

Crispim FAX 3921093.

Pinça cirúrgica, ponta reta, ultra-fina - 9 cm<sup>3</sup> - 4.

Pinça cirúrgica, ponta curva, ultra-fina - 9 cm<sup>3</sup> - 2.

Pinça cirúrgica, ponta achatada (= bico de pato) -  
- 10 cm<sup>3</sup> - 2.

Tegoura cirúrgica - ponta fina e reta - ultra-fina - 3

Tegoura cirúrgica - ponta curva - ultra-fina - 2.

Dra. Dyreza Macomile

Telef: 3921093

FAX: 3921093

Departamento de Entomologia.

Rua: Estrada da Covança, 56.

↗ Largo do Tanque - Jacarepaguá.

cep: 22735-020.

Favor enviar o catálogo para  
o endereço acima.

**Revisão e observações histológicas nas glândulas de cimento durante 12 meses seguidos em *Megabalanus tintinnabulum*, (Crustacea - Cirripedia) da Ilha do Governador Rio de Janeiro – Brasil**

**Dyrce Lacombe e Edalton Silva**

Departamento de Entomologia, Instituto Oswaldo Cruz. Lab. Anatomia e Histologia de Invertebrados. Estrada da Covança, 56, Tanque, Jacarepaguá. Rio de Janeiro – RJ.

Cep – 22735-200. E-mail: [dlacombe@pcshop.com.br](mailto:dlacombe@pcshop.com.br)

**ABSTRACT.**

According to Lacombe (1966) the canals systems conductors the cement secretion, originated by progressive invagination the hipoderme cells of the mantle. The location of this cells is variable in the mantle epithelium, near the calcarea base or among the ovarium follicles. The cement glands are located in group in *Megabalanus tintinnabulum* or isolated as in *Chelonibia patula*. All secretion of the cement glands is accumulated in one side of these glands as in *Balanus eburneus* and *Megabalanus tintinnabulum*. The pathway of the cement secretion is: after accumulated in excretor side of this cells, the cement are spray out to a very small collector ducto. Immediately going to secondary canals, that are narrow and plentiful between ovarium follicle in connective tissue. After, the secretions pass to principals canals. It is large, with many fibres concentrated around some a protective canals during conduction of the cement secretion. We can see very well the chitin layer in their lumen, the epithelium cells and nucleus. All histological cuts was analized in pollarized light. The secretion in the base

pass to radial canals, after to circulars ducts and, finality spray out in to substract by small ducts. The number of the circular canals is variable with the size of the specimens.

key words: Canals - cement secretion - *Megabalanus tintinnabulum* - Histology

Título abreviado: Revisão das glândulas de cimento em *Megabalanus tintinnabulum*

Dyrce Lacombe – Estrada da Covanca, 56, Tanque – Jacarepaguá. Rio de Janeiro.

22735-200

## RESUMO

Segundo Lacombe (1966), o sistema de canais condutores da secreção cimentante dos balanídeos tem origem de uma progressiva invaginação das células da hipoderme do manto. A localização destas células é variável no epitélio do manto. Ficam próximas à base calcária ou entre os folículos do ovário. As glândulas de cimento estão localizadas em grupos como em *Megabalanus tintinnabulum*, ou isoladas como em *Chelonibia patula*. Toda a secreção de cimento fica acumulada em um lado das glândulas, como visto em *Balanus eburneus* e *Megabalanus tintinnabulum*. O caminho traçado pelo cimento excretado é: Após ser acumulado no polo excretor da célula, o cimento segue para o pequeno canal coletor. Imediatamente se encaminha para os canais secundários, que são estreitos e muito acentuados entre os folículos do ovário e o tecido conectivo. Após, esta secreção segue para os canais principais. Estes são largos, com muitas fibras concêntricas em volta, que protegem estes canais durante a condução da secreção. Temos visto com clareza uma fina quitina no interior destes canais, o epitélio celular e os numerosos núcleos, tudo a luz polarizada.

