e depois uma zona repleta de papilas, espinhos, ganchos e âncoras (fig. 2 A). Esta zona ornamentada engloba a maior parte do introverte. O tronco também possui ornamentação, na forma de papilas, âncoras e às vezes escudos (fig. 1 B). O escudo pode situar-se na porção anterior do tronco, constituindo o escudo anal ou anterior, ou na porção final do

tronco, o escudo caudal ou posterior. O escudo anal consiste de um espessamento quitinóide ou calcário da parede do corpo, o posterior é sempre quitinóide. A presença de escudos e papilas muito cornificadas em sipúnculos, parece estar associada à vida destes animais em rochas coralinas (Rice, 1969).

Ventrolateralmente e no terço anterior do tronco, localizam-se os nefridióporos; são aberturas muito pequenas e de difícil visualização em espécimes menores do que 5 cm de comprimento.

PAREDE DO CORPO

A parede do corpo é constituída das seguintes camadas: cutícula, epiderme, derme, musculatura circular, musculatura oblíqua, musculatura longitudinal e peritônio. Da epiderme nascem estruturas cuticulares tais como papilas, espinhos, ganchos, âncoras e escudos (fig. 3 A-J).

A parte não muscular da parede do corpo dos sipúnculos é constituída de: cutícula, epiderme e derme. A cutícula secretada pela epiderme pode ser muito delgada ou apresentar forte espessamento córneo. Os espinhos, ganchos, âncoras e escudos, localizados na superfície do corpo, são produtos da atividade epidérmica; os espinhos e ganchos encontram-se em geral no introverte, raramente no tronco.

A derme, de espessura variável, é constituída de tecido conjuntivo, células pigmentadas e amebócitos, podendo ainda ser atravessada por algumas fibras musculares. Elevações da derme dão origem às papilas, que por sua vez recebem uma fina cobertura de epiderme e cutícula. As papilas podem ser, ainda, guarnecidas de plaquetas arredondadas ou poligonais, as quais corres-

pondem a espessamentos cuticulares; a forma e o arranjo das plaquetas ao redor das papilas são muito utilizadas na sistemática de sipúnculos ao nível de espécie.

Os sipúnculos são desprovidos de ciliação externa, à exceção da superfície ventral dos tentáculos e órgão nugal.

Anatomia interna: Dissecção

A dissecção deve ser feita em água do mar, quando se tratar de material recém-coletado. Ao iniciar seu estudo, tenha uma espaçosa cuba de dissecção e uma fonte iluminadora bem intensa e, se possível, uma lupa binocular com estativa móvel. Um microscópio será necessário para a observação de elementos figurados do celoma, espinhos e papilas da parede do corpo.

A CAVIDADE CELOMÁTICA E SEU FLUIDO

Deposite o animal numa cuba de dissecção e oriente-o de modo a manter a sua superfície dorsal voltada para o observador. Faça, então, uma pequena incisão longitudinal na parede do corpo do animal, na região da base do introverte ou do início do tronco. Use uma tesoura de ponta fina. Com uma pipeta de Pasteur, aspire um pouco de líquido da cavidade do corpo e examine-o ao microscópio, sob lâmina e lamínula.

Numa preparação como esta poderão ser identificados, pelo menos, seis tipos de células livres. As células mais abundantes são os corpúsculos vermelhos: tratam-se em geral, de células nucleadas, disciformes e biconvexas. A cor rosada do fluido celomático é devida ao pigmento respiratório – a hemeritrina – contido nestas células. Outros dois tipos de células, se bem que menos abundantes, são: os pequenos amebócitos, que emitem evidentes pseudópodes e possuem um citoplasma granuloso, e as células disciformes gigantes, contendo vários núcleos.

Dentre os elementos figurados do celoma de alguns sipúnculos, encontramos as estranhas urnas ciliadas; elas são compostas de uma vesícula globular transparente e cheia de fluido, acoplada a uma célula ciliada; as urnas nadam na cavidade do cor-

po com a porção vesicular dirigida para a frente. Na região ciliada acumulam-se células degeneradas e outros detritos apreendidos pelas urnas em seu vaguear pelo celoma. Existem também urnas fixas.

Durante uma boa parte do ano serão encontradas células reprodutoras na cavidade celomática, porém, é nos meses quentes que elas mais se desenvolvem. Os óvulos são esféricos, subesféricos ou piriformes. A complexidade estrutural dos óvulos, cuja membrana pode comportar até sete camadas distintas, será melhor observada ao microscópio de contraste de fase. Se seu exemplar for um macho, maduro, então o fluido celomático terá cor leitosa ou creme, devido à maciça quantidade de espermatozóides; estas células tornam-se móveis em contato com a água do mar.

Prossiga a dissecção seguindo esta linha mediana dorsal até a ponta do introverte, de um lado, e até o extremo do tronco, do outro. Observe o espaço ocupado pela cavidade celomática, bem como a ausência de septos. Se houver outro exemplar disponível calcule, pela técnica de sangramento, o volume do fluido celomático, o qual deve corresponder a 35-45% do volume do animal. Agora, rebata para os lados os bordos da parede do corpo e prenda-os com alfinetes no fundo da cuba.

O SISTEMA MUSCULAR

Os estratos musculares mais evidentes na parede do corpo de um sipúnculo são: o circular, externo, e o longitudinal, interno. Entre os dois pode-se observar, em algumas espécies de *Sipunculus* (especialmente em exemplares grandes), uma delgada trama de músculos, orientada a 45° em relação aos outros dois estratos; esta camada denomina-se musculatura oblíqua ou diagonal. A muscu-

latura longitudinal pode constituir uma camada contínua ou apresentar-se sob a forma de faixas musculares bem definidas; no último caso, o número de bandas musculares é, dentro de estreitos limites de variação, característico de uma dada espécie. Em algumas espécies de *Phascolosoma* e também de *Aspidosiphon*, por exemplo, os músculos longitudinais anastomoseiam-se muito, dificultando ou mesmo impedindo a determinação exata do número destas faixas.

O sistema muscular dos sipúnculos é constituído ainda de um, dois ou quatro músculos retratores do introverte (fig. 4), de alguns finos músculos fixadores do tubo digestivo e de um par de músculos aliformes, sob os quais se aloja um par de glândulas racemosas, de função desconhecida; os músculos aliformes prendem-se ao reto e à parede muscular; esta última é responsável, em espessura, pela maior parte do que se convencionou chamar de tubo músculo-dermático. A maioria das espécies possui, também, um fino músculo denominado fuso ou columelar, que percorre a espiral intestinal e tem sua origem na parede do corpo um pouco à frente do reto.

O SISTEMA TENTACULAR

Os sipúnculos não possuem sistema circulatório. O que existe é uma continuidade das cavidades dos tentáculos com um ou dois sacos tubulares aderentes ao esôfago. Ainda na porção anterior, na região da faringe, intercala-se um canal anelar onde desembocam estes tubos. Quando os músculos retratores da probóscide se contraem, o fluido que preenche a cavidade dos tentáculos é drenado para estes chamados “sacos de compensação”. Por outro lado, o sangue contido nestes sacos pode apresentar movimentação independente daquela decorrente da invaginação tentacular, quer pela pulsação própria destes sacos, quer pela ação de tufo cilíndricos existentes no epitélio de revestimento interno dos mesmos.

Também inexistente um sistema respiratório sob a forma de um conjunto de órgãos. As células do fluido celomático, ricas em hemeritina, encarregam-se da distribuição do oxigênio às diversas partes do corpo. Entretanto, no gênero *Xenosiphon* existem projeções da cutícula do tronco em forma de dedo de luva, que comunicam suas cavidades com a cavidade geral do corpo, sendo evidentemente perfundidas por fluido celomático; estas projeções lembram as brânquias dos anelídeos.

O TUBO DIGESTIVO

O tubo digestivo dos sipúnculos tem a forma de um “U”, característica dos animais sedentários. À boca (fig. 4) segue-se uma curta faringe muscular, alojada entre as inserções dos músculos retratores

da probóscide. O esôfago, que em grande parte prende-se também aos retratores da probóscide, é passível de dissecação, o que não ocorre com a faringe. O intestino é muito longo, comportando uma espiral simples ou dupla como no gênero *Sipunculus* (fig. 4). A partir do fim do esôfago até o reto, observa-se uma linha mais clara que percorre este segmento do trato digestivo: é o sifão ou intestino colateral.

No reto encontraremos quase sempre um pequeno ceco arredondado ou filiforme. Do esôfago em diante, o tubo digestivo prende-se às paredes internas do tronco através de inúmeros mesentérios e em alguns casos através de finos músculos suspensores.

