

Sobre a mudança da côr nos Crustaceos

Contribuição para o estudo da Fisiologia dos Cromatóforos e dos Hormônios dos Invertebrados.

POR

Paulo Sawaya

[Catedrático de Fisiologia Geral e Animal — Departamento de Zoologia].

SUMÁRIO (*)

(Com 4 Estampas, I-IV e 17 figuras no texto)

	PAGS.
I. Introdução	5
II. Da mudança de côr nos animais em geral	7
III. Cromatóforos dos Vertebrados em geral	11
IV. Cromatóforos dos Invertebrados	26
V. Cromatóforos dos Crustaceos em geral	28
VI. Cromatóforos dos Isópodos	51
VII. Parte experimental	57
a) Material e técnica	57
b) Influência do substrato	62
c) Macerado de cabeças de <i>Ligia exotica</i> claras	66
d) Macerado de cabeças de <i>Ligia exotica</i> escuras	67
e) Macerado de pedúnculo ocular de <i>Eriphia gonagra</i>	71
f) Hipófise de <i>Felichthys bagre</i>	72
g) Hipófise de <i>Bufo marinus</i>	74
h) <i>Leptodactylus ocellatus</i>	78
i) Luz monocromática	81
VIII. Microdissecção de Cromatóforos	82
IX. Sobre o "orgão X" de <i>Eriphia gonagra</i>	85
X. Discussão	87
XI. Conclusões	92
XII. Summary	94
XIII. Literatura	97

(*) Tese aprovada no concurso para Professor Catedrático de Fisiologia Geral e Animal da sub-seccção de Ciências Naturais.

INTRODUÇÃO

Dentro do extenso grupo dos Invertebrados, os Crustaceos ocupam lugar de relevância não só por ser a Classe mais numerosa que habita a água doce e salgada, como por possuir a particularidade especial da mudança da côr. Em virtude de tal propriedade, têm sido êles estudados, á luz da Fisiologia, mais que outro qualquer grupo de Invertebrados. Os conhecimentos atuais sobre a fisiologia destes Artrópodos progrediram nestes últimos anos de maneira consideravel, principalmente graças a uma quantidade bastante numerosa de trabalhos, de modo particular sobre os **Macrura**. A aplicação de modernos processos de pesquisas morfo-fisiológicas, como sejam o das transfusões de sangue, o da luz monocromática, o da cobertura total ou parcial dos órgãos visuais, concorreu com bastante eficiência para a obtenção de conhecimentos sobre a fisiologia da mudança da côr, nas principais sub-ordens destes **Branchiata**.

Não obstante toda a grande quantidade de fátos até agora acumulada, pareceu-me de certo modo importante, não sómente procurar confirmar em certos Crustaceos habitantes comuns do litoral de S. Paulo, alguns dos resultados já conseguidos por outros pesquisadores, como tambem investigar novas questões da fisiologia destes animais tão interessantes.

Precisamente aquela qualidade, toda particular, da alteração transitória da côr, própria dos Crustaceos, embóra já tenha sido focalizada sob muitos aspectos, é a que ainda hoje apresenta uma série de problemas á espera de solução por parte, não só de morfólogos, ou melhor de histólogos, como de fisiólogos, de químicos e mesmo de endocrinólogos.

Aproveitando a oportunidade de ter á mão uma grande quantidade de **Isopoda** vivos, e sendo esta subordem dos Crustaceos aquela, até agora, menos pesquisada no sentido da mudança da côr, resolvi realizar em alguns dos seus representantes, experiências que me pareceram favoraveis para atingir a méta acima aludida.

A estada durante uma excursão científica, em uma das Ilhas do litoral de S. Paulo, permitiu-me executar uma série de experiências nestes assuntos, e são precisamente os resultados destas pesquisas o que pretendo relatar neste trabalho.