Na base do Cirripédio, a secreção passa para os canais radiais, depois aos circulares e, finalmente, é excretada pelos pequenos ductos excretores. O número de canais circulares varia com o tamanho da espécie.

Palavras-chave: Canais - Secreção de cimento - *Megabalanus tintinnabulum* - Histologia.

## INTRODUÇÃO

Vem chamando a atenção de muitos pesquisadores, a importância de se conhecer com mais profundidade, as glândulas de cimento dos cirripédios. Com este objetivo, acreditamos ser necessário fazer uma ligeira recapitulação dos estudos feitos até o presente, das glândulas de cimento e seus canais.

Darwin (1854) foi o primeiro pesquisador a mencionar as glândulas de cimento e seus canais, no seu clássico livro sobre os cirripédios. Os estudos foram feitos em *Lepas*, *Coronula*, *Chelonibia* e *Megabalanus tintinnabulum* dentre outros balanídeos. Ele fez um estudo comparativo das glândulas de cimento nestas espécies e cita observações feitas nos finos e espessos canais partindo das glândulas de cimento em *Megabalanus tintinnabulum*, *Balanus improvisus*, *Balanus galleatus*, *Balanus crenatus* e *Balanus balanoides*. Devido às dificuldades técnicas da sua época, Darwin não pôde proceder um estudo mais profundo das glândulas e seus canais, entretanto suas informações são essenciais para o este assunto.

Em 1859, Krohn fez uma descrição exata destas glândulas, discordando de Darwin em relação à origem e posição das mesmas. Koehler (1889), ao fazer observações em Lepadídeos, chama a atenção para a origem destas glândulas, porém, não entrando em detalhes. Gruvel (1905) em sua Monografia dos cirripédios, onde abrange a anatomia do grupo, dispensa pouca atenção às glândulas. Hoeck (1907) refere-se em geral ao aparelho digestivo, glândulas anexas, aparelho reprodutor e glândulas de cimento, nos estudos feitos em *Lepas*, *Scalpellum* e *Conchoderma* como resultados da Expedição Siboga. Thomas (1944) menciona a possível origem ectodermal destas glândulas ao referir-se às glândulas do tegumento dos cirripédios.

Os estudos de anatomia e histologia destas glândulas, bem como a origem e desenvolvimento dos canais condutores do cimento for feito por Lacombe (1966), confirmando a origem ectodermal dos canais e das glândulas. Em 1967, Lacombe usando o método de histofotometria, verificou a afinidade tintoreal das glândulas de cimento em *M. tintinnabulum*.

Arvy e Lacombe (1968) aplicaram o método histoenzimológico segundo Gomori (1941) para a identificação do caminho traçado pelo cimento, a partir da sua saída das células para os canais até a base cimentante no substrato, assim, pela primeira vez é identificado o trajeto percorrido pela secreção até a base do cirripédio. Lacombe e Ligouri (1969) realizaram um estudo comparativo das glândulas de cimento de *Lepas anatifera* e *Megabalamus tintinnabulum*. Posteriormente Lacombe (1970) evidencia as regiões de formação e depósito do cimento, no interior das glândulas, como sendo duas regiões distintas e opostas. Bocquet-Vedrine (1970 a e c), também analisou a origem e formação destas glândulas e canais, fazendo observações citológicas referentes à multiplicação aminiótica e poliploidia dos núcleos destas células glandulares. Walker

(1970, 1971, 1972, 1973) vem contribuindo significativamente com a comprovação destes estudos.

Trabalhos como os de Soroyan et al (1970), Walker (1978) e Cheung et al (1987), têm contribuído para o conhecimento da células glandulares bem como a composição bioquímica do cimento. Sabe-se atualmente que este é constituído de 90% de proteínas, contendo ainda lipídios, carboidratos, sílica, cálcio, alumínio, ferro e etc.