Não há estômago, porém algumas espécies de *Golfingia* apresentam um pequeno segmento do intestino proximal diferenciado; esta área, denominada estômago, possui paredes espessadas por faixas musculares longitudinais que se salientam para a luz do órgão.

O SISTEMA NEFRIDIAL

Neste filo, o sistema excretor é constituído de um par de nefrídios do tipo metanefrídio (raramente de apenas um). São estruturas simples, em forma de saco (fig. 4), que servem também às funções de armazenamento e de expulsão dos gametas. Depois de estudar a forma e a localização de um nefrídio, remova-o para verificar a ação dos cílios do nefróstoma.

O SISTEMA REPRODUTOR

Os sipúnculos são dióicos, mas não apresentam dimorfismo sexual. As gônadas são aglomerados de células reprodutoras suspensas numa trama de tecido conjuntivo; esta malha, que tem um aspecto de cordão franjado, estende-se transversalmente na parede interna do tronco, acompanhando a linha das bases dos músculos retratores da probóscide. As células reprodutoras são liberadas para a cavidade celomática em um estágio imaturo (detalhes no capítulo sobre reprodução e desenvolvimento); no celoma elas completam a maturação ao longo de alguns meses. Quando maduras, estas células são expelidas para o mar através dos nefrídios, que agem como gonodutos.

O SISTEMA NERVOSO

O órgão coordenador central dos sipúnculos é o gânglio cerebriode supra-esofágico (fig. 5 A-B). É uma estrutura bilobada, pigmentada ou não e que pode apresentar prolongamentos denominados “processos cerebriodes” ou “digitiformes”. Do gânglio saem dois filetes nervosos, os quais, após contornarem o esôfago, unem-se ventralmente num cordão único, sem vestígios de gânglios ou de seg-

mentação (fig. 4). O cordão nervoso é facilmente isolado, visto estar apoiado à parede do corpo apenas pelos nervos laterais. Tanto o cordão nervoso quanto os nervos laterais estão frouxamente envolvidos por tecido conjuntivo. Pode-se ainda seguir

o trajeto de um certo número de nervos que se originam do anel periesofágico; estes nervos dirigem-se aos tentáculos, faringe e músculos retratores da probóscide.

Classificação

O filo Sipuncula é constituído de aproximadamente 360 espécies, distribuídas em quatro famílias e 14 gêneros: não existe agrupamento em taxa maiores, como ordens ou classes. Pelo menos 27% das espécies conhecidas foram descritas com base num único exemplar, e desde então nunca mais foram reencontradas. As seguintes chaves dicotômicas, com exceção da chave para as espécies de *Sipunculus* (original), foram simplificadas a partir daquelas apresentadas na monografia de Stephen & Edmonds (1972).

Visto que certos caracteres fundamentais para a determinação de famílias de sipúnculos são tirados de aspectos da anatomia interna destes animais, disseque-os sempre segundo um corte longitudinal mediano dorsal. Este plano de abertura é o que menos lesa as estruturas internas. Ao abrir um animal, para a inspeção da anatomia, corte com muito cuidado os mesentérios que ancoram o tubo digestivo à parede do corpo, porém, na medida do possível não os corte todos. Este cuidado visa manter o tubo digestivo em posição original para as eventuais comparações com os outros órgãos.

Os caracteres utilizados na classificação dos Sipuncula, sejam eles externos (por exemplo, forma e tamanho de ganchos e espinhos, número e forma dos tentáculos, forma e distribuição das papilas, etc) sejam eles internos (por exemplo, núme-

ro total de músculos longitudinais, forma dos processos digitados, posição dos nefrídios em relação ao ânus, etc) são passíveis de uma certa variação. Portanto, ao se trabalhar na sistemática deste grupo é recomendável usar o maior número possível de exemplares, com a finalidade de se estabelecer os limites de variação de um determinado caráter.

O número de músculos longitudinais de uma determinada espécie de sipúnculo (no caso de as faixas longitudinais se apresentarem individualizadas), bem como suas relações com outras musculaturas (os retratores da probóscide, por exemplo), ou com outros órgãos internos (os nefrídios, por exemplo), são caracteres extensivamente usados na sistemática. Para facilitar as descrições, convencionou-se designar esta musculatura longitudinal com números, a partir do cordão nervoso ventral. Assim, o músculo 1 é aquele mais aveolado ao cordão nervoso (a contagem se faz tanto para o lado direito quanto para o esquerdo), o 2 é o seguinte, e assim por diante até o número que a espécie comportar.

Finalmente, um fato que não deve ser esquecido refere-se à possibilidade de ocorrência, nada rara, em sipúnculos de teratologias, tais como: ausência de nefrídio, ausência de um músculo retrator da probóscide, presença extranumerária de músculos fixadores do intestino, etc.

CHAVES DE DETERMINAÇÃO

Chave para a determinação das famílias de Sipuncula (todas têm representantes no Brasil).

- | | |
|---|-------------------|
| 1. Com escudo anal | Aspidosiphonidae |
| — Sem escudo anal | 2 |
| 2. Tentáculos dispostos em forma de ferradura acima da boca | Phascolosomatidae |
| — Tentáculos rodeando total ou parcialmente a boca | 3 |

- | | |
|--|--------------|
| 3. Musculatura longitudinal separada em faixas bem definidas | Sipunculidae |
| – Musculatura longitudinal contínua, não separada em faixas | Golfingiidae |

Chave para a determinação dos gêneros de Aspidosiphonidae.

- | | | |
|---|-----------------------|---|
| 1. Escudos anal e caudal presentes | <i>Aspidosiphon</i> * | 2 |
| – Somente escudo anal presente | | |
| 2. Escudo anal arredondado, em forma de abacaxi, constituído de inúmeras plaquetas calcárias. | <i>Cloesiphon</i> | |
| – Escudo anal cônico, liso, constituindo peça única | <i>Lithacrosiphon</i> | |

Chave para a determinação dos gêneros de Phascolosomatidae.

- | | |
|--|-----------------------|
| 1. Musculatura longitudinal dividida em bandas | <i>Phascolosoma</i> * |
| – Musculatura longitudinal contínua, lisa | <i>Fisherana</i> |

Chave para a determinação dos gêneros de Sipunculidae.

- | | | |
|--|---------------------|---|
| 1. Introverte com papilas em forma de escamas; ausência de ganchos | | 2 |
| – Introverte sem papilas em forma de escamas; ganchos presentes ou ausentes | | 3 |
| 2. Com músculos protradores do introverte | <i>Xenosiphon</i> * | |
| – Sem músculos protradores do introverte | <i>Sipunculus</i> * | |
| 3. Parede do corpo lisa | | 4 |
| Parede do corpo dividida em pequenos retângulos | <i>Siphonomecus</i> | |
| 4. Músculo fuso não fixado posteriormente à parede do corpo; sem expansões celomáticas na pele | <i>Phascolopsis</i> | |
| – Músculo fuso fixado posteriormente à parede do corpo; com expansões celomáticas na pele | <i>Siphonosoma</i> | |

Chave para a determinação dos gêneros de Golfingiidae.

- | | | |
|---|---------------------|---|
| 1. Um único nefrídio | | 2 |
| – Dois nefrídios | | 3 |
| 2. Abertura anal no introverte | <i>Onchnesoma</i> | |
| – Abertura anal no tronco | <i>Phascolion</i> * | |
| 3. Tentáculos sempre presentes e dentríticos | <i>Themiste</i> * | |
| – Tentáculos, quando presentes, digitiformes, filiformes ou reduzidos a lóbulos | <i>Golfingia</i> * | |

Chave para a determinação das espécies de *Sipunculus* que ocorrem na costa brasileira.

