

BR 40/01 DL DP DR 01-05-F1

33

HISTOLOGIA, HISTOQUÍMICA E ULTRA ESTRUTURA DAS GLÂNDULAS
DE CIMENTO E SEUS CANAIS EM B. TINTINNABULUM

1967-33

Dyrce Lacombe

33

(Com 12 pranchas e 29 figs.)

Í N D I C E

- I - INTRODUÇÃO
- II - TÉCNICAS APLICADAS
- III - ANATOMIA E HISTOLOGIA DAS GLÂNDULAS DE CIMENTO
- IV - ORIGEM E DISPOSIÇÃO DOS CANAIS CONDUTORES DE CIMENTO
- V - INTERPRETAÇÃO DAS REAÇÕES HISTOQUÍMICAS USADAS NA DETERMINAÇÃO DO CIMENTO
- VI - ULTRA ESTRUTURA DAS GLÂNDULAS DE CIMENTO
- VII - RESUMO
- VIII - SUMMARY
- IX - ZUSAMMENFASSUNG
- X - BIBLIOGRAFIA
- XI - LEGENDAS DAS FIGURAS

HISTOLOGIA, HISTOQUÍMICA E ULTRA-ESTRUTURA DAS GLÂNDULAS DE CIMENTO
E SEUS CANAIS EM B. TINTINNABULUM

Dyrce Lacombe

(Com 12 pranchas e 29 figs.)

I - INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas da Marinha vêm sendo o de "corrosão biológica" nos cascos de seus navios, caes, diques ou mesmo pequenas embarcações. Em curtos períodos de ação, os navios são obrigados a docarem para limpeza e remoção de animais incrustantes que deformam a superfície dos cascos, atacam o aço e destroem as tintas protetoras. Assim, o prejuízo econômico é acentuado, principalmente, nas águas mais poluídas, onde a riqueza de algas, vermes tubículos, Briozoários e especialmente de Balanus na sua fase larvária Cypris é abundante (Pr.I,2).

Os animais pioneiros na fixação dos cascos são os Balanidae (Lacombe, 1965), conhecidos pelo nome popular de Cracas ou Caracas (Pr.I,1). Êstes, após se fixarem, em cascos de navios, pintados ou não pintados, com tintas anti-incrustantes e anti-corrosivas, crescem, extendendo-se sobre toda a superfície e servindo como base para o crescimento posterior de outras gerações e, também, de outros grupos de animais, que vivem fixos a diferentes substratos como por exemplo os Bryozoa, Hydrozoa, Antozoa, Polychaeta e Urochordata.

Assim, com o crescimento contínuo destes animais, formando um ambiente ecológico favorável, vêm juntar-se aos mesmos, outros grupos de animais que vivem livres, porém, que encontram neste setor, melhor probabilidade de reprodução, crescimento e nutrição de sua espécie. Devido a isto, comumente, encontramos diversos Crusta-

ceos, Peixes pequenos, larvas diversas, vivendo sôbre os Metazoários fixos.

Verificamos através de nossas primeiras observações sôbre corrosão biológica em placas de aço na Baía de Guanabara (Lacombe, 1965) que as cracas constituem o substrato fundamental, para a fixação de outros, e assim, dedicamos tôda nossa atenção ao estudo destes animais.

Sabendo que, esta temida fixação é devida a solidificação imediata do cimento, secretado por células glandulares do animal, dirigimos nossas pesquisas no sentido de conhecer a origem e a citologia das mesmas, bem como a determinação histoquímica de sua secreção.

A importância destes estudos, é indubitavelmente, a fonte de motivação para prosseguirmos no objetivo de conhecermos a constituição bioquímica do cimento e, assim, chegarmos a melhores resultados relativos a proteção dos navios.

Através da Histologia, Histoquímica e Microscopia eletrônica determinamos a formação e expulsão do cimento (Lacombe, 1966), bem como o grupo de substâncias químicas a que pertence a secreção extra-celular (Lacombe, em prelo). Resta-nos, agora, prosseguir na análise bioquímica do cimento, determinando os elementos constituintes do grupo que identificamos.

II - TÉCNICAS APLICADAS

Durante os estudos sôbre a disposição dos canais condutores da secreção na base do Balanidae, bem como sua relação com as glândulas de cimento, usamos o método de descalcificação através do ácido clorídrico ou ácido nítrico a 1% em água do mar. Para isto, criamos ao natural, estes animais em lâminas histológicas e, após 1 ou 2 semanas, descalcificamo-os e aplicamos o método de infiltração

de corante nos canais. Desta maneira conseguimos acompanhar o trajeto de todos os canais, bem como seu contínuo crescimento. Os corantes mais usados foram: Azul de Trypan, Sudan III e Marron de Bismark diluídos na proporção de 1:1000 em óleo de amendoim.

No estudo da anatomia e histologia das glândulas de cimento tivemos, que inicialmente, localizá-las no animal adulto e, depois, através de cuidadosa dissecação extraírmos os ovários dos Balanídeos, que contém entre seus folículos as glândulas acima citadas. Neste caso usamos diversos fixadores como sejam: o líquido de Bouin, de Gilson, a composição de Susa, a de Heidenhain, e formol - fosfato.

Após o método normal de desidratação e inclusão, os cortes obedeceram a 5μ , 7μ e 10μ de espessura. As técnicas de colorações usadas para os estudos anatômicos e histológicos das glândulas foram: hematoxilina férrica segundo Heidenhain, hematoxilina segundo Delafield, Chromotop 2R, Kernechtrot, Verde Naftol e hematoxilina de Ehrlich. As principais técnicas histoquímicas empregadas foram: reação de PAS segundo Mac Mannus; o corante Alcian Blue usado antes e após as aplicações de enzimas, como ribonuclease e hialuronidase a hidrólise ácida; o corante Galocianina e Azul de Metileno, e ainda o método correspondente ao ácido triptofano (PABA).

Com o auxílio do histofotômetro fizemos a avaliação da intensidade de reações em diversas células glandulares, bem como na secreção extracelular ou cimento pp. dito.

III - ANATOMIA E HISTOLOGIA DAS GLÂNDULAS DE CIMENTO

Embora estas glândulas representem grande importância no desenvolvimento econômico da Marinha de diversos países, verificamos que a literatura a seu respeito é muito pobre. Entre outros, somente os trabalhos de Darwin (1854), Krohn (1859), Koehler (1889) e Gru-

vel (1893) citam, de maneira suscinta as glândulas de cimento e seus canais, não se aprofundando, entretanto, em detalhes de ordem a natômica e histológica. Recentemente, publicamos nossas observações sobre as mesmas, inclusive, explicando a origem destas glândulas e de seus canais.

Supomos que, a razão para tal escassez de trabalhos neste setôr, seja devido à localização irregular destas glândulas e, somente através de cortes histológicos nos foi possível localizá-las, entre os folículos dos ovários. Uma vez localizadas, seu estudo torna-se menos árduo, pois sua origem é simples em relação as demais glândulas.

As glândulas de cimento resultam do desenvolvimento de alguas células que formam a parededos canais (Pr.II,3), com a finalidade de atender a necessidade de sua função, isto é, originar a substância cimentante do animal.

Estas células quando jovem (Fig.4) têm em média 23,5 μ de diâmetro; quando adultas chegam a 40,2 μ (Figs. 5 e 6) e na fase final quando acumulam secreção no seu citoplasma atingem a 53,5 μ de diâmetro (Figs.7 e 8). A forma e disposição dos núcleos (Pr.III,10) destas glândulas é muito irregular, apresentando de 1 a 12 nucleólos, (NUC) principalmente, nas células idosas. É típico o seu polimorfismo nuclear. O citoplasma das glândulas de cimento (CIT) apresenta-se denso e rico em mitocôndrios.

Por diversas vezes notamos uma acentuada diferença de afinidades tintoriais no citoplasma. Na região celular, correspondente ao acúmulo da secreção (SC), o citoplasma é mais ácido, enquanto que, no pólo oposto a reação tintorial é, tipicamente, básica. Esta observação pode ser comprovada mais adiante pela histoquímica e, ainda, pela disposição diferente do retículo endoplasmático visto ao microscópio eletrônico.

Circundando cada célula glandular encontramos as células do tecido conjuntivo (CTC), que formam uma parede protetora para as células glandulares.

Durante o crescimento do animal, certas células da parede dos canais (CC) aumentam rapidamente, com o objetivo de tornarem-se glandulares; estas exercem uma pressão sobre o tecido conjuntivo, existente entre os folículos dos ovários (CTC), empurrando-o sucessivamente, daí encontrarmos este tecido fortemente aderido a parede das células de cimento (Fig. 9, MTC).

O crescimento destas células realiza-se, isoladamente, de maneira que cada uma está diretamente ligada ao seu canal de origem (CC) que recebe o nome de canal coletor, devido sua função de coletar e conduzir a secreção celular. Por diversas vezes os canais coletores resultam da divisão ou multiplicação final dos canais secundários. Neste caso, temos um aspecto diferente da disposição glandular o que, comumente, ocorre em células adultas ou em idosas. Isto é, formação de grupos de 8 a 10 células de cimento. Entretanto, embora muito juntas, seus canais coletores estão separados, convergindo para os canais secundários.

IV - ORIGEM E DISPOSIÇÃO DOS CANAIS CONDUTORES DO CIMENTO

O sistema de canais responsáveis pela condução do cimento a partir de sua expulsão da célula até ao substrato é, morfológicamente complicado. Implica em canais radiais (CR), circulares, (CIR) principais (CP), secundários (CS) e coletores (CC).

Embora recebam diferentes nomes, todos estes canais têm a mesma origem (Pr.IV, 10), isto é, formam-se a partir das dobras da lâmina externa do manto, seguida de acentuadas invaginações (INV). Sua origem é ectodermal, tendo um revestimento quitinoso no seu interior, fato este que constatamos através da polarização e de corantes específicos.

Através da criação natural dos Balanidae "in vitrun" pudemos acompanhar o crescimento e disposição deste canais, bem como a cimentação do animal ao substrato usado.