Dougherty (1990) estudou a adesão em cirripédios, onde menciona a sua fixação em placas de polietileno. Naldrett (1993) estudando a química do cimento, analisou e determinou alguns fatores essenciais à forte adesão do cimento no substrato. Lacombe e Andrade (1995), estudaram a icrustação acentuada de *Chelonibia patula* e *Chelonibia testudinaria* em siris de Angra dos Reis, Baía de Guanabara e Cabo Frio / RJ, onde ficou claro que a forte incrustação de *C. patula* no cefalotórax de *Callinectes danae* retarda os movimentos deste crustáceo, o que facilita sua captura pelo homem. Mais recentemente Kamino et al (1996) estudando a secreção cimentante, considerou a possibilidade deste cimento apresentar dois tipos de proteínas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Durante 12 meses seguidos, foram coletados nos pilares da ponte da Estação Rádio da Marinha do Rio de Janeiro, na Ilha do Governador, cerca de oitenta exemplares de *Megabalanus tintinnabulum* adultos. O local escolhido foi de fácil acesso à coleta mensal. Todo o procedimento técnico foi feito com auxílio da lupa. Retiramos do interior de cada exemplar, os ovários e as glândulas de cimento. De imediato, estas partes foram colocadas nos fixadores: líquido de Bouin feito com água do mar; Bouin segundo

Dubosq - Brasil; líquido de Susa segundo Heidenhein; de Carnoy; de Helly; de Zenker; de formol-cálcio; de Ayoama, de Cajal e de Flemming. A inclusão do material em estudo foi feita em parafina Histoseck (Merck). Os cortes histológicos seriados foram feitos no Micrótomo Leitz com 5 $\mu$  e 7 $\mu$  de espessura. As colorações mais usadas foram: Gallocianina; Vermelho-Congo; Orange G-G; Nuclear Fast Red; Hematoxilina fêrrica segundo Heidenhein; Verde-Naftol; Hematoxilina segundo Delafield e segundo Erlich; método de Mallory; Trichromero de Masson; Feulgen e Xilidene de Ponceau. Todos estes métodos podem ser encontrados em: Romein (1924), Russel (1939), Barth (1953), Arvy (1953), Lison (1960), Pearse (1960) e Thompson (1966).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com auxílio de técnicas histológicas foi possível evidenciar a presença de glândulas de cimento jovens, adultas e maduras bem como inúmeros canais condutores do cimento. A Fig. 1, mostra claramente inúmeras glândulas de cimento em diferentes fase de crescimento: glândulas jovens (CJ), adultas (CA) e maduras (CM). Em todas as fases os núcleos são bem destacados. Pode se ver os canais secundários (CS), o canal principal (CP). A Fig.2, mostra o resultado da invaginações e dobras do epitélio do manto (MT<sub>1 e 2</sub>), na região do basal dos balanídeos, para a formação dos canais: radiais (CR), circulares (CI), secundários (CS) e principais (PR). Observa-se também a formação das glândulas (CG) partindo do epitélio dos canais secundários (CS). A Fig. 3 mostra um esquema do desenvolvimento dos canais condutores do cimento, na base de *M. tintinnabulum*. Este esquema desenvolvido por Lacombe e baseado na infiltração de corantes, mostra com nitidez a formação dos canais circulares (CI) que partem dos

canais radiais (CR) para a formação do cimento (CM). Pode-se observar ainda no Fig. 3, os dois canais radiais (CR) que tem origem durante a fixação do cypris, se estendem em direções opostas, onde vão formar os primeiros canais circulares (CI) e as primeira linhas de cimentação (CM), representada em negrito. Estes canais circulares e as zonas de cimento (ZC), vão aumentar de número acompanhando o crescimento basal do Balanídeo.

Segundo Lacombe (1970) a área superior, acima do núcleo polimorfo (Fig.4, NP) corresponde o local de formação e a área oposta, corresponde a região onde ele é acumulado (FE), pronto para ser excretado Na zona de formação encontramos muitas mitocôndrias. De um modo geral esta diferenciação citológica é bem evidente nestas glândulas.

Em suma, todo o processo de incrustação dos Balanídeos se passa da seguinte forma: a secreção cimentante, é formada no polo anterior da célula glandular, e armazenada no polo oposto, onde é excretada para o pequeno canal coletor (Fig.4).