Dentre os t emas que tomei para estudo, destaco aquele da horm nio-fisiologia. Conhecidos são os progressos desta parte importantíssima da fisiologia comparativa. Abrange ela actualmente um campo vastíssimo, podendo mesmo ser considerada uma ciência   parte, a endocrinologia. Tais progressos, porém, acham-se ainda limitados aos Vertebrados. No outro grupo, bem mais extenso que este, i.  , no dos Invertebrados, uma grande quantidade de questões se apresenta, mas apenas se iniciam os trabalhos para a sua soluço. Nos **Arthropoda** principalmente, nos **Tunicata**, nos **Mollusca** já se admite a propriedade incretória de certos orgãos. Ultimamente, sob o título de "horm nios dos invertebrados" já têm aparecido algumas tentativas de sínteses de vários trabalhos especializados, particularmente no domínio da fisiologia e da química.

Pretendo dar aqui, como disse, os resultados das minhas experiências sobre a fisiologia dos cromatóforos, a qual, como se sabe, se acha intimamente ligada à fisiologia dos horm nios. Julguei, não sem propósito, fazer também algumas breves considera es sobre estas células pigmentárias tanto nos Vertebrados onde exercem papel importante, como nos **Cephalopoda** onde adquiriram um lugar excepcional, pelas suas características marcantes.

Assim, precedendo os capítulos da parte experimental, darei uma resenha da literatura sobre os cromatóforos dos Vertebrados e dos Invertebrados em geral, entre estes últimos insistindo especialmente nos dos Crustaceos.

Deste m do, penso possa ter contribuido para, pelo menos, despertar o interesse para um estudo que se acha na ordem do dia nos principais centros de pesquisa da fisiologia comparativa.

Cumpre-me agradecer primeiramente ao Professor Dr. Ernst Marcus pelo interesse com que acompanhou este trabalho,   D. Gertrud Siegel, Alzira Sawaya e João Eufrosino pelo auxílio prestado na parte técnica e aos Exmos. Snrs. Diretores do Clube de Pesca de Santos e Instituto de Pesca M ritima, particularmente aos Snrs. Orlando Esteves e João Paiva Carvalho a gentileza de facilitarem a estada na Ilha das Palmas.

DA MUDANÇA DE CÔR NOS ANIMAIS EM GERAL

Antes de tratar propriamente dos cromatóforos dos Crustaceos, um dos objectivos essenciais deste trabalho, julguei oportuno resumir nestas considerações gerais um dos aspectos mais importantes que muitos animais vivos apresentam com relativa frequência, como seja o da mudança de côr.

Esta propriedade é espalhada no reino animal, e desde ha muito atraíu a atenção de grande número de observadores. Assim, por ex., já em 1834 Milne Edwards (p. 53) conclúia de suas observações sobre o Camaleão que a mudança de côr não depende essencialmente nem do entumescimento mais ou menos consideravel do corpo nem das mudanças que pôdem resultar do estado do sangue e da circulação. Indíca na péle destes animais duas camadas de pigmento superpostas, mas dispostas de maneira a se poderem mostrar simultaneamente na epiderme ou então esconder-se uma sob a outra. Deslocamentos dos pigmentos profundos pôdem realizar-se efectivamente, e daí a capacidade do Camaleão mudar a côr durante a vida, podendo tambem dar-se o fenômeno depois da môrte. Já nessa época este A. (l. c., p. 54), estabelecia analogias entre a mudança da côr nos Repteis e o desaparecimento successivo das manchas coradas no manto dos **Cephalopoda**.