A fase inicial de fixação destes animais incrustantes é representada pela forma planctônica denominada Cypris (Pr.V,11), de aproximadamente 3 μ de espessura. Os canais condutores da secreção fabricada pelas glândulas nesta fase inicial, abrem-se na base de suas antenas (Fig.12), cimentando o indivíduo ao substrato desejado. Após, inicia-se a formação dos demais canais seguido de uma acentuada modificação celular de suas paredes (Figs. 13, 14, 15 e 16).

Na base do Balanus formam-se os dois canais radiais, que seguem direções opostas, encontrando-se com os canais circulares (Pr. VI, 17). O nº de canais circulares está ligado ao crescimento do animal sendo, portanto, mais numerosos em indivíduos idosos (CI). Verificamos diversos pontos de saídas do cimento nestes canais, porém, cujo nº não é válido como caráter específico de idade ou de espécie. A função principal destes canais é distribuir de maneira homogênea o cimento proveniente dos canais radiais e dos principais, para que o animal se acole, uniformemente, no substrato.

Os canais principais (Pr. VII, CP), provenientes de acentuada invaginação da referida dobra do manto, penetram profundamente no corpo do Balanídeo, até a região próxima à articulação das placas tergum e escutum. Durante esta invasão do tecido ectodermal sobre tecido mesodermal, algumas células destes canais se diferenciam em glândulas de cimento (CG). Ainda, os canais principais se dividem diversas vezes em canais secundários e estes em coletores, de acordo com a necessidade fisiológica do animal, atendendo a maior ou menor necessidade de formação do cimento.

Conhecendo os canais e sua disposição nas três dimensões podemos traçar o caminho percorrido pelo cimento, a partir de sua fon

te do origem. Êste é o seguinte:

1) Formação do cimento intra-celular e sua acumulação na zona excretora da célula; 2) saída da secreção pelos canais coletores; 3) condução do cimento pelos canais principais; 4) distribuição do mesmo pelos canais radiais e circulares e, finalmente, 5) saída da secreção por diversas aberturas existentes nos canais circulares.

V - INTERPRETAÇÃO DAS REAÇÕES HISTOQUÍMICAS USADAS NA DETERMINAÇÃO DO CIMENTO

Após conhecermos a origem, localização e morfologia celular das glândulas de cimento, bem como seus canais condutores, partimos para o estudo histoquímico da secreção intra e extra-celular, tendo por finalidade determinar a composição química do cimento.

A finalidade deste estudo prende-se a possível aplicação futura na melhora de confecção de tintas anti-incrustantes.

O processo de fixação e a espessura dos cortes histológicos seguidos, foram semelhantes àqueles usados anteriormente.

Procuramos, usando diversos métodos de análise histoquímicos, determinar o grupo pertencente a substância de cimento das glândulas, isto é, a secreção intra e extra-celular. Observamos a riqueza de ácido ribonucleico existente nestas células glandulares, aplicando os métodos de coloração de Azul de Metileno (com pH 4.0) e Galocianina (com pH 1.6). Comprovamos sua existência pela enzima ribonuclease.

Pelo método do ácido Triptofano segundo Lison (1960) verificamos, que as glândulas de cimento não armazenam proteínas no seu interior, porém, ressaltamos que estas podem ser formadas e, imediatamente, lançadas para o exterior. As glândulas, também, se mostraram negativas para o método de P.A.S. segundo Mac Mannus.

Na evidenciação e comprovação do polissacarídeos ácidos empregamos a técnica pelo corante específico Alcian blue. Por este método a secreção intra e extra-celular mostrou-se intensamente corada, o que indica ser o cimento um tipo de muco-polissacarídeos ácidos. Repeating diversas vezes este método, usando ou não, a coloração de Schiff e, verificamos a comprovação do grupo de substâncias químicas pertencente ao cimento.

Para a pesquisa do ácido siálico nestas células, fizemos uma hidrólise ácida e, notamos uma diminuição na posterior coloração pelo Alcian Blue. Submetemos, também, as glândulas de cimento à ação da hialuronidase testicular, verificando que estas permaneceram inalteradas a respeito de sua posterior coloração pelo Alcian Blue.

Utilizando diversas lâminas histológicas contendo glândulas de cimento, jovens e adultas, que obedeceram a mesma espessura de cortes feitos no Microtomo e, com iguais condições de fixação e coloração, estendemos nossos estudos para a evidenciação de intensidade de coloração específica, Alcian Blue e Galocianina, com o auxílio do Histofofômetro.

Fizemos 4 medidas para cada célula em diferentes áreas do citoplasma, abrangendo o total de 624 medidas de transmissão. Os valores numéricos foram analisados e, notamos sua diferença de acordo com o fixador usado (Lacombe, em prelo).

Finalmente, podemos resumir os dados relativos a histoquímica e a histofotometria nos seguintes quadros:

Resultados das análises histoquímicas

Métodos	Adultos	Jovens	
	Secr. intracelular	Secr. extra celular	Secr. intra celular
P.A.S.	negativa	negativa	negativa
Triptofano	negativa	negativa	negativa
Alcian Blue	positiva	positiva	positiva
Galocianina	positiva	negativa	positiva
Azul de Me tileno	positiva	positiva	positiva

Resultados das análises Histofofotométricas

A) Corante : Galocianina

Fixadores	Adultos	Jovens	Valor de F Entre C e D	Nível de probabilidade
Bouin em á- gua do mar	276 ± 27,6	520 ± 27,6	39,14	P > 0,01
Bouin normal	196 ± 12,0	246 ± 12,0	8,90	P < 0,05
Formol- fosfato	440 ± 31,7	579 ± 31,7	4,80	P < 0,01
Susa	395 ± 7,5	383 ± 7,5	1,36	P < 0,05

B) Corante : Alcian Blue.

Fixador	Adultos	Jovens	Valor de F entre C e D	Nível de probabilidade
Bouin normal	394 ± 30,11	1320 ± 30,11	474,47	P < 0,01
Formol-fosfato	702 ± 33,25	1247 ± 33,25	112,20	P < 0,01
Susa	1268 ± 40,71	1442 ± 40,71	9,14	P < 0,05

VI - ULTRA ESTRUTURA DAS GLÂNDULAS DE CIMENTO

Em colaboração com o Dr. Antônio Sesso, da Universidade de S. Paulo, estendemos nossos estudos sobre a ultra estrutura das células de cimento em exemplares adultos de Balanus tintinnabulum, trabalho êste em andamento.

Nêste caso, fixamos a região do ovário contendo as glândulas de cimento em uma solução tamponada de ácido ósmico. Na verificação da existência ou não destas glândulas nos inúmeros blocos confeccionados, fizemos cortes histológicos de 1 micra de espessura no Ultramicrotomo, selecionando àqueles contendo as glândulas (Pr.VIII e IX).

O retículo endoplasmático das glândulas de cimento apresenta-se irregular (Pr. X,24), sem uma ordenação definida, formando diversas cisternas. Somente na zona correspondente à de acumulação de secreção (Pr.XI,26), que se mostrou, microscòpicamente, com grande afinidade para os corantes ácidos, o retículo endoplasmático tem uma forma organizada semelhantes à tubos, destinados a facilitar a condução da secreção (Fig. 27).

Estas glândulas apresentam-se ricas em ribossomas, preenchendo os espaços existentes entre as inúmeras cisternas e, acompanhando o retículo endoplasmático (Pr.XII,28). Esta riqueza em R.N.A. comprovada pelos testes histoquímicos, indica a intensa síntese proteica existente nas glândulas de cimento.

O núcleo possui pouca cromatina dispersa no nucleoplasma, porém, os nucléolos em número bem variáveis são, facilmente, distintos pela sua forma, tamanho e estrutura. Distinguimos nas membranas do núcleo diversos poros de tamanhos variáveis.

A lâmina basal das glândulas de cimento apresenta uma superfície repleta de invaginações e evaginações, tendo por finalidade aumentar a área de contacto entre as células de cimento e as do tecido conjuntivo. Estas dobras, bastantes numerosas (Pr.X,25) são formadas em todos os sentidos, sendo acompanhadas pela membrana da célula de contacto. No interior das dobras encontramos os elementos citoplasmáticos correspondentes às suas células, isto é, mitocôndrios, retículo endoplasmático, ácido ribonucleico, etc.

Um dos elementos mais abundantes nestas células são os mitocôndrios. Sua forma é alongada ou esférica, de acordo com o corte feito no ultra-microtomo. Observamos suas membranas, bem como os septos mitocondriais que atingem ou não suas paredes opostas.

O aparelho de Golgi é bem distinto (Pr.XIV, 29). Suas cisternas quando achatadas são alongadas, formando um aglomerado de membranas. Cada par de membrana se dilata nas extremidades devido a acumulação da secreção. Observamos nestas fotografias também outros elementos citológicos como os desmosomas, microcorpos e microtubulos.

VII - RESUMO

É feita uma apresentação geral das pesquisas realizadas, até o presente, referentes às glândulas de cimento em exemplares jovens

e adultos de Balanus tintinnabulum.

A importância destes estudos e seu objetivo consistem em elucidar um dos problemas mais atuais das Marinhãs mundiais, que é o de corrosão biológicas nos cascos de seus navios e construções submersas. Chegamos aos seguintes resultados principais:

1-a) Estudos microanatômicos em material criado em meio natural, permitiram a localização das glândulas de cimento, cuja secreção é responsável pela fixação das cracas aos diferentes substratos e, que se encontram entre os elementos dos ovários.

b) Por infiltração de corantes foram localizados os canais condutores e, estudado o desenvolvimento do sistema destes canais e sua correlação com o contínuo crescimento do animal. Na base do animal existe, um sistema de dois canais radiais e de um número de canais circulares, que variam com a idade do animal e, que distribuem o cimento sobre o substrato. A secreção sai da célula, entrando em canais coletores que passam a secreção aos canais secundários e, desses, para os principais que, por sua vez, se continuam nos radiais e circulares.