Na região onde o cimento é estocado, encontramos um pequeno tubo que recebe a secreção e logo a passa para os canais secundários. Estes numerosos canais secundários (CS) e as glândulas de cimento (CG) são bem evidentes na Fig.5. O tecido conjuntivo (TC), (Fig.6) mostra o envelado destas glândulas quando jovens (CJ), lateral às glândulas de cimento adultas (GC). Os canais secundários vão de encontro aos canais principais, que são de calibre maior, e sempre revestidos de fibras do tecido conjuntivo (fig.7, FB). Uma forte cutícula, que se mostra bem visível com auxílio de vermelho de congo e luz polarizada, onde podemos observar atapetando a luz dos canais principais (CU). Esta é secretada pelas células baixas, porém individuais, da parede dos canais. O núcleo é central, cromatina aderida à membrana nuclear e o citoplasma espesso. A

secreção é do tipo merócrina. Finalmente, o cimento é encaminhado à base da craca, indo para os canais radiais, e deste para os canais circulares (CI), quando são excretados, fixando para sempre o animal naquele substrato.

As glândulas de cimento durante sua fase de crescimento têm um citoplasma heterogêneo (Fig. 8) com muitas vesículas (VS), onde o cimento é estocado, conforme vistas em *Chelonibia patula*. Podemos observar numerosos nucléolos (NUC) na região central do núcleo (NU). Pode-se observar a poliploidia dos núcleos e nucléolos, conforme citado por Boquet-Vedrine (1970).

Podemos acompanhar na Fig.9 os numerosos nucléolos (NUC) situados no gigante núcleo (NU) e a espessa membrana basal (MB) que envolve cada glândula. Ainda na Fig. 9, podemos ver as glândulas de cimento quando jovens (CJ) e adultas (CA). A fig.10 acentua a poliploidia dos núcleos em uma área de concentração das glândulas. É bem acentuada a zona de formação (FI) e acúmulo do cimento (FE).

Embora tivéssemos o objetivo de encontrar algumas diferenças citológicas, o número de glândulas, formas e dominância, em relação às estações do ano, não observamos nenhuma evidência. Todas estas glândulas estão sempre bem presentes nos muitos exemplares coletados, mostrando seu contínuo crescimento, diferenciação e envelhecimento, o que nos indica, que a produção do cimento é contínua durante toda a vida do animal.

#### **AGRADECIMENTOS:**

Este trabalho só foi possível ser realizado devido ao auxílio e colaboração por parte do saudoso Mestre e Pesquisador Antônio Conceiro. A este emérito Histoquímico

nossa eterna gratidão. Agradecemos ao Sr. Genilton Vieira e ao Sr. Rodrigo Mexas pelo auxílio fotográfico obtido durante o desenvolvimento do trabalho. Ao técnico Arnaldo de Paula Moreira somos gratos pela colaboração.

#### BIBLIOGRAFIA:

- ARVY, L. 1953. Les techniques actualles d'histoenzymologie. *Biological Médicale*, XLVI - 2,3,4,5,6 - Paris
- ARVY, L. and Lacombe, D. 1968. Activités enzymatiques traceues dans l'appareil cementaire des Balanidae. *C. R. Acad. Soc.* 267: 1326-1328. Paris.
- BARTH, R. 1953. Métodos de trabalho na anatomia e histologia entomológica. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 51: 95-186.
- BOCQUET-VEDRINE, J. 1970a. Polyploide et multiplication amitotique des cellules glandulaires cémentaires chez le Crustacé Cirripede Operculé *Balanus crenatus*. *C. r. heb. Séanc. Acad. Sci. Paris*, 270: 506-508.
- BOCQUET-VEDRINE, J. 1970c. Contribution a l'étude du systeme cémentaire chez *Balanus crenatus* Brug. *Arch. Zool. exp. gén.*, 111: 521-557.
- CHEUNG, P. J., RUGGIERI, G. D. and NIGRELLI, R. E. 1977. A new method for obtaining barnacle cement in the liquid state for polymerization studies. *Marine Biol.* 43: 157-163.