Como é sabido, em todas as classes de Vertebrados, encontra-se o fenômeno da mudança da côr. Ha, porém, a distinguir aquella que se faz periodicamente nos homeotermos, nos quais se dá provisoriamente uma alteração do colorido por efeito do metabolismo do animal. Nesta categoria enquadram-se, por ex., a tróca dos pêlos dos Mamíferos e sua pigmentação, da qual grande número de AA. se occupou, como o demonstra recentissimamente Serra (1939, p. 238) em Portugal; a fotoperiodicidade das Aves, etc. (Lutz 1931 p. 9; Bissonnette 1937 p. 241 e muitissimos outros AA.). Outro é o fenômeno nos poiquilotermos. Nestes, a mudança da côr que se opéra em tempos muito variaveis é dependente de numerosas causas tanto intrínsecas como extrínsecas. Uma mudança assim rápida da côr, é privativa dos poiquilotermos (Plate 1922, p. 99). Nos Invertebrados tal capacidade, mais caracteristica nos **Crustacea** e nos **Mollusca**, é, do mesmo módo que nos poiquilotermos, causada por elementos

especiais providos de pigmentos dotados da particularidade de expansão e contração, denominados cromatóforos.

Os fenômenos da mudança de côr em intervalos de tempo bastante variados, vêm sendo de ha muito objeto de estudo por parte de numerosos investigadores. Ha neste ponto, por assim dizer, uma verdadeira associação de estudos em que colaboram ininterruptamente, como veremos, tanto os químicos como os morfólogos e os fisiólogos.

Nos poiquiloterms, realmente, o efeito da luz e da obscuridade sobre os animais, determinando a mudança da côr, foi um facto de preocupação constante dos pesquisadores. Corre êle por conta dos movimentos de expansão e contração dos cromatóforos já referidos.

Sobre a natureza destes elementos pigmentados não poucas têm sido as dúvidas entre os AA. Cromatóforos no sentido adotado nos tratados usuais, como sendo células ramificadas, ocorrem realmente tanto nos Invertebrados como nos Vertebrados. Nos primeiros encontramos-os por ex. nos **Platyhelminthes (Turbellaria)**, Schneider 1902, Fig. 321, p. 304); em **Hirudinea** (Leydig 1849, p. 105; Schneider, l. c., Fig. 394, p. 428 e 438; Myers 1935, p. 629) e em **Echinodermata** (Schneider l. c., p. 655).

Verne (1926, p. 242) indica a presença de células pigmentárias mesenquimatósas em **Spongiaria**, **Medusas**, **Echinodermata**, **Vermes**, **Gasteropoda**, nos quais a substância pigmentária seria movel. Lembra, todavia, que a histología e a gênese de tais células são ainda mal conhecidas. Dentre os Invertebrados, porém, o desenvolvimento destas células é notavel nos Crustaceos e nos Cefalópodos.

A presença de células pigmentárias não é indispensavel para que haja a mudança de côr. Assim, por exemplo, no grande subfílo dos **Arthropoda-Tracheata (Hexapoda)**, de matizado tão interessante sob varios pontos de vista, são escassos os cromatóforos, achando-se os pigmentos colocados na cutícula, na epiderme, no corpo adiposo ou em outras regiões diversas, mas aí dispostos em fórma de grânulos (Schroder 1928, p. 5 a 16; Weber 1933, p. 13-14, entre outros). Schleip (1910, p. 73) afirma que os cromatóforos são raros nos Insectos. É bastante conhecida por exemplo a capacidade toda especial da mudança de côr com ausência de cromatóforos, como no bem estudado **Dixippus (Carausius) morosus** (Schleip l. c., p. 75 e seg. e em muitos trabalhos deste e de outros AA.), no qual, mesmo pedaços transplantados da pele de um para outro **Dixippus**, seguem o ritmo da mudança de côr do hospedador (Janda 1936, p. 183).

Pretendendo tão sómente cuidar dos cromatóforos dos Crustaceos, apenas de passagem poderei referir a tais casos da alteração da côr tanto nos Invertebrados como nos Vertebrados que dependem ou não de tais elemen-

tos pigmentários. Seja dito também que deixarei completamente de parte os cromatóforos existentes nos olhos da maioria dos animais inclusive o Homem, o qual, como é sabido, deles é provido na esclerótica, na coróide e na íris (Lauber 1936 p. 71, 109, 196), e mesmo no derma (Adachi p. 16; Grieco 1931 p. 52-58).