- | | | |
|--|--|-----------------|
| 1. Com 26-34 músculos longitudinais; nefridióporos abrindo-se entre músculos 4-5 ou 5-6 | | 2 |
| – Com 35 ou mais músculos longitudinais; nefridióporos em outras posições | | 3 |
| 2. Com 28-34 músculos longitudinais; nefridióporos abrindo-se entre músculos 4-5; base de retratores dorsais ancoradas sobre músculos 8-13, 8-14, 8-15, 9-13, 9-14, 9-15; processos digitados maciços, em forma de esponja | | <i>nudus</i> |
| – Com 26-30 músculos longitudinais; nefridióporos abrindo-se entre músculos 4-5 ou 5-6; base dos retratores dorsais ancoradas sobre músculos 8-13, 9-11, 9-12 ou 10-12; processos digitados em forma de fios | | <i>robustus</i> |

3. Bases dos retratores (dorsais e ventrais) unidas; 35-36 músculos longitudinais; nefridióporos abrindo-se entre músculos 4-5	<i>marcusi</i>
— Bases dos retratores bem separadas umas das outras; mais do que 36 músculos longitudinais; nefridióporos em outras posições	4
4. Nefridióporos abrindo-se entre músculos 5-6; 41-42 músculos longitudinais	<i>multisulcatus</i>
— Nefridióporos em outras posições; menos do que 41 ou mais do que 42 músculos longitudinais	5
5. Nefridióporos abrindo-se entre músculos 6-7 ou 7-8; 36-40 músculos longitudinais	<i>phalloides</i>
— Nefridióporos abrindo-se entre músculos 8-9, 9-10 ou 10-11; 43-52 músculos longitudinais	<i>natans</i>

Os gêneros assinalados com asterisco já foram encontrados no Brasil. O gênero *Aspidosiphon* é subdividido, na monografia de Stephan & Edmonds (1972) em dois gêneros: *Paraspidosiphon* e *Aspidosiphon*, onde a única diferença entre eles é a presença de musculatura longitudinal dividida em faixas no primeiro e contínua no segundo. Visto já ter sido demonstrado (Ditadi, 1975) existir a situação intermediária para este “caráter distintivo”,

consideramos válido apenas o gênero *Aspidosiphon*, o qual englobaria as espécies do outro gênero. Por outro lado, o gênero monotípico *Centrosiphon* da família Aspidosiphonidae, que aparece nas chaves dicotômicas da monografia de Stephen & Edmonds (loc. cit.), foi, recentemente invalidado por Edmonds (1980) e a única espécie foi removida para o gênero *Golfingia*, família Golfingiidae.

Biologia do desenvolvimento

Os sipúnculos reproduzem-se sexuada e assexuadamente. O fenômeno da reprodução assexuada, neste filo, é de descoberta recente; Rajulu (1975) e Rajulu e Krishnam (1969) descreveram-no para *Sipunculus robustus* e Rice (1970) para *Aspidosiphon brocki*. No primeiro caso, a reprodução assexuada dá-se por brotamento e/ou divisão transversal do corpo em duas partes desiguais; no segundo, por constricção, seguida de destacamento da região distal à constricção (fig. 6 A-C).

Com exceção das espécies citadas acima, todas as espécies conhecidas reproduzem-se sexuadamente. Entre estas, somente em *Golfingia minuta* observou-se hermafroditismo (Åkesson, 1958; Gibbs, 1975). Neste caso a gônada funciona, basicamente, como um ovário, havendo entretanto a produção de espermatozóides em suas partes laterais. Segundo Gibbs (1975), o normal para esta espécie seria a autofecundação interna, ocorrendo fecundação cruzada muito raramente. Isto porque, normalmente, são encontrados no celoma destes animais, tanto espermatozóides quanto ovócitos maduros. O hermafroditismo associado a outros fatores reprodutivos, como o desenvolvimento lecitotrófico direto dentro da galeria do adulto, assegurariam uma dispersão bastante limitada da espécie, mantendo as formas jovens dentro do ambiente do adulto. Ainda segundo Gibbs, esta limitação de dispersão pode ser vantajosa para populações com habitat muito restrito em extensão, como é o caso de *G. minuta*.

Todos os outros sipúnculos conhecidos são dióicos, não havendo qualquer sinal de dimorfismo sexual. A determinação do sexo pode ser feita pelo exame, ao microscópio, de uma amostra de fluido celômico, extraída com o auxílio de uma seringa hipodérmica.

Os ovócitos jovens são normalmente liberados da gônada para o celoma sob a forma de pequenos cachos, que se desagregam algum tempo depois, quando então, cada ovócito passa a ser envolvido por uma camada de células foliculares, que acaba por se destacar até o final da ovogênese. Os pequenos ovócitos são esféricos, e, na maioria das espécies, permanecem esféricos até o final de seu desenvolvimento. Algumas espécies dos gêneros *Phascolosoma*, *Aspidosiphon* e *Golfingia*, possuem ovócitos maduros ovalados ou elipsoidais. Os ovócitos maduros são sempre envolvidos por uma membrana vitelina espessa (2-10 μm), a qual é perfurada por minúsculos poros e composta de um número variável de camadas.

Como já foi mencionado em "Sistema Reprodutor", na época da desova os gametas são coletados pelos nefróstomas e acumulados dentro dos nefrídios, de onde, após um curto período de tempo, são expulsos para o exterior através dos nefrídiosporos.

A existência de uma sincronização da liberação dos gametas, na grande maioria das espécies, assegura uma alta taxa de fecundação, e, por conseguinte de sobrevivência das espécies. Normalmente um dos sexos libera os gametas em primeiro lugar, estimulando a liberação por parte do sexo oposto.

Foram feitas estimativas dos períodos de reprodução para várias espécies de sipúnculos. A maioria das espécies das regiões temperadas possui épocas de desova restritas a alguns meses do ano, enquanto que a maioria das espécies tropicais pode, aparentemente, desovar durante todo o ano.

Quando liberados para a água do mar, os ovócitos estão na primeira metáfase meiótica (Rice, 1975 a). A penetração do espermatozóide pro-

voca a maturação do gameta feminino, com a conseqüente liberação dos dois glóbulos polares. Algum tempo após a fecundação tem início as divisões mitóticas do ovo. A clivagem é sempre espiral, desigual e total, muito semelhante à que ocorre nos moluscos e anelídeos. É interessante assinalar que, nas espécies como ovo rico em vitelo os micrômeros dos quadrantes A, B e C, no estágio de oito células, são maiores do que seus respectivos macrômeros.

Até o momento tem-se dados, segundo a literatura, sobre o padrão de desenvolvimento de 20 espécies de sipúnculos. Entre estas, três sofrem desenvolvimento direto, enquanto que as restantes possuem desenvolvimento indireto, com a formação de um ou de dois estágios larvais ciliados (fig. 7 A-D). Desta maneira, podemos reconhecer quatro padrões básicos de desenvolvimento em Sipuncula.

Desenvolvimento direto: neste caso o embrião desenvolve-se dentro da membrana do ovo, não havendo a formação de estágios ciliados livres (fig. 7 A).

Desenvolvimento indireto com um estágio larval: neste tipo de desenvolvimento o estágio larval é representado por uma trocófora lecitotrófica. Esta larva é de curta duração (3 a 8 dias) e sua metamorfose dá origem a um jovem vermiforme (fig. 7 B).

Desenvolvimento indireto com dois estágios larvais lecitotróficos: nesta forma de desenvolvimento, a primeira larva é uma trocófora e a segunda uma pelagosfera. Estes dois estágios larvais são de curta duração; a trocófora vive de dois a oito dias, enquanto que a pelagosfera vive de dois a 13 dias (fig. 7 C).

Desenvolvimento indireto com dois estágios larvais, um lecitotrófico e um planctotrófico: esta forma de desenvolvimento inclui, primeiramente uma larva trocófora lecitotrófica e depois uma pelagosfera planctotrófica. As espécies com este tipo de desenvolvimento possuem uma pelagosfera de vida pelágica bastante longa; o estágio de trocófora dura de dois a dez dias, enquanto que o de pelagosfera é sempre superior a um mês (fig. 7 D).

Existe uma íntima relação entre o conteúdo de vitelo do ovo e o padrão de desenvolvimento. As espécies das categorias A e B (fig. 7) possuem ovos grandes, com diâmetros que vão de 124 a 280 μm , ricos em vitelo. As espécies com pelagosfera lecitotrófica, categoria C (fig. 7), possuem ovos com moderado conteúdo de vitelo e com diâmetros entre 138 e 160 μm . Finalmente, as espécies pertencentes à categoria D (fig. 7) possuem ovos relativamente pequenos, com diâmetros de 70 a 140 μm , e, com pouco vitelo.

Supõe-se que o tipo de desenvolvimento mais primitivo corresponda ao das espécies que apresentam desenvolvimento indireto com duas fases larvais lecitotróficas e que possuem ovos com

moderado conteúdo de vitelo (Gerould, 1907; Åkesson, 1958; Rice, 1967).

A larva trocófora de todos os Sipuncula é lecitotrófica, estando sempre envolvida pela espessa membrana de ovo (fig. 8 A). É caracterizada por uma banda equatorial de cílios — a prototroca — que a divide em dois hemisférios, por um tufo apical de cílios e por um par de ocelos, localizado no hemisfério anterior, em posição dorso-lateral. Os rudimentos da maioria dos órgãos internos do adulto estão presentes neste estágio; o trato digestivo se forma, mas permanece não funcional.

Nas espécies com um estágio larval, a metamorfose da trocófora marca o fim da fase pelágica. Esta metamorfose dá origem a um estágio vermiforme, o qual, gradativamente se transforma na forma jovem.