DARWIN, C. 1854. A monograph of the cirripedia the Balanidae. *Ray. Soc. London*,  
684 pgs

DOUGHERTY, W. 1990. Barnacles adhesion. Reattachment of the adult Barnacles  
*Chthamalus fragiles* Darwin to polystyrene surfaces followed by centrifugations  
shearing. *Journal of Crustacean Biol.* 10: 469-478.

GOMORI, M. 1941. Thecniques histologiques. In Masson et Cic, ed. Paris VI., V +  
113.

GRUVEL, A. 1905. *A Monographie des Cirripèdes on Thecostraces.* XII + 472. 427  
fig. Ed. Masson. Etcie. Paris

HOECK, P. P. C., 1907. The Cirripedia of the Siboga Expedition. Cirripedia  
pedunculata. *Siboga Exped.* 31: 1-127.

JULE, A. B. and WALKER, G. 1987. Adhesion in Barnacles, in Barnacle (Biology). In  
A. J. Southward, A. A. Balkema. Roltterdan, 389-402.

KAMINO, K., ODO, S. and MARUYAMA, T. 1996. Cement proteins of the Acorn  
Barnacle, *Megabalanus rosa*. *Biol.Bull.* 190: 403-409.

KOEHLER, R. 1889. Recherches sur l'organisation des Cirripèdes. *Arch. Biol.* 9: 311-  
402. 72 figs. 2 pls.

KROHN, A. 1859. Beobachtungen über den Cementapparat und die weiblichen  
Zeugungsorgane einiger Cirripedien. *Arch. Naturgesch.*, 25: 355-364.

- LACOMBE, D. 1966. Glândulas de cimento e seus canais em *Balanus tintinnabulum* (Cirripedia-Balanidae). *Inst. Pesq. da Marinha - Nota Técnica No. 32*, 1-39. 48 fig.
- \_\_\_\_\_. 1967. Histoquímica e Histofotometria das glândulas de cimento de *Balanus tintinnabulum*. *Publ. Inst. Pesq. Marinha 11*:1-29, RJ.
- LACOMBE, D. and LIGUORI, V. 1969. Comparative Histological studies of the cement apparatus in *Lepas anatifera* and *Balanus tintinnabulum*. *Biol. Bull. Woods Hole, 137*: 170-180.
- LACOMBE, D. 1970. A comparative study of the cement glands in some balanid barnacles (Cirripedia, Balanidae). *Biol. Bull. Mar. biol., Woods. Hole, 139*: 164-179.
- \_\_\_\_\_. 1975. Cement gland and attachment of *Octolasmis lowei* to gills of *Calinectes danae* from Guanabara Bay - Brazil. *Trans. Amer. Micros. Soc. 94*(3a.).
- LACOMBE, D. e ANDRADE, R. 1995. La corrosion biologica causada por la secretion de las glândulas de cemento. *Rev. Pesq. Naval., suplemento especial. 8*: 101-108.
- LISON, L. 1960. Histochemie et Cytochemie animals. XII + 824 pgs. v. 1-2, ed. Gauthier Villares.
- NALDRETT, M., 1993. The importance of sulphur cross-links and hydrophobic interactions in the polymerization of barnacle cement. *J. Mar. Biol. Ass. U. K. 73*: 689-702.