2) Estudos histológicos provaram a origem ectodérmica das células glandulares, que são modificações de células hipodérmicas das ramificações (terminais) dos canais. Foi estudada a citologia das células glandulares em todos os estágios do seu funcionamento.

3) Estudos histoquímicos permitiram enquadrar o cimento intra e extra-celular no grupo de Mucopolissacarídeos ácidos.

4) Com o auxílio do histofotômetro foi realizada uma análise da avaliação da intensidade de coloração específica (Alcian blue e Galocianina) apresentando os resultados em dados numéricos.

5) Através da microscopia eletrônica (Estudos em andamento) foram comprovados todas as observações anteriores e, foi ainda estudada

a ultra-estrutura dos elementos citoplasmáticos e nucleares das glândulas de cimento, com ênfase especial (do retículo citoplasmático e da secreção intra e extracelular).

VIII - SUMMARY

In this publication we present the results of our studies, realized till today, on the cement glands in young and adult specimens of Balanus tintinnabulum (barnacle).

The importance and the aim of these studies we see in a contribution for a resolution of one of the most ardent problems of shipping in the world, this is the biological corrosion of ships and submerged constructions.

We found the following principal results:

- 1 - a) Micro-anatomical studies of material, cultured in natura, allowed the localization of the cement glands whose secretions are responsible for the fixation of barnacles on different materials. They are localized between the elements of the ovaria.
- b) By infiltration with dyes, there were found the conduct channels and studied the formation of the system of these channels and also their correlation with the permanent growing of the animal. The basal surface of the barnacle contains a system of two radial channels and of a number of circular ducts which varies with the age of the animal and which distributes the cement over the substratum. The secretion leaves the cell, entering in collecting ducts and, from these, in secondary channels and then in the principal ducts which conduct it into the radial and circular channels of the basal surface.

- 2 - Histological studies proved the ectodermical origin of the gland cells. They are modifications of hypoderm cells of the terminal ramifications of the collecting ducts. We studied also the cytology of the gland cells in all phases of their function.
- 3 - Histochemical studies allowed to include the intracell~~ular~~ extra~~cellu~~lar cement in the group of acid mucopolysaccharids.
- 4 - With the histophotometer were realized the analysis of the availability of intensity of the specific coloration (Alcian blue and Galocyanine), giving us the results in numerical dates.
- 5 - By electron microscopy (yet in study) there were proved all the anterior observations and was also studied the ultra-structure of the cytoplasmatic and nuclear elements of the cement glands with special emphasis of the endoplasmatic reticulum and the intra- and extracellular secretion.

IX - ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Veroeffentlichung werden die Resultate unserer bisherigen Beobachtungen an den Zementdruesen junger und erwachsener Exemplare von Balanus tintinnabulum (Seepocke) mitgeteilt.

Bedeutung und Zweck dieser Studien soll ein Beitrag sein zur Loesung eines der brennendsten Probleme der Schiffahrt aller Laender, naemlich der biologischen Korrosion an Schiffen und Unterwasser-Konstruktionen.

Wir kamen zu folgenden Hauptresultaten:

- 1 - a) Mikroanatomische Untersuchungen an im Freien gezuechtetem Material erlaubten, die Zementdruesen zu lokalisieren, die fuer das Anheften der Seepocken an den verschiedensten Materialien verantwortlich sind. Sie liegen zwischen den Elementen der Ovarien.

b) Durch Einfiltrieren von Farbstoffen wurden die ableitenden Kanaele gefunden und das System dieser Gaenge wie auch ihre Beziehung zum dauernden Wachstum dieser Tiere geklaert. Die Grundflaeche der Seepocke enthaelt ein System von zwei Radiaerkanaelen und einer Anzahl zirkulaerer Gaenge, die mit dem Alter des Tieres variiert; durch diese wird der Zement ueber das Substrat verteilt. Das Sekret verlaesst die Zellen und tritt in die Sammelkanele ein, von wo es in die Sekundaerkanaele und von diesen in die Hauptkanaele fliesst, die es in die Radial- und Zirkulaergaenge der Bodenplatte leiten.

- 2 - Histologische Studien zeigten den ektodermalen Ursprung der Druesenzellen. Sie sind modifizierte Hypodermiszellen der Endverzweigungen der Sammelkanaele. Ebenfalls wurde die Cytologie der Druesenzellen in allen Funktionsstadien untersucht.
- 3 - Histochemische Studien erlaubten den Einschluss des intra- und extrazellulaeren Sekrets in die Gruppe der sauren Mukopolysaccharide.
- 4 - Mit Hilfe des Histophotometers wurde die Abschaetzung der spezifischen Faerbungsintensitaet mit Alcian blue und Galocyanin durchgefuehrt, deren Analysen numerische Daten als Resutat ergaben.
- 5 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen (noch in Bearbeitung) unterbauten die vorhergehenden Untersuchungen; ebenso wurde die Ultrastruktur der Elemente des Cytoplasmas und der Kerne der Zementdruesen untersucht, mit besonderer Betonung des endoplasmatischen Retikulums und der intra- und extrazellulaeren Sekrete.

X - BIBLIOGRAFIA

- Barnes, H., and Powel, H.T., 1950, The development, general morphology and subsequent elimination of Barnacles population, *B. cre natus* and *B. balanoides*, after a heavy initial settlement. Journ. Anim. Ecol. 19 (2): 175 - 179, 3 pls.
- Barnes, H., 1956, Corrosion and shell composition in Barnacles. Natu re, 117 (4502): 290.
- Barth, R., 1953, Método de trabalho na Anatomia e Histologia entomo- lógica. Mem. Instituto Oswaldo Cruz, 51: 95 - 186.
- Darwin, C., 1854, Monograph on the Cirripedia. London, 1^o Vol. 240 pags., 10 figs., 30 pls.
- Faucett, D., 1966, An atlas of fine structure. The Cell. VIII + 448 pags., 240 figs. Saunders Comp., Phil and London.
- Gruvel, A., 1893, Contribution a l'étude des Cirripèdes. Arch.Zool. exp., 1(3): 401 - 610, 158 figs. 9 pls.
- Gruvel, A., 1905, Monographie des Cirripèdes ou Thecostraces. XII + 472 pags., 427 figs., ed. Masson Et. Cie. Paris.
- Koehler, R., 1889, Recherches sur l'organization des Cirripèdes. Arch Biol. 9: 311 - 402, 72 figs., 2 pls.
- Krohn, A., 1859, Beobachtungen über den Cementapparat und die weibli- chen Zeugungsorgane einiger Cirripedien. Arch. Naturg., 25: 355 - 364.
- Lacombe, D., 1965, Observações sôbre corrosão biológica em placas de aço na Baía de Guanabara. Nota Técnica do Instituto de Pesqui- sas da Marinha do Rio de Janeiro. 22: 1 - 20, 30 figs.
- Lacombe, D., 1966, Glândulas de cimento e seus canais em *Balanus tin- tinnabulum*. Nota Técnica do Instituto de Pesquisas da Marinha do Rio de Janeiro 32:1 - 39, 12 figs.; 36 fotos em 6 pranchas.

- Lacombe, D., 1967, Histoquímica e histofotometria das glândulas de cimento de *Balanus tintinnabulum*. Publicação do Instituto de Pesquisas da Marinha, do Rio de Janeiro, Em prelo.
- Lison, L., 1958, Statistique appliqué à la biologie experimentale. La planification de l'expérience et l'analyse des resultates. 346 pags., Gauthier-Villars, ed. Paris.
- Lison, 1960, Histochemie et Cytochemie animales. Principes et Méthodes. Vols. I e II. XII + 824 pags. 30 figs. Gauthier - Villars, ed. Paris.
- Meyer, H., 1947, The Biological significance of Hyaluric acid and hyaluronidase. *Physiological Rev.* 27(3): 335 - 359.
- Moyse, S., 1960, Mass Rearing of barnacle cypris in the laboratory *Nature*, 185: 120.
- Mowry, 1963., The special value of methodes that color both acidic and vicinal hidroxil of Mucins with revised directions for the colloidal iron stain, the use of Alcian Blue G.8 and their combination with the periodic acid-schiff reaction. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 106: 402 - 423.
- Quintarelli, G., 1963, Histochemical Identification of Salivary Mucins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 106: 339 - 363, 16 figs. 1 tb.
- Ruedeman, R., 1924, The phylogeny of Cirripedia. *Ann. Mag. Nat.Hist.* 14(9): 533. - 534, 1 fig.
- Spicer, S.S. and Warren, h., 1960, The Hystochemistry of sialic acid containing mucoproteins. *Journ.Histochem,and cytochem.*, 8(2): 135 - 137.

XI - LEGENDAS DAS FIGURAS

Prancha I

- Fig. 1 - Colônia de *Balanus tintinnabulum*
 Fig. 2 - Cypris e *Balanus* de 2 dias de fixação

Prancha II

- Fig. 3 - Canal excretor do cimento
 Fig. 4 - Células glandulares em indivíduos jovens
 Fig. 5 - Corte histológico pelas glândulas de cimento
 Fig. 6 - Glândulas de cimento adultas e em formação
 Fig. 7 - Células glandulares adultas
 Fig. 8 - Células glandulares velhas

Prancha III

- Fig. 9 - Esquema de uma glândula de cimento
 CC - canal coletor
 CHIP - célula da hipoderme
 CIT - citoplasma
 CRO - cromatina
 CTC - célula do tecido conjuntivo
 MC - membrana celular
 MTC - membrana do tecido conjuntivo
 NHIP - núcleo da célula da hipoderme
 NUC - nucléolo

Prancha IV

- Fig. 10 - Esquema da origem das glândulas de cimento
 CC - canal coletor
 CG - glândula de cimento
 CP - canal principal
 CS - canal secundário
 HIP - hipoderme
 INV - invaginação

Prancha VI

- Fig. 11 - Vista lateral de cypris
Fig. 12 - Antenas do Cypris distinta
Fig. 13 - Sistema de canais da base do Balanus
Fig. 14 - Canais circulares e radiais
Fig. 15 - Canal principal e glândulas (CG)
Fig. 16 - Canal principal (CP) e glândulas (CG)

Prancha VI

- Fig. 17 - Esquema do sistema de canais distribuidores do cimento
CIM - cimento acumulado
CIR - canais circulares
CR - canais radiais
SC - saída do cimento
ZC - zona de crescimento

Prancha VII

- Fig. 18 - Esquema explicativo da origem das células glandulares jovens e adultas
CC - canal coletor; CE - canal excretor; CF - células adultas em função; CI - canal circular; CN - células jovens em formação; CP - canal principal; CR - canal radial; CS - canal secundário; HIP - hipoderme; NU - núcleo das células hipodermis; NUC - nucleólos.
- Fig. 19 - Esquema explicativo da origem dos canais
CC - canal coletor; CF - células glandulares em função; CG - células glandulares jovens; CI - canal circular; CP - canal principal; CR - canal radial; CS - canal secundário; EN - entrada dos canais; HIP - hipoderme; MTE - manto externo; MTI - manto interno.