Nas espécies com dois estágios larvais, ocorrem duas metamorfoses distintas. A primeira é a metamorfose da trocófora, que resulta em um outro estágio — a pelagosfera — (fig. 8 A-B). As alterações principais consistem de: alongamento da parte posterior do corpo; formação de uma nova banda ciliada a metatroca —, responsável pela locomoção do animal, e, formação ou expansão do celoma. Na maioria das espécies, durante a metamorfose, a membrana do ovo torna-se elástica e flexível, transformando-se na cutícula da nova larva.

A pelagosfera é caracterizada pela presença da metatroca e por uma regionalização do corpo em: cabeça, tórax e tronco. A cabeça e o tórax, que podem ser retraídos para dentro do tronco, transformar-se-ão no introverte do adulto. Na cabeça encontramos: dorsalmente um par de ocelos e ventralmente a boca (fig. 8 C-D). O ânus é dorsal e abre-se no terço mediano do tronco. Na extremidade posterior do corpo encontramos, muitas vezes, um órgão cuja função é fixar o animal ao substrato; este é o chamado órgão terminal. Devido à grande distensão do celoma, as pelagosferas são muito transparentes e elásticas; esta última propriedade torna-as capazes de considerável alongamento e contração.

As pelagosferas lecitotróficas possuem trato digestivo incompleto, e, na maioria dos casos a boca abre-se para o exterior mas o ânus não. Elas nadam, normalmente, perto do fundo podendo se fixar com o auxílio do órgão terminal ou através de secreções adesivas.

As pelagosferas planctotróficas possuem trato digestivo completo, com boca, estômago bulboso, intestino espiralado e ânus dorsal. Associados à boca existem dois órgãos, os quais provavelmente auxiliam no processo de tomada de alimento: o órgão bucal e a glândula do lábio. Em algumas larvas, abre-se em cada lado do ânus um par de glândulas saciformes, de função desconhecida. Existe ainda um par de nefrídios, em posição ventro-lateral. A maioria destas estruturas pode ser facil-

mente observada por transparência, no animal vivo. As características fundamentais de uma pelagosfera estão representadas na figura 8 B-D.

As pelagosferas planctotróficas (fig. 9 A-H) atingem um tamanho relativamente grande (2 a 10 mm de comprimento), são excelentes nadadoras e podem permanecer no plâncton por vários meses. Devido ao longo período larval pelágico, estas larvas podem ser transportadas com sucesso de um oceano a outro, através das correntes transoceânicas (Scheltema & Hall, 1975).

A segunda metamorfose, a da pelagosfera, é caracterizada tanto nas larvas lecitotróficas quanto nas planctotróficas, pela perda dos cílios metatrocais. Após um período pelágico ou bentopelágico de alguns dias, a larva lecitotrófica se dirige para o fundo, onde se metamorfoseia em um estágio vermiforme, assumindo gradualmente a forma jovem (Rice, 1978). A metamorfose da pelagosfera planctotrófica é bem mais rápida, não havendo a passagem pelo estágio vermiforme intermediário. É caracterizada por um crescimento da parte anterior do corpo. A boca torna-se terminal e formam-se os tentáculos, ocorrendo também a regressão de alguns órgãos larvais, tais como: as glândulas do lábio, o órgão bucal, as glândulas saciformes e o órgão terminal (fig. 8 B-C).

A metamorfose das pelagosferas planctotróficas só foi estudada em larvas oceânicas, coletadas com redes de plâncton e posteriormente criadas em laboratório. Uma das dificuldades neste tipo de estudo é a impossibilidade, na maioria dos casos, da identificação específica da larva, o que forçou os autores a elaborar uma classificação toda especial para os vários tipos de larvas. Até o momento só foram identificadas quatro pelagosferas planctotróficas; três pertencentes ao gênero *Sipunculus*

(Fischer, 1947; Murina, 1965) e uma ao gênero *Golfingia* (Rice, 1978).

Os caracteres usados para se distinguir externamente uma pelagosfera planctotrófica são os seguintes: textura da cutícula, presença e forma de papilas, pigmentação, forma do corpo e da cabeça, presença e coloração dos ocelos, disposição dos músculos da parede do corpo e forma e número dos músculos retratores da probóscide.

Larvas planctotróficas são relativamente comuns em nossa costa, podendo ser coletadas com uma pequena rede de plâncton, com malha de aproximadamente 300 μm . Logo após a coleta, o material deve ser levado à lupa e as larvas encontradas devem ser separadas com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Deve-se tomar o cuidado para não se agitar a placa onde se encontra o material a ser triado, a fim de não induzir a contração das larvas, o que dificultaria sobremaneira o trabalho de triagem.

Os animais em boas condições podem ser criados em frascos com aproximadamente 500 ml de capacidade. A água destas cubas deve ser mantida em leve circulação, a fim de impedir o contato prolongado das larvas com o fundo do recipiente.

Na criação de larvas em laboratório é indispensável a manutenção de uma cultura de algas microscópicas, para ser adicionada como fonte de alimento. Se não for possível a criação de larvas, pode-se fazer a fixação das mesmas em formol 5%, ou qualquer outro fixador, tomando-se o cuidado de anotar, previamente, o padrão de coloração do animal. Antes da fixação, ainda, as larvas devem ser anestesiadas em álcool 10% em água do mar, ou em cloretana (ver o capítulo sobre "Anestesia"), até que a cabeça e o tórax permaneçam totalmente distendidos.

Referências bibliográficas

- AKESSON, B. 1958 - A study of the nervous system of the Sipunculoidea with some remarks on the development of two species of *Phascolion strombi* (Montagu) and *Golfingia minuta* (Keferstein). (In) *Undersöknigar över Öresund*. 38. Lund, C. W. K. Gleerup, 249 pp.
- DITADI, A. S. F. 1975 - *Aspidosiphon schnebageni* (Sipuncula) inhabiting *Tornatina* shells. *The Veliger* 18 (2) : 200-202.
- EDMONDS, S. J. 1956 - Australian Sipunculoidea 2. The genera *Phascolosoma*, *Dendrostomum*, *Golfingia*, *Aspidosiphon* and *Cloeosiphon*. *Aust. J. mar. Freshwat. Res.* 6 (1) : 82-97.
- 1980 - A revision of the systematics of Australian sipunculans (Sipuncula). *Rec. S. Aust. Mus.* 18 (1) : 1-74.
- FISCHER, W. 1919 - Gephyreen der Süd-westküste Australiens. *Zool. Anz.* 50 : 277-285.
- FISHER, W. K. 1947 - New genera and species of echiuroid and sipunculoid worms. *Proc. U. S. natn. Mus.* 97 : 351-372.
- 1952 - The sipunculid worms of California and Baja California. *Proc. U. S. natn. Mus.* 102 : 371-450.
- GEROULD, J. H. 1906 - Studies on the embryology of the Sipunculidae II. The development of *Phascolosoma*. *Zool. Jb. Anat.* 23 : 77-162.
- 1913 - The sipunculids of the eastern coast of North America. *Proc. U. S. natn. Mus.* 44 : 373-437.
- GIBBS, P. E. 1975 - Gametogenesis and spawning in a hermaphroditic population of *Golfingia minuta* (Sipuncula). *J. Mar. biol. Ass. U. K.* 55 : 69-82.
- HALL, J. R. and Scheltema, R. S. 1975 - Comparative morphology of open ocean pelagospaera. (In) *Proceedings of the International Symposium on the Biology of the Sipuncula and Echiura*. I. M. E. Rice & M. Todorovic Eds. 183-197. Belgrade.
- HYMAN, L. H. 1959 - *The Invertebrates*, vol. V. 610-696. MacGraw-Hill Book Co. New York.
- MURINA, V. V. 1965 - Some data on the structure of pelagospheres - Sipunculid larvae. *Zool. Zh.* 44 (11) : 1610-1619 (em russo).
- PANTIN, C. F. A. 1964 - *Notes on Microscopical Techniques for Zoologists*. University Press, Cambridge, 76 pp.
- RAJULU, G. S. 1975 - Asexual reproduction by budding in the Sipuncula. (In) *Proceedings of the International Symposium on the Biology of the Sipuncula and Echiura*. I. M. E. Rice & M. Todorovic Eds. 177-182. Belgrade.
- RAJULU, G. S. AND KRISHNAM, N. 1969 - Occurrence of asexual reproduction by budding in Sipunculida. *Nature* 223 : 186-187.
- RICE, M. E. 1967 - A comparative study of the development of *Phascolosoma agassizii*, *Golfingia pugettensis*, and *Themiste pyroides* with a discussion of developmental patterns in the Sipuncula. *Ophelia* 4 : 143-171.
- 1970 - Asexual reproduction in a sipunculan worm. *Science* 167 : 1618-1620.
- 1975 a - Sipuncula. (In) *Reproduction of marine invertebrates*. A. C. Giese & J. S. Pearse Eds. II. 67-127. Academic Press Inc. New York.
- 1975 b - Observations on the development of six species of Caribbean Sipuncula with a review of develop-