- PEARSE, A. G. E. 1960. Histochemistry. *Theoretical and applied*. 2a. ed. London, 998 pgs.
- ROMEIN, B. 1924. Guia Formulário de Técnica Histológica. Barcelona-Madril. Buenos Aires.
- RUSSEL, D. 1939. Histological Technique for intracranial tumours. Oxford. University Press. 1-69 pgs.
- SAROYAN, J. R., LINDNER, E. and DOOLEY, C. A. 1970. Repair and Reattachment in the *Balanidae* as related to their cementing mechanism. *Biol. Bull.* 139: 333-350.
- THOMAS, H., 1944. Tegumental glands in the Cirripedia Thoracica. *Quart. J. Micr. Sci.* 84: 257-281.
- THOMPSON, S. W. 1966. Selected Histochemical and Histopathological Methods. XI + 1.639 pgs. *Publ. Charles C. Thomas*. U.S.A.
- WALLEY, J. L. 1969. Studie on the Larval structure and metamorphoses of *Balanus balanoides*. *Roy. Soc. London*, 256 (807): 237-280.
- WALKER, G. 1970. The histology, histochemistry and ultrastructure of the cement apparatus of the three adults sessils barnacles *Elminius modestus*, *Balanus balanoides* and *Balanus hameris*. *Marine Biology*, 7: 239-248.
- \_\_\_\_\_. 1971. A study of the cement apparatus of the Cypris larva of the Barnacle *Balanus balanoides*. *Mar. Biol.* 9: 205-212.

\_\_\_\_\_. 1972, The biochemical composition of the cement of two barnacles species, *Balanus hameris* and *Balanus crenatus*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 52: 429-435.

\_\_\_\_\_. 1973. The early development of the cement apparatus in the barnacles *Balanus balanoides* (Crustacea). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 12: 305-314.

WALKER, G., and YOUNGSON, A., 1975. The biochemical composition of the *Lepas anatifera* cement (Crustacea: Cirripedia) *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 55: 703-707.

WALKER, G., 1978. A citological study of the cement apparatus of the Barnacle *Chelonibia testudinaria* and epizoite on turtle. *Bull. Mar. Sci.* 28(1): 205-209.

#### LEGENDAS E ABREVIACÕES DAS FIGURAS

Fig. 1. Corte histológico mostrando o conjunto de glândulas de cimento e seus canais.

Coloração. Hematoxilina Férrica Heidenhein. 250X

CA – Célula adulta	CM – Célula madura
CG – Glândula de cimento	CP – Canal principal
CJ – Célula jovem	CS – Canal secundário

Fig. 2. Esquema da dobra do manto, mostrando a origem das glândulas de cimento e seus canais.

CG – Glândula de cimento	Mt <sub>1</sub> – Epitélio interno de manto
CI – Canal circular	Mt <sub>2</sub> – Epitélio externo do manto

CP – Canal principal

NU – Núcleo do epitélio

CR – Canal radial

HP – Hipoderme

CS – Canal secundário

Fig. 3. Esquema da formação dos canais da base.

CR – Canal radial

1<sup>o</sup> CL - Canal circular

1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> ZC – Zonas de cimento

Fig. 4. Glândulas de cimento.- hematoxilina férrica de Heidenhein. 1000X

FI – Formação do cimento - anterior

FE – Localização do cimento – posterior

NP – Núcleo polimorfo

Fig. 5. Fotomicrografia de um acúmulo de glândulas de cimento e os canais secundários.

H.E.H. 250X

CG – Glândulas de cimento.

CS – Canais secundários

Fig. 6. Glândulas de cimento – Galocianina + Cromotrop 2R. 200X

CS – Enovelado de glândulas de cimento jovens

TC – Tecido conjuntivo.

Fig.7 Corte histológico transversal pelo canal principal. Método de Mallory mais Vermelho Congo. 250X

CU – Cutícula

FB – Fibras do tecido conjuntivo.

Fig. 8. Glândula de cimento e seu citoplasma repleto de vacúolos contendo o cimento:

Hematoxilina Dalaficed + Cromotrop 2R. 400X

VS – vacuolos

NU – Núcleo

NVC – Nucléolo

Fig. 9. Fotomicrografia das glândulas de cimento em diferentes fases. Método de

Mallory após HEH. 250X

CA – Célula adulta

MB – Membrana basal

CJ – Célula jovem

NU – Núcleo

CM – Célula madura

NUC – Nucléolo

Fig. 10 – Aspecto geral de um aglomerado de glândulas de cimento, onde se nota a

pobreza da cromatina – HEH. 250X

CRO – cromatina

FI – Região de formação do cimento.

FE – Região de estocagem do cimento.