Prancha VIII

- Fig. 20 - Corte histológico de 1 μ de espessura, pela região das glândulas de cimento
- Fig. 21 - Glândulas de cimento em diferentes fases de crescimento

Prancha IX

- Fig. 22 - Aspecto citológico de algumas células glandulares
- Fig. 23 - Célula glandular com 2 nucléolos

Prancha X

- Fig. 24 - Aspecto da glândula de cimento visto ao Microscópio eletrônico 3.000X.
- Fig. 25 - Ultra-estrutura da membrana celular 28.000 X.

Prancha XI

- Fig. 26 - Aspecto do retículo endoplasmático na zona de acumulação da secreção 8.000 X.
- Fig. 27 - Ultra estrutura dos elementos citoplasmáticos 21.000 X.

Prancha XII

- Fig. 28 - Ácido ribonucléico, retículo endoplasmático e mucopolissacarídeo - 80.000 X.
- Fig. 29 - Aparelho de Golgi e suas cisternas - 45.000 X.

PRANCHA I

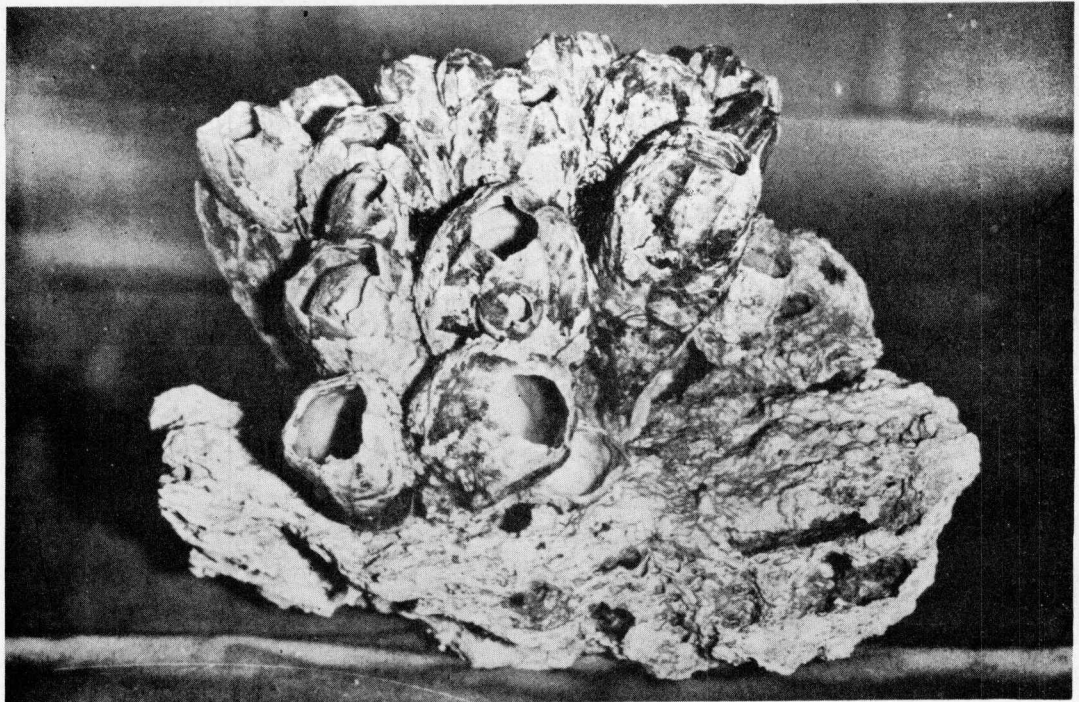


FIG. 1

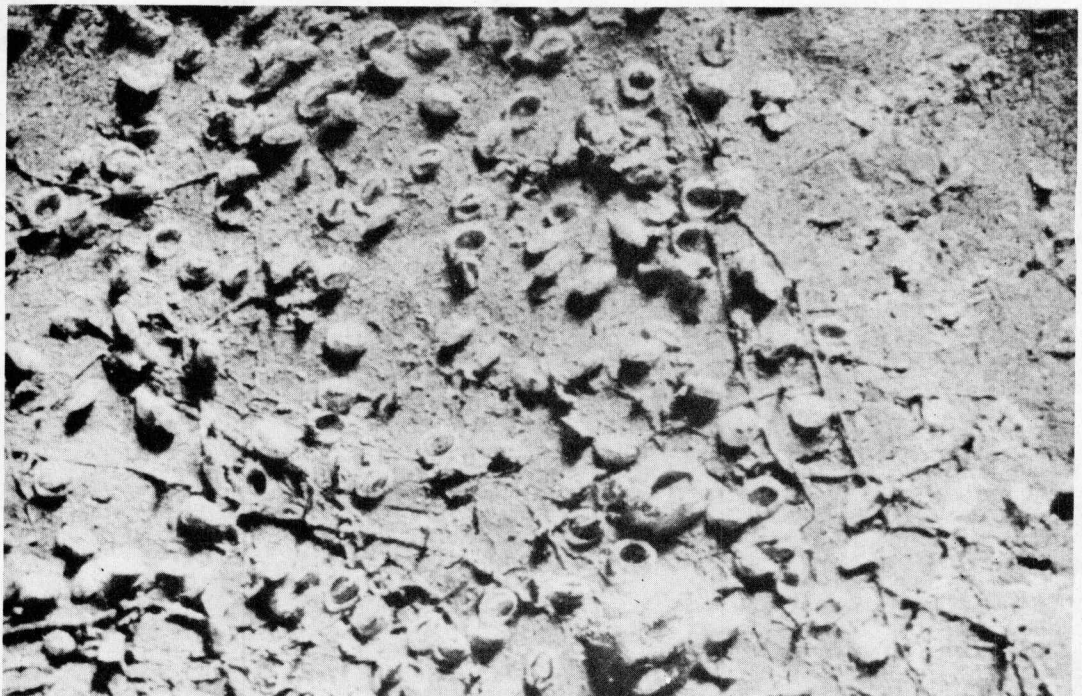


FIG. 2

PRANCHA II

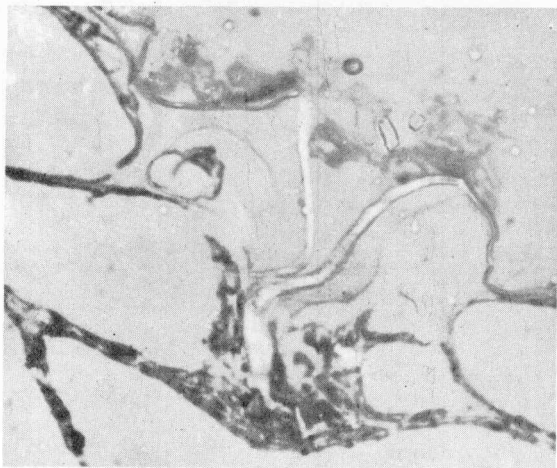


FIG. 3

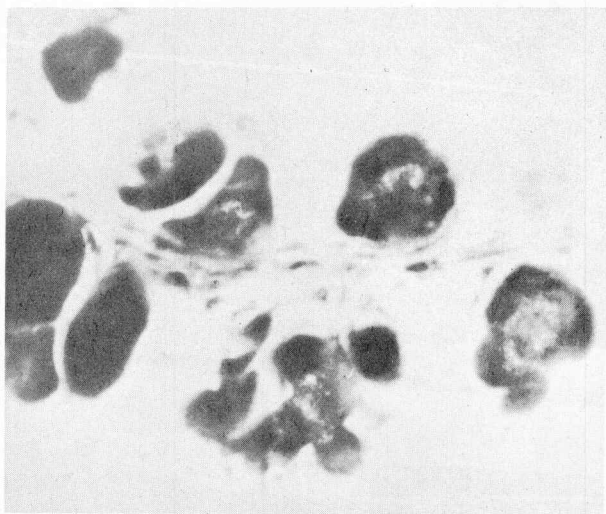


FIG. 4



FIG. 5

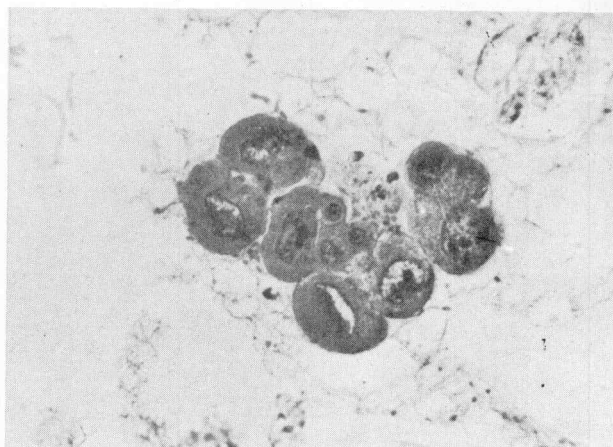


FIG. 6

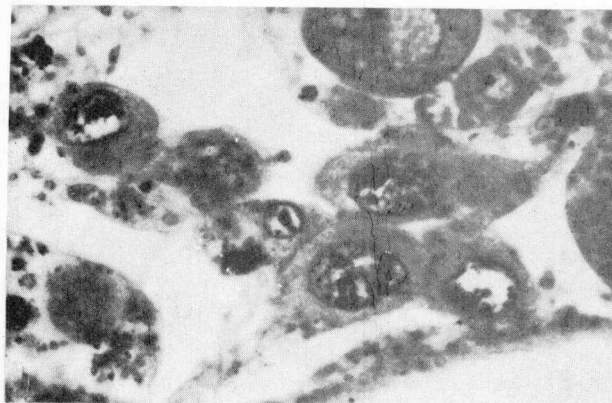


FIG. 7

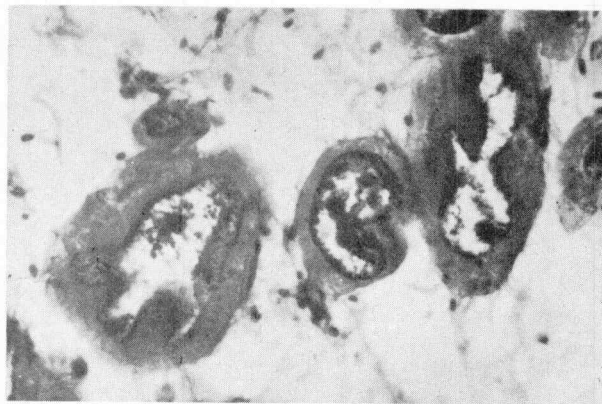


FIG. 8

PRANCHA III

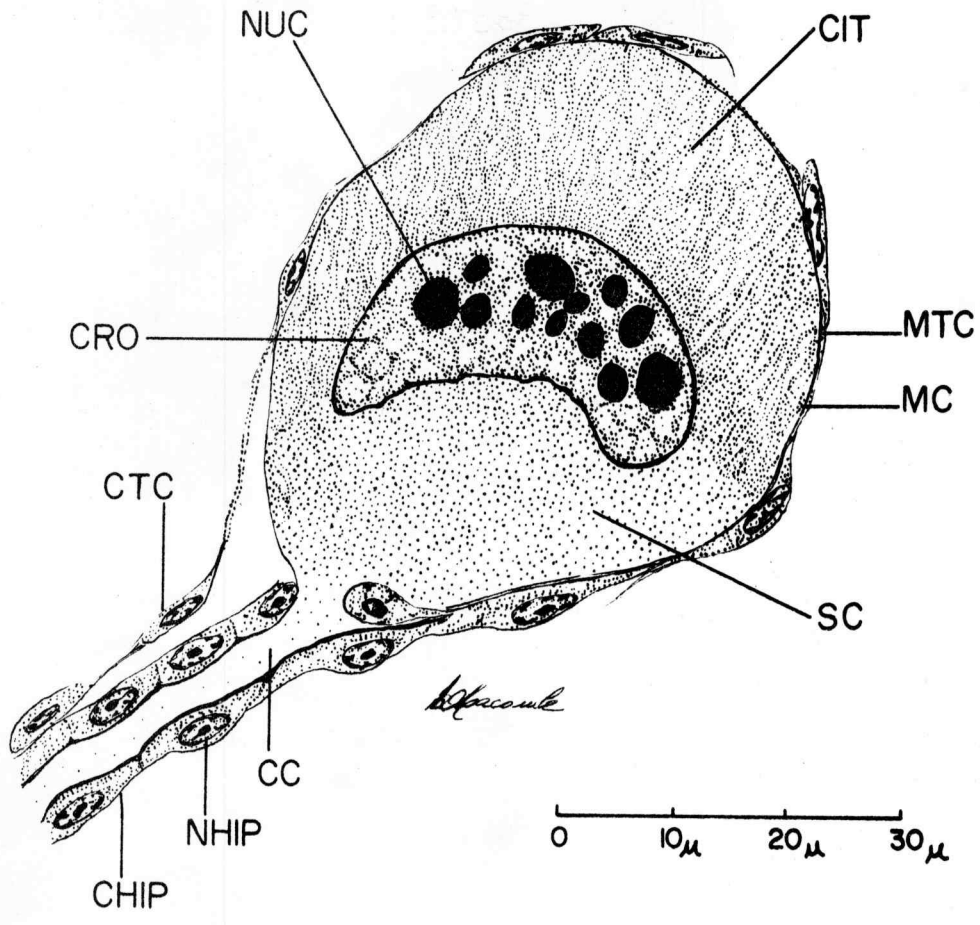
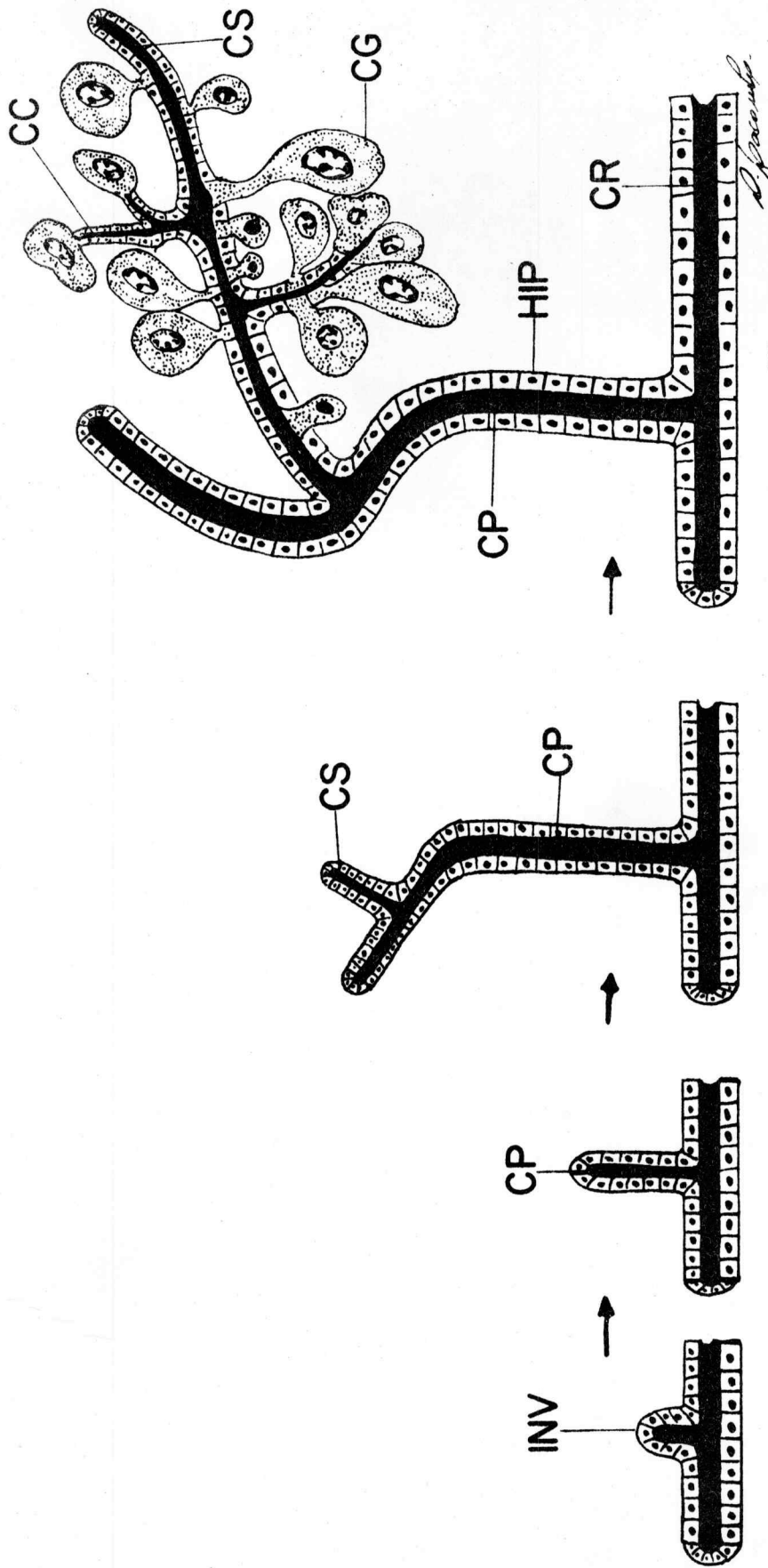