- ment in the phylum. (In) *Proceedings of the International Symposium on the Biology of the Sipuncula and Echiura*. I. M. E. Rice & M. Todorovic Eds. 141-160. Belgrade.
- 1978 - Morphological and behavioral changes at metamorphosis in the Sipuncula. (In) *Settlement and Metamorphosis of Marine Invertebrate Larvae*. F. S. Chia & M. E. Rice Eds. 83-102. Elsevier North-Holland Biomedical Press.
- SATO, H. 1934 - Report on the Sipunculoidea, Echiuroidea and Priapuloidea collected by the Sôyô-Marû Expedition of 1922-1930. *Sci. Rep. Tohoku Univ. ser. 4*, 9:1-32.
- 1937 - Echiuroidea, Sipunculoidea and Priapuloidea obtained in North-West-Honshu. *Res. Bull. Saito-Ho-on Kai Mus. (Zool)*. 12:137-176.
- SCHELTEMA, R. S. - and Hall, J. R. 1975. The dispersal of pelagosphaera larvae by ocean currents and its relationship to geographical distribution of sipunculans. (In) *Proceedings of the International Symposium on the Biology of the Sipuncula and Echiura*. I. M. E. Rice & M. Todorovic Eds. 103-116. Belgrade.
- SELENKA, E., DE MAN, J. G. AND BÜLOW, C. 1883 - *Die Sipunculiden*, Reicon im Archipel Phillipinen von Dr. C. Semper. Leipzig und Wiesbaden. 133 pp.
- STEPHEN, A. C. AND EDMONDS, S. J. 1972 - *The Phyla Sipuncula and Echiura*. British Mus. Nat. Hist. Ed. London. 528 pp.
- THÉEL, H. 1905 - Northern and Arctic invertebrates in the collection of the Swedish State Museum. Sipunculids. *K. Svenska Vetenska. Akad. Handl.* 39:1-130.
- WESENBERG-LUND, Ed. 1959 a - Sipunculoidea and Echiuroidea from tropical West Africa. *Atlantide Report* 5:177-210.
- 1959 b - Sipunculoidea and Echiuroidea from Mauritius. *Vidensk. Medd. fra Dansk naturh. Foren.* 121:53-73.
- 1963 - South African Sipunculids and Echiuroids from coastal waters. *Vidensk. Medd. fra Dansk naturh. Foren.* 125:101-146.

Ilustrações

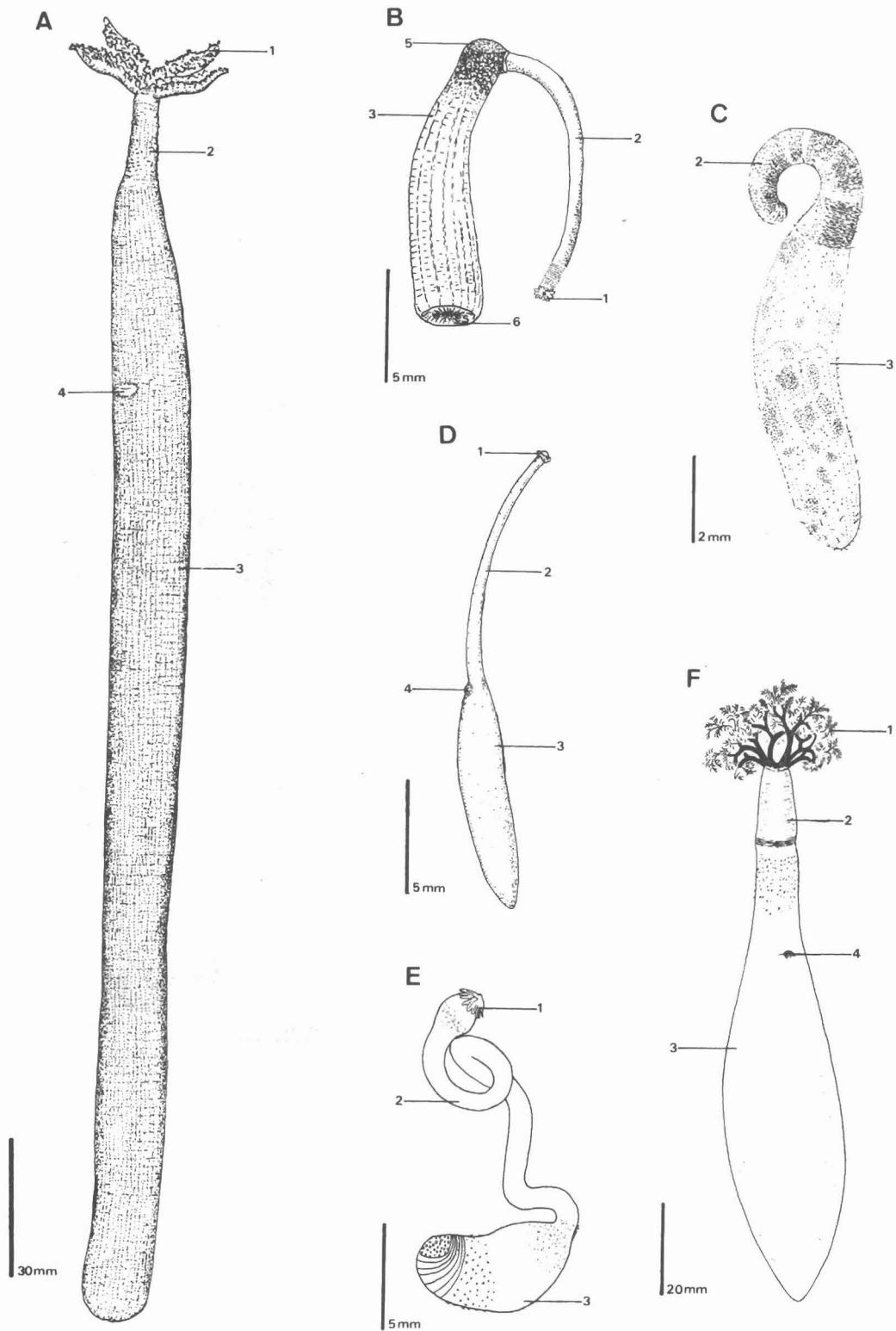


Figura 1

Tipos de sipúnculos. A. *Sipunculus phalloides* (original). B. *Aspidosiphon steenstrupi*. C. *Phascolosoma granulatum*. D. *Golfingia minuta*. E. *Phascolion strombi*. F. *Themiste pyroides*. (B, segundo Selenka, de Man & Bülow 1883; C, segundo Stephen & Edmonds 1972; D, segundo Hyman 1959; E, segundo Gerould 1913; F, segundo Fisher 1952). 1 = tentáculos; 2 = introverte; 3 = tronco; 4 = ânus; 5 = escudo anterior; 6 = escudo posterior.

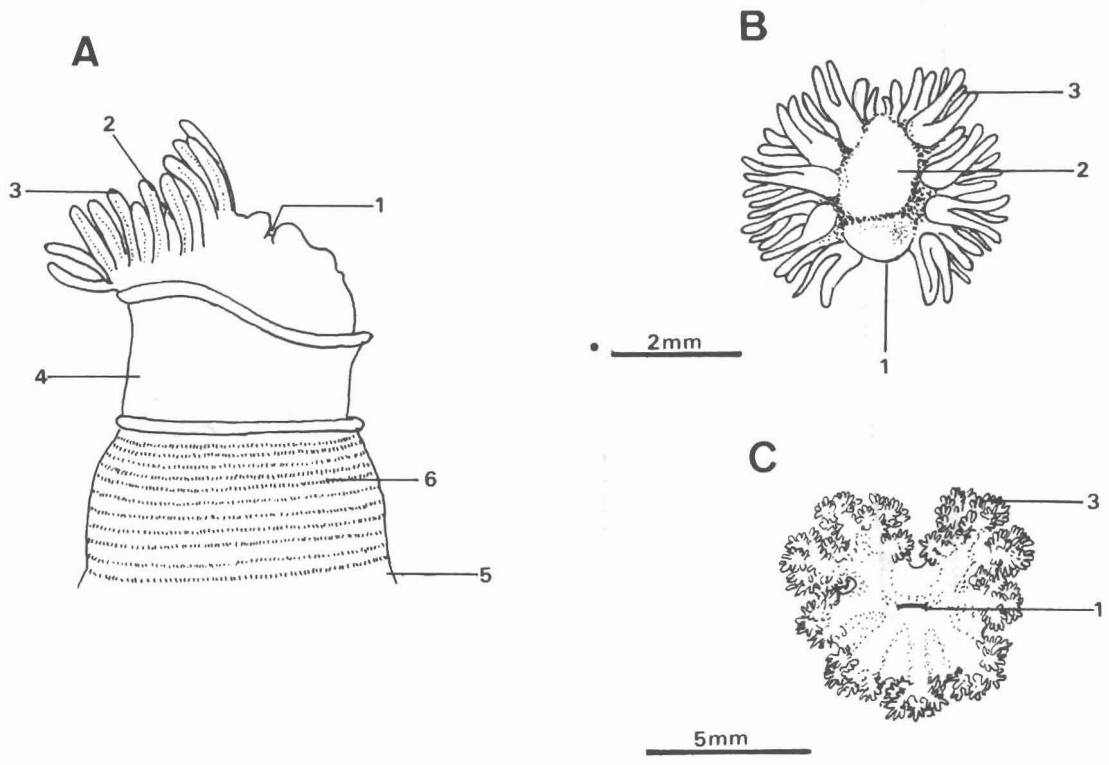


Figura 2
 Tentáculos de sipúnculos. A. Vista lateral esquemática da região anterior de um *Phascolosoma*. B. Coroa tentacular de *Golfingia soya*. C. Coroa tentacular de *Sipunculus galapensis*. (A, segundo Théel 1905; B, segundo Sato 1934; C, segundo Fisher 1952). 1 = boca; 2 = órgão nucal; 3 = tentáculos; 4 = colarinho; 5 = introverte; 6 = fileira de ganchos.

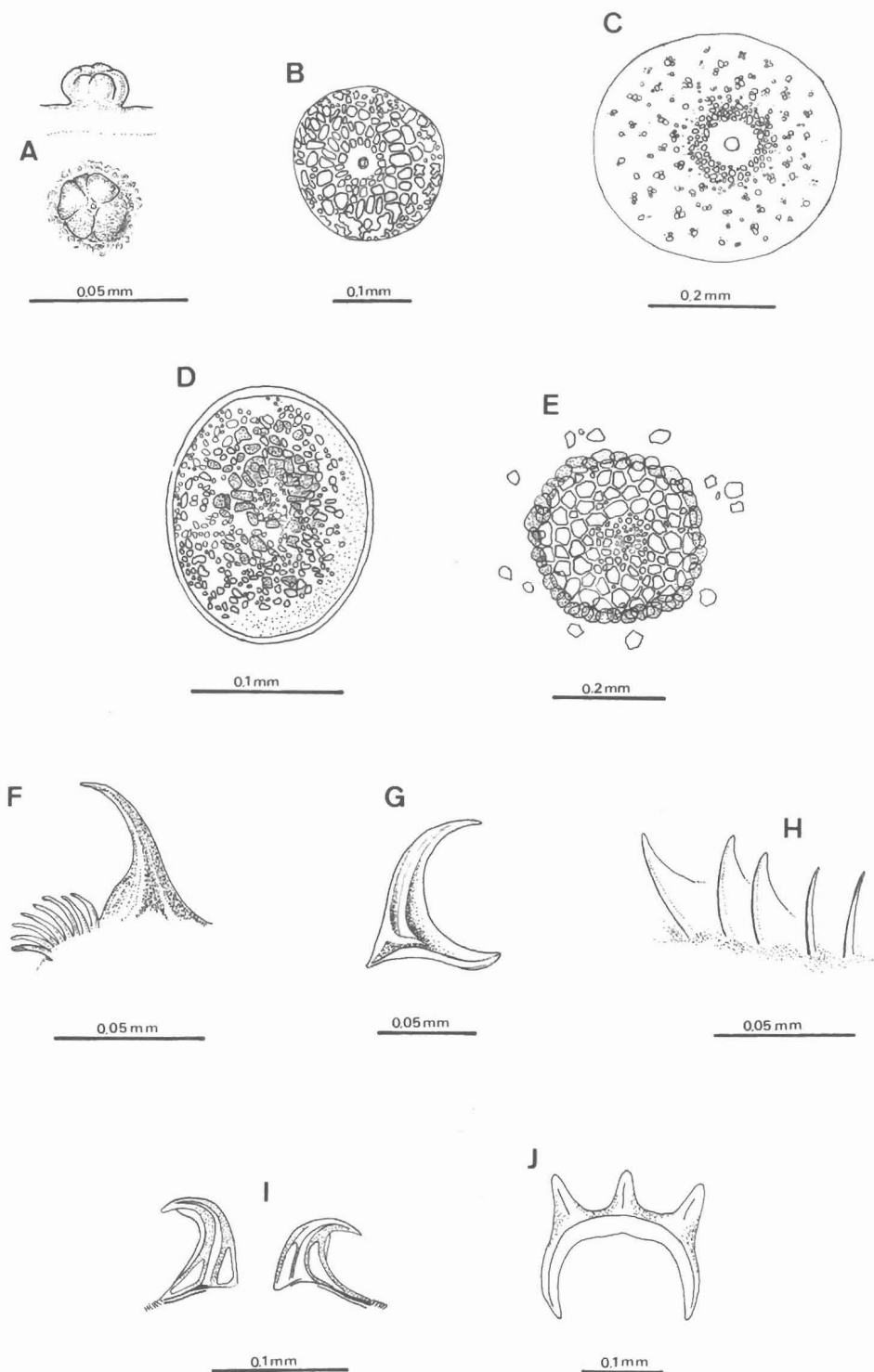


Figura 3

Estruturas epidérmicas de sipúnculos. A. Vistas lateral e apical de uma papila do tronco de *Golfingia tenuissima*. B. Papila do tronco de *Phascolosoma kurilense*. C. Papila do tronco de *Phascolosoma noduliferum*. D. Papila do tronco de *Phascolosoma annulatum*. E. Papila do tronco de *Phascolosoma scolops*. F. Gancho do introverte de *Phascolosoma pectinatum*. G. Gancho do introverte de *Phascolosoma nigritorquatum*. H. Espinhos do introverte de *Golfingia pudica*. I. Ganchos do introverte de *Phascolosoma stephensoni*. J. Âncora de *Phascolion tridens*. (A, segundo Wesenberg-Lund 1959 a; B, segundo Sato 1937; C, segundo Edmonds 1956; D, segundo Edmonds 1980; E & J, segundo Selenka, de Man & Bülow 1883; F & H, segundo Wesenberg-Lund 1959 b; G, segundo Fischer 1919; I, segundo Wesenberg-Lund 1963).