Fig. 9

PRANCHA IV



PRANCHA V



FIG. II

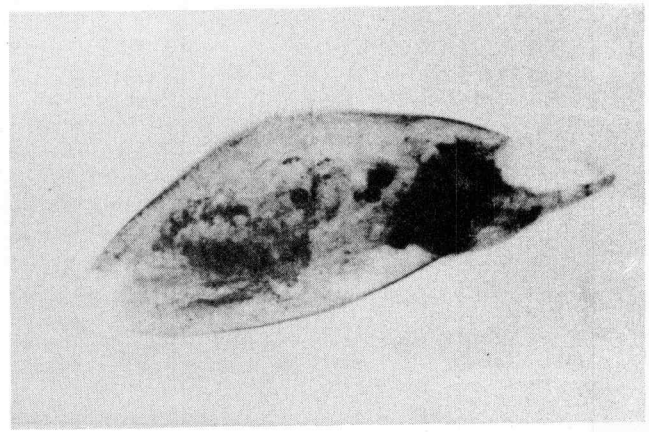


FIG. 12

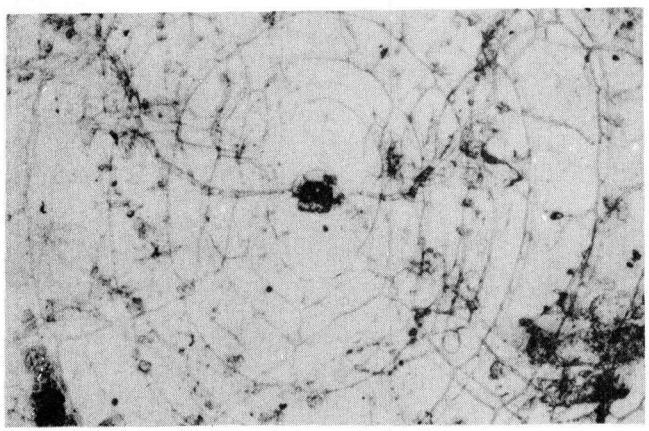


FIG. 13

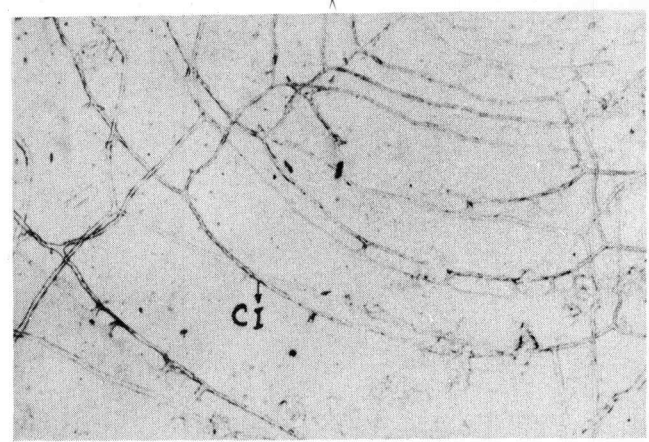


FIG. 14

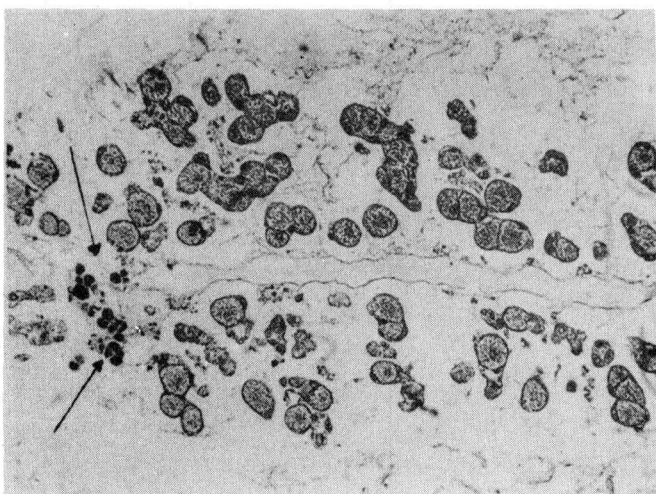


FIG. 15

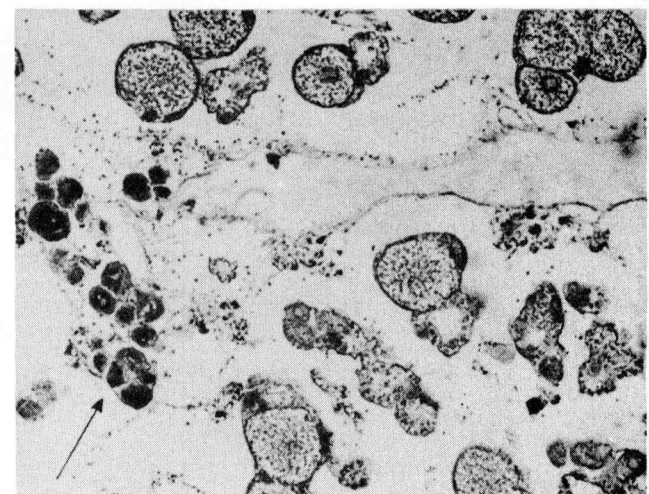


FIG. 16

PRANCHA VI

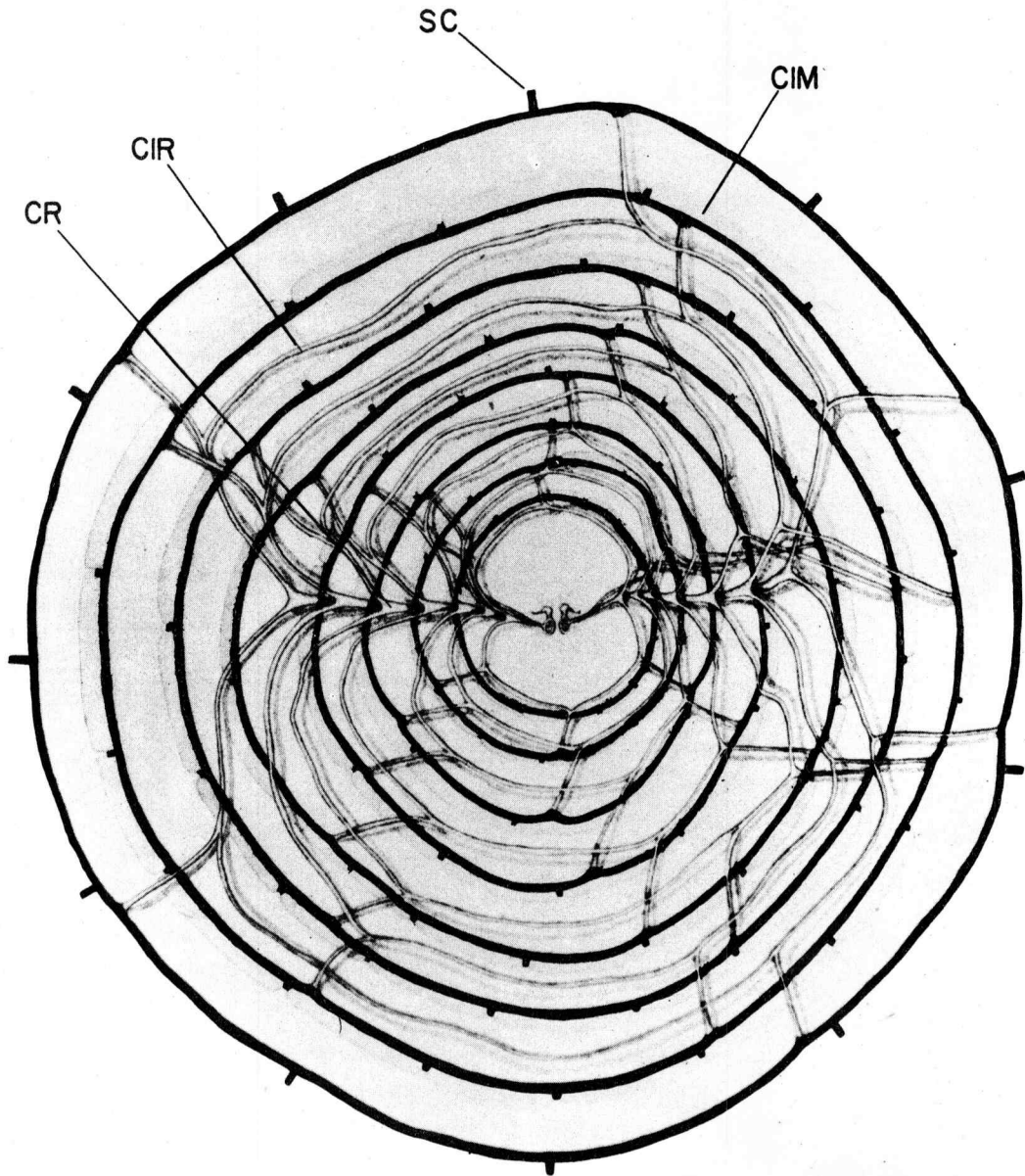