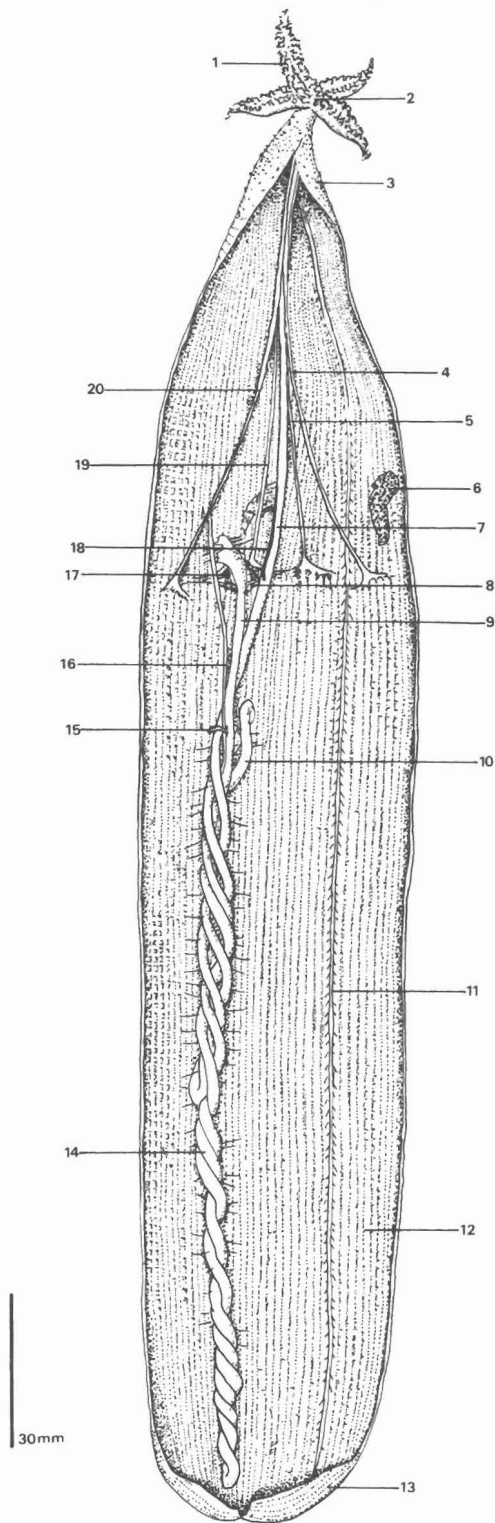


Figura 4

Anatomia interna de um sipúnculo. Dissecção de *Sipunculus phalloides*, segundo uma linha dorso-lateral direita. 1 = tentáculos; 2 = boca; 3 = introverte; 4 = músculo retrator ventral direito da probóscide; 5 = músculo retrator ventral esquerdo da probóscide; 6 = nefrídio; 7 = esôfago; 8 = músculo aliforme; 9 = reto; 10 = espiral intestinal extra; 11 = cordão nervoso; 12 = músculos longitudinais; 13 = tronco; 14 = espiral intestinal ascendente; 15 = ceco; 16 = músculo fuso; 17 = glândulas racemosas; 18 = saco de compensação, dorsal; 19 = músculo retrator dorsal esquerdo da probóscide; 20 = músculo retrator dorsal direito da probóscide. (original).

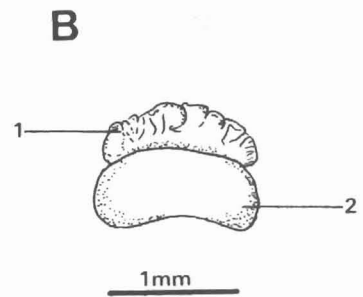
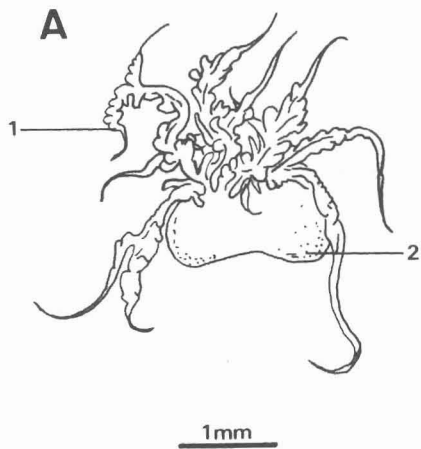


Figura 5
 Sistema nervoso de sipúnculos. A. *Sipunculus nudus*. B. *Sipunculus natans*. 1 = processos cerebrióides; 2 = gânglio cerebrióide. (original).

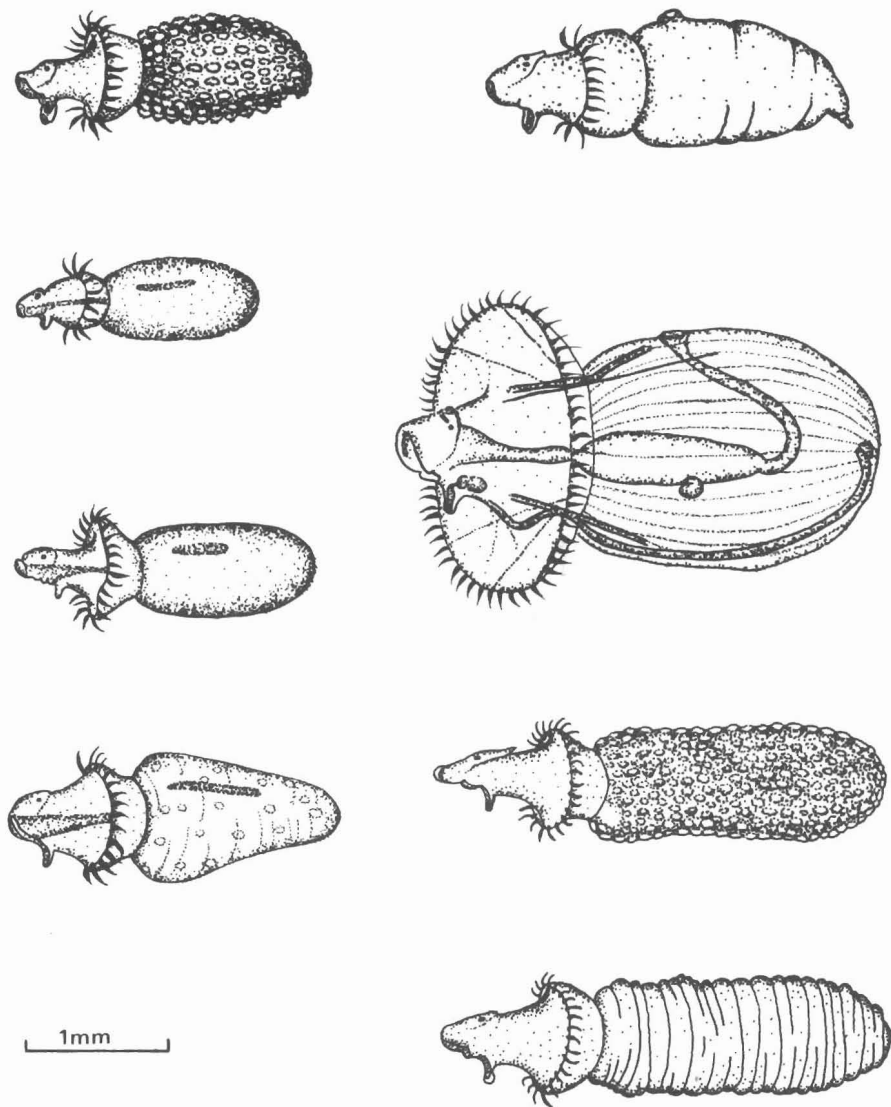


Figura 6

Reprodução assexuada em *Aspidosiphon brocki*. A. Animal mostrando constricção posterior. B. Alguns minutos após a separação da parte posterior. C. Adulto e jovem, dois dias após a separação das partes. (Desenhado a partir de fotografias de Rice, 1970).