FIG. 17

PRANCHA VII

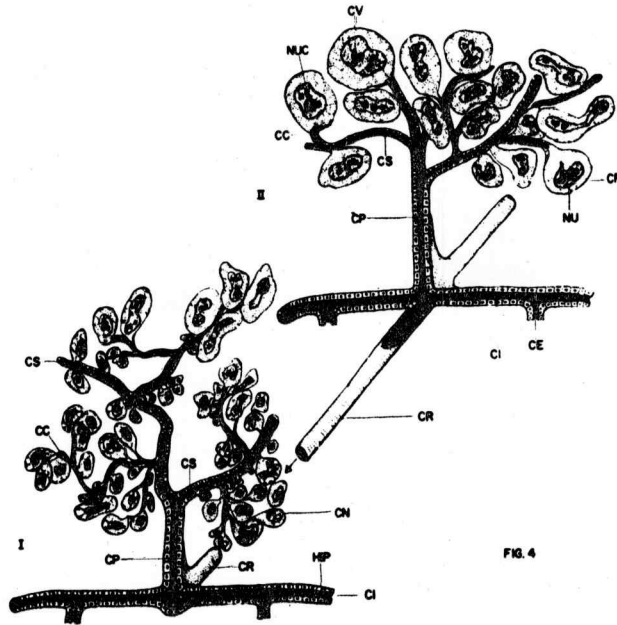


FIG. 18

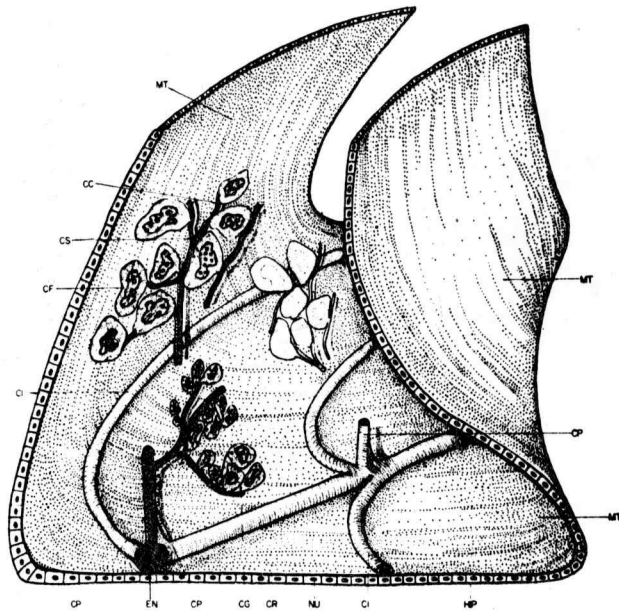


FIG. 19

PRANCHA VIII

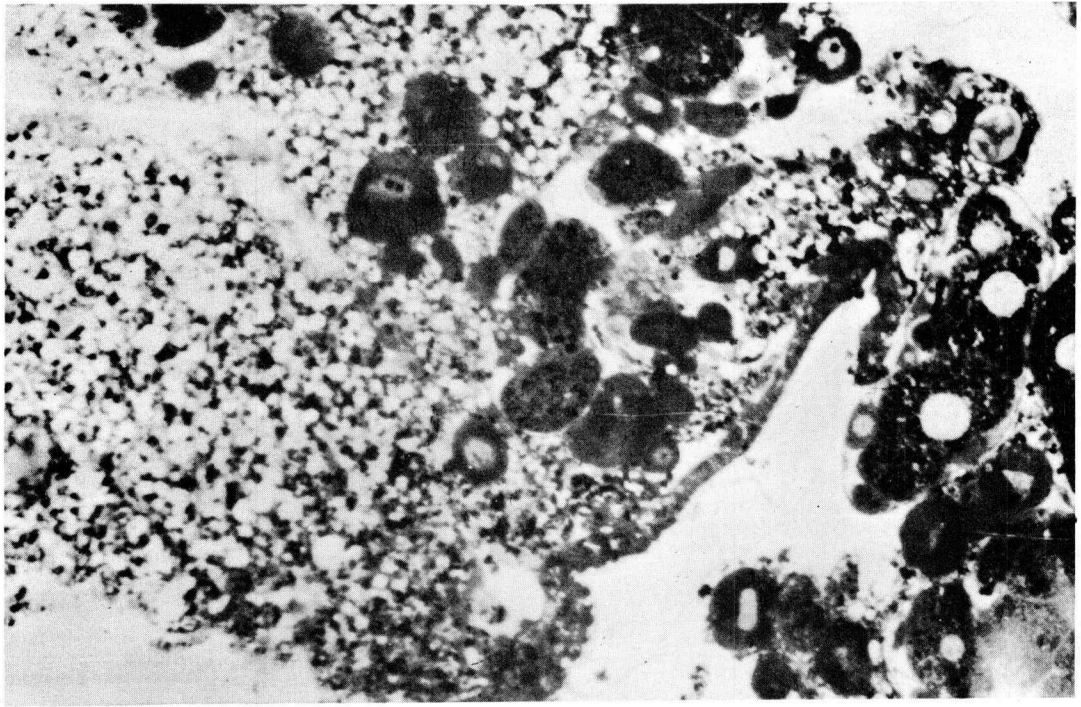


FIG. 20

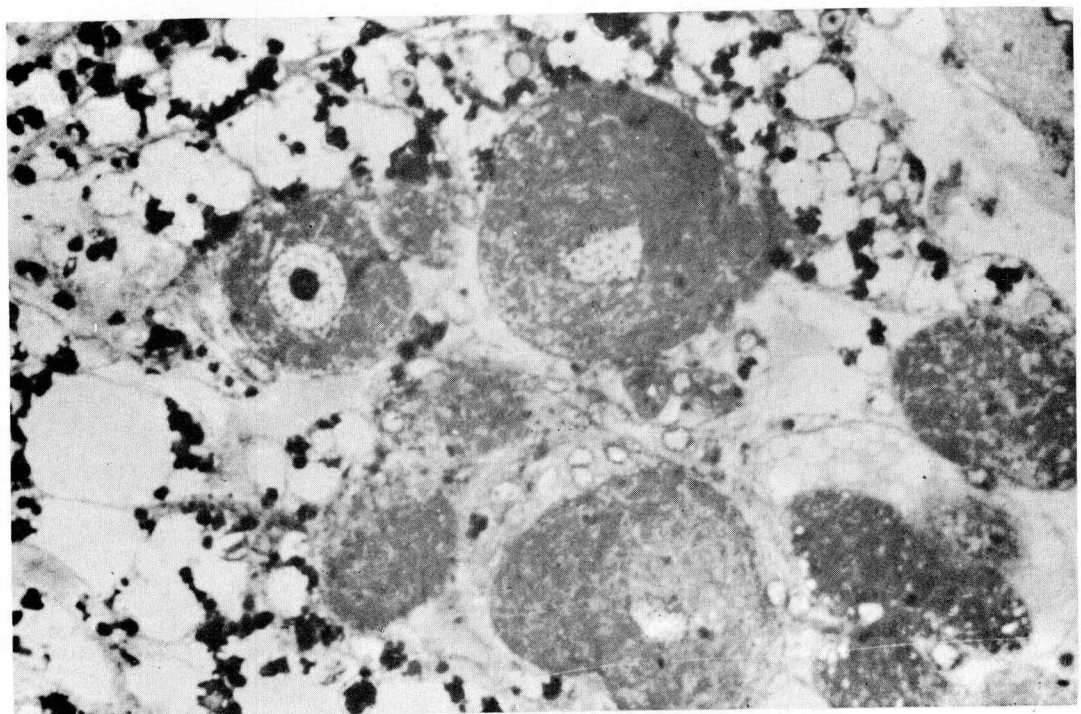


FIG. 21

PRANCHA IX

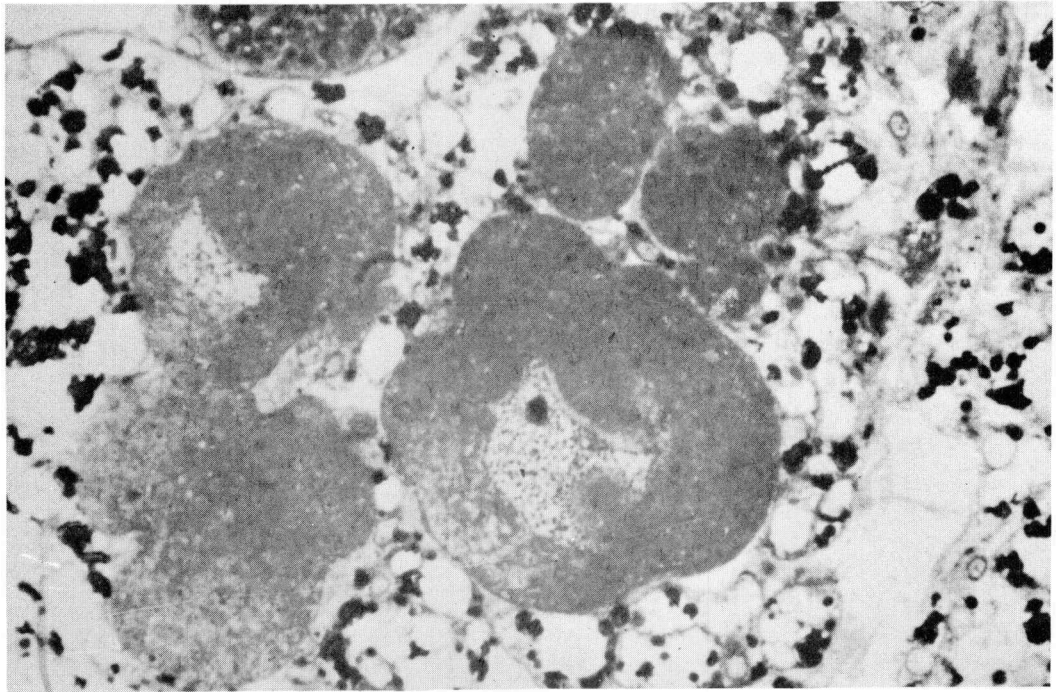


FIG. 22

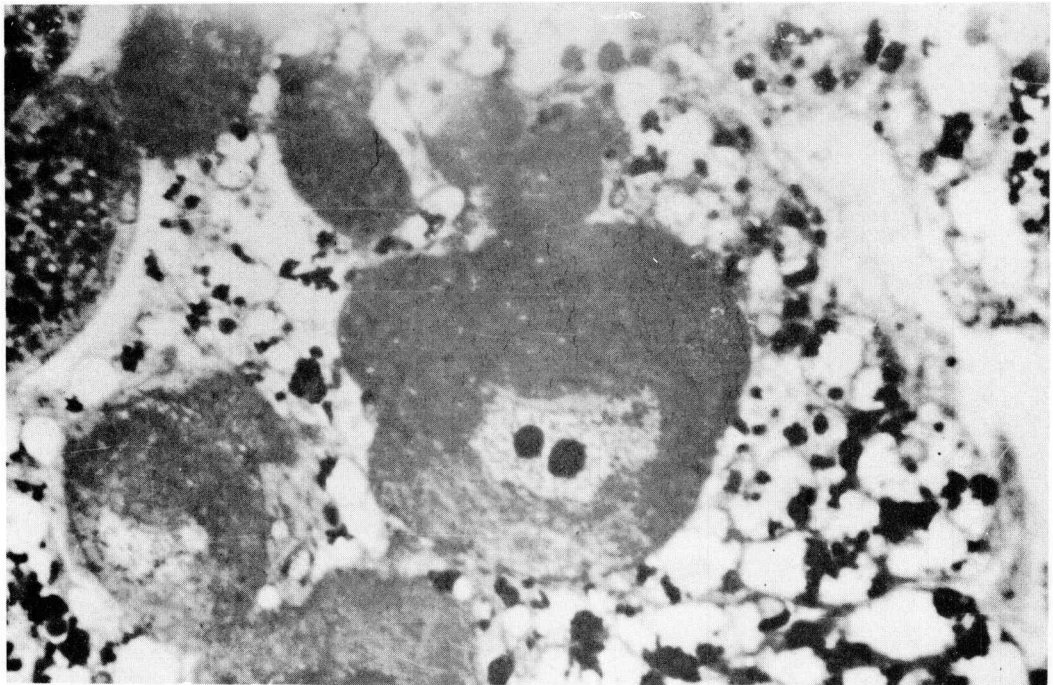