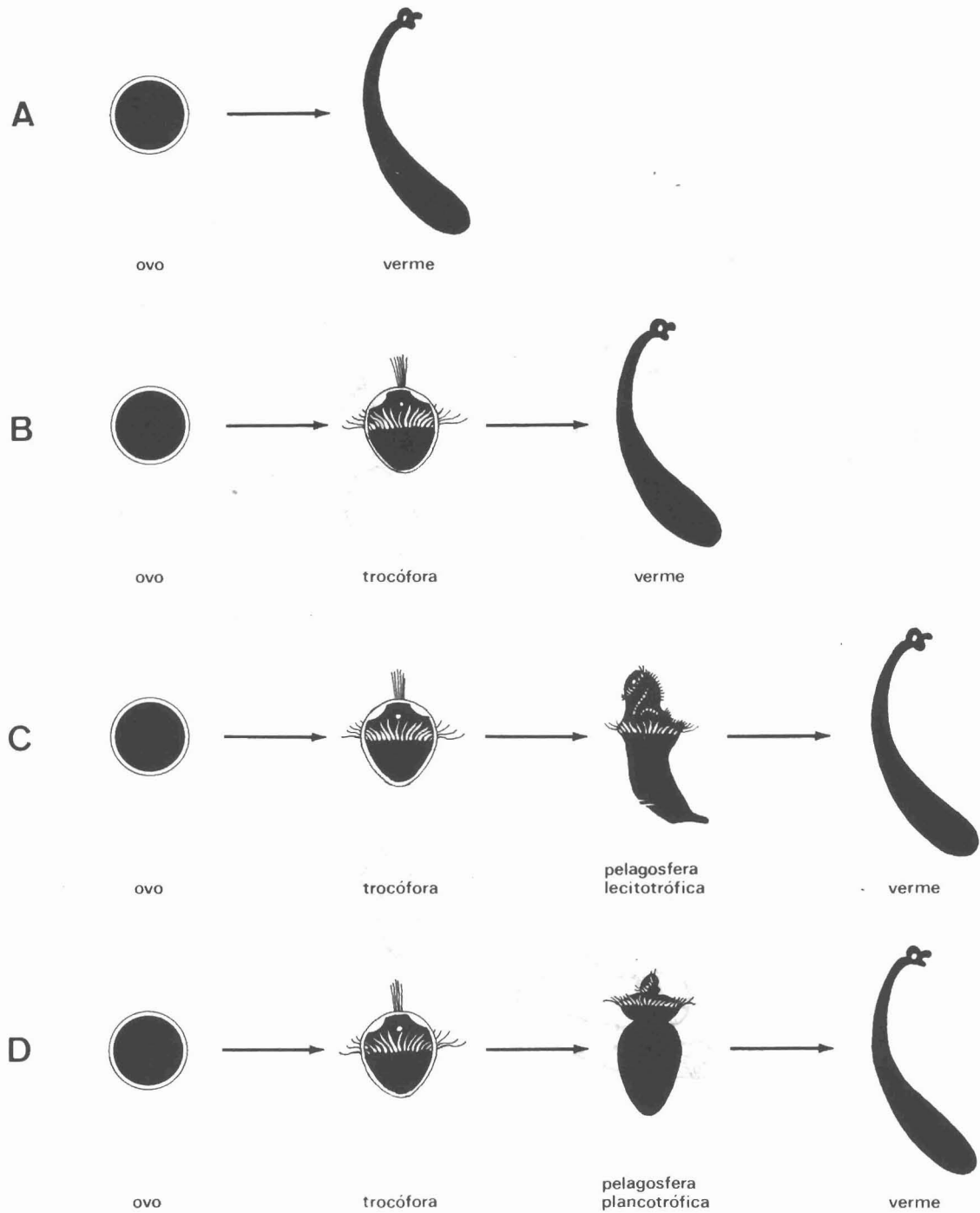


Figura 7
 Representação esquemática dos padrões de desenvolvimento apresentados pelos Sipuncula. (Modificado de Rice, 1975 b).

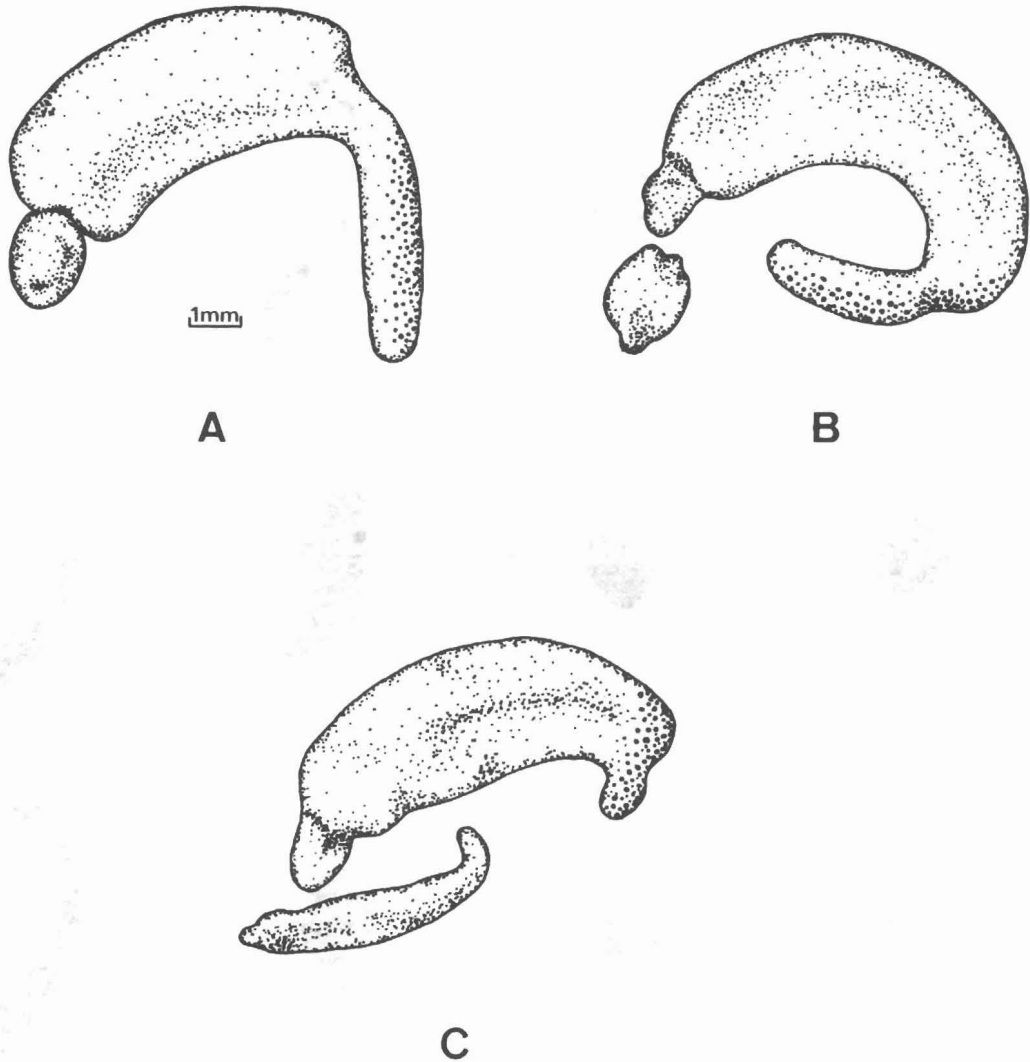
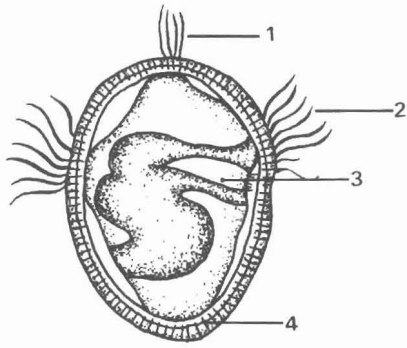
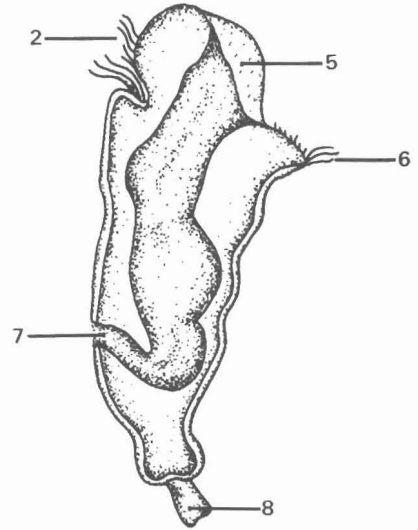


Figura 8

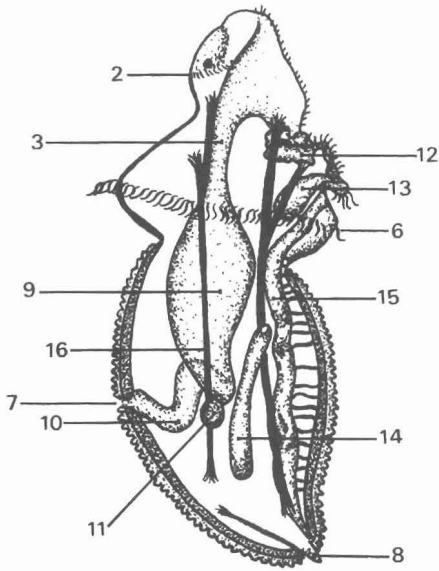
Representação esquemática dos estágios larvais de *Golfinhia misakiana*. A. Trocófora. B. Pelagosfera jovem. C. Pelagosfera desenvolvida. D. Pelagosfera em metamorfose. 1 = tufo apical; 2 = prototroca; 3 = esôfago; 4 = membrana vitelina; 5 = boca; 6 = metatroca; 7 = anus; 8 = órgão terminal; 9 = estômago; 10 = intestino; 11 = glândula saciforme; 12 = órgão bucal; 13 = glândula do lábio; 14 = nefrídio; 15 = cordão nervoso ventral; 16 = músculo retrator da probóscide. (Simplificado de Rice, 1978).



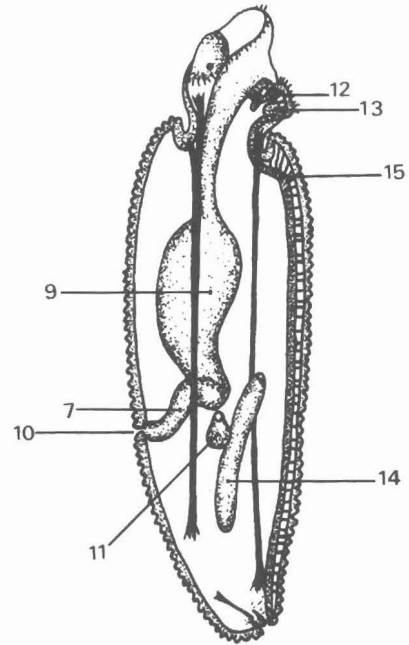
A



B



C



D

Figura 9
Alguns tipos de larvas pelagóferas do Oceano Atlântico Norte. (Segundo Hall & Scheltema, 1975).