FIG. 23

PRANCHA X

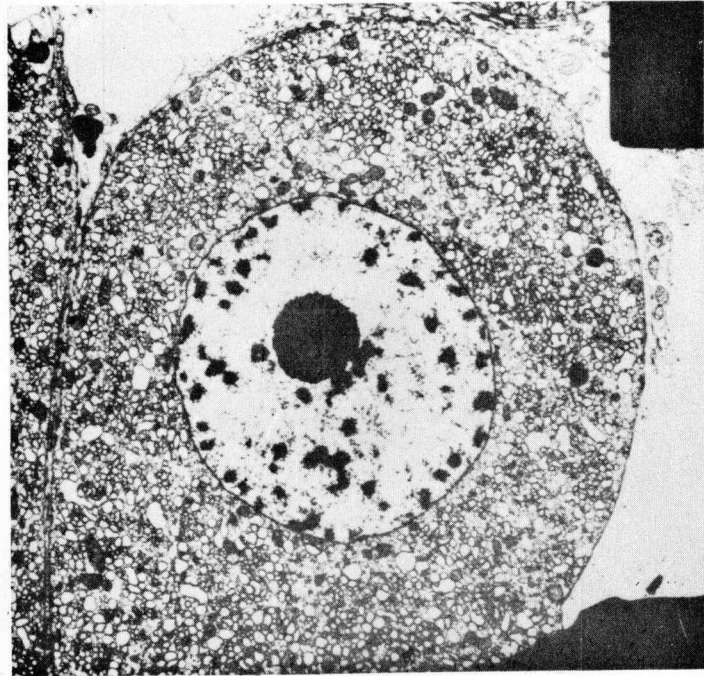


FIG. 24

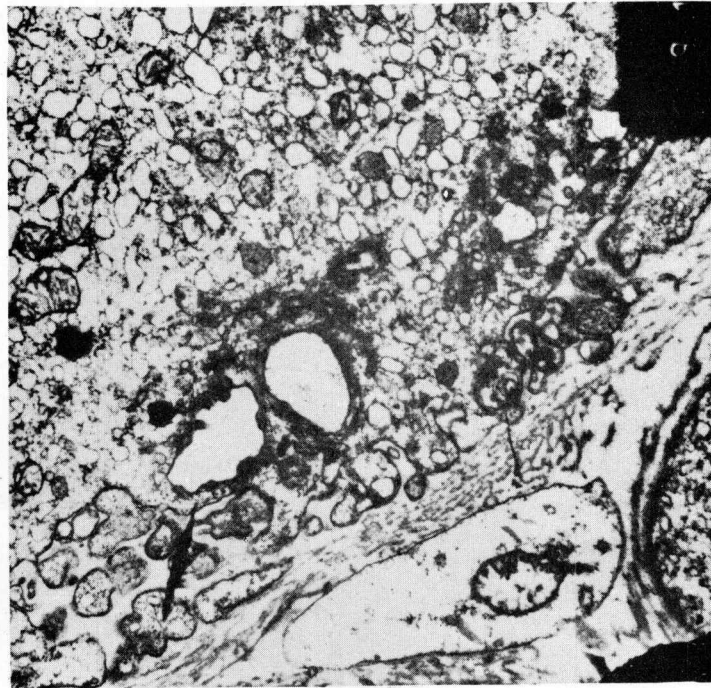


FIG. 25

PRANCHA XI

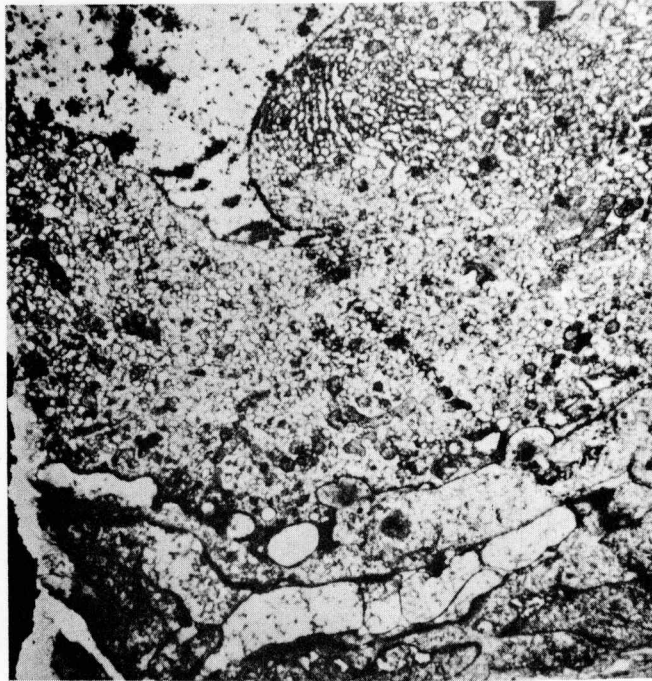


FIG. 26

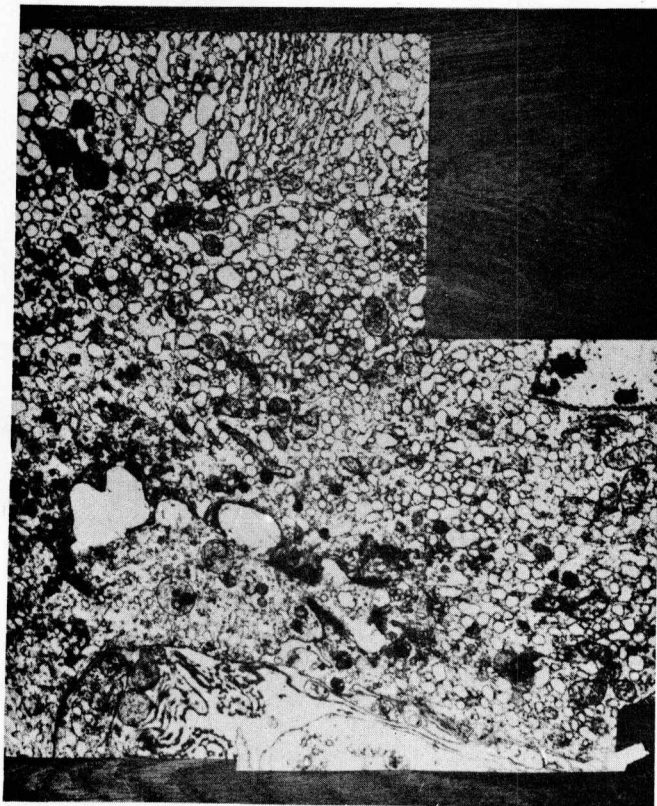


FIG. 27

PRANCHA XII

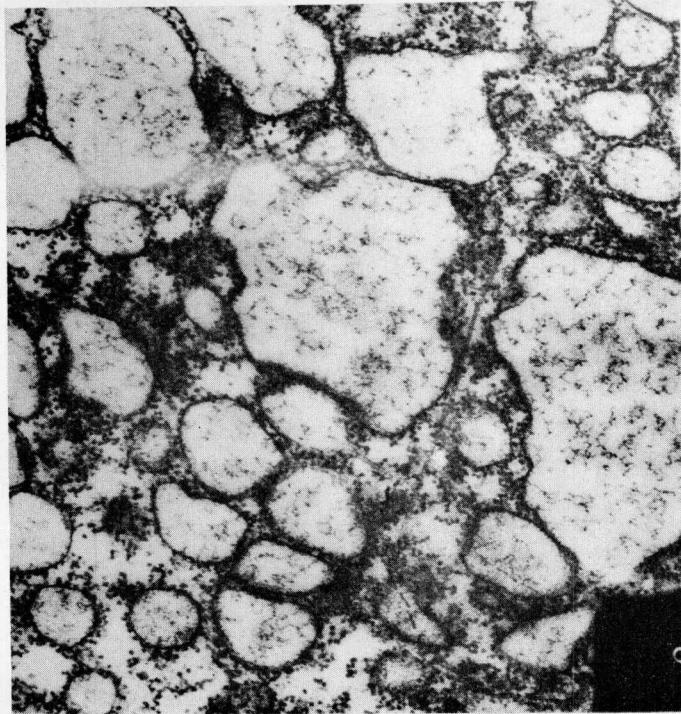


FIG. 28

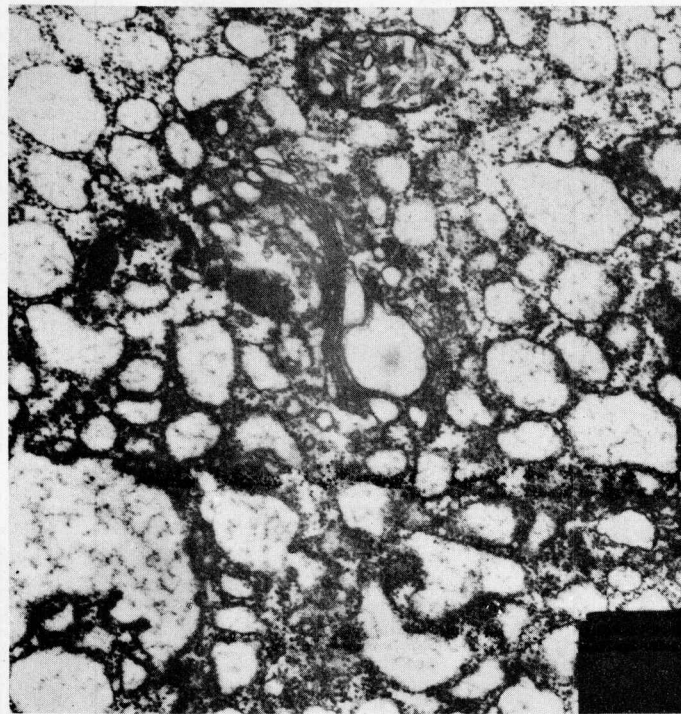


FIG. 29