Sendo tão espalhados os cromatóforos no reino animal, condicionando-êles a mudança de colorido do corpo, deverá ser considerada, pelo que acima foi dito, por demais restrita a frase de Abramowitz (1935, p. 677) quando afirma que as mudanças de côr nos Invertebrados são limitadas aos Crustaceos e aos Cefalópodos.

Além da natureza, é a denominação de tais elementos ainda discutida. Assim Sumner (1933a, p. 284) propôs fossem denominados "cromatosomas" por ser impróprio dizer-se que os cromatóforos se contráem ou se expandem. Não obstante as contraditas de Mast (1933, p. 435; 1934, 249) e de Parker (1934c, p. 428) e a manutenção do mesmo termo por Sumner (1934, p. 11), a designação de cromatóforo ficou de um modo geral adotada pelo uso. Ainda neste ponto alguns AA. preferem dar a tais elementos uma denominação que revele sua importancia, como seja a de "orgãos cromáticos" indicada por Becher (1929, p. 180).

Admitida a natureza celular dos elementos condicionadores da mudança de côr, lembro que Prenant (1904, pp. 587-588) distingue as células pigmentárias das pigmentadas. As primeiras são elementos cuja função, á exclusão de qualquer outra, é de produzir o pigmento. A presença deste seria, em tais células, um caráter constante e obrigatório. Trata-se de uma espécie de célula determinada, célula mesenquimatosa nutritiva e fixa, no dizer daquele A. As células pigmentadas são elementos que possuem uma outra função, sendo ocasional a presença do pigmento.

Éternod e Robert (1908, p. 121) não participam da opinião de serem as células pigmentárias, a que designam como cromatocitos, melanocitos, cromatóforos, etc., de natureza conjuntiva carregadas de pigmento. Para estes AA., tais elementos formam um sistema orgânico especial tanto sob o ponto de vista anatômico como sob o funcional, i.é, constituem o sistema pigmentário. Biedermann (1926, p. 180) distingue os melanóforos da pele e os do tecido conjuntivo nos Anfíbios em seu excelente trabalho sobre a fisiologia comparativa do tegumento dos Vertebrados, admitindo a sua natureza conjuntiva. Millo t (1929, p. 20), no entretanto, separa dos cromatóforos propriamente ditos, as substancias pigmentárias e afirma que estas, uma vez colocadas naqueles, se tornam notavelmente estaveis, nada dizendo, porém, sobre a qualidade das células respectivas.

Dentro do critério de Prenant os cromatóforos objeto deste estudo, poderão também ser denominados células pigmentárias. Verne (1926,

p. 240) pretende conservar uma distinção entre as células que elaboram o pigmento e aquelas outras que transportam um pigmento estranho a elas, e a que designa ora de cromatóforos, ora de cromatócitos.

Bloch (1921, p. 90) tem aliás a precedência nesta opinião, i.é, que as células do cório normal não elaboram o pigmento *in situ*, limitando-se sómente a reabsorver as granulações que lhes são trazidas. Não são pois melanoblastos (produtoras de pigmento), mas cromatóforos (portadoras de pigmentos). Esta referência ao trabalho de Bloch é feita aqui apenas para dar o seu ponto de vista, idêntico ao de Verne o qual prevalece ainda no estudo do pigmento dos Vertebrados, de modo especial nos Mamíferos, objeto de interesse principal de ambos estes AA. Nos Invertebrados o termo cromatóforo já se acha amplamente empregado, sem designação específica de portador ou produtor de pigmento. Sendo mais frequente a ocorrência da melanina em tais células, comumente são designadas, neste caso, de melanóforos.

No filo dos Vertebrados, cabe sem duvida, aos poiquiloterms **Anamnia** o terem seus cromatóforos mais bem conhecidos. Não sómente a sua morfologia como também a fisiologia já se acham esclarecidas em muitos pontos.

Deixando de lado, completamente, a classificação das células pigmentárias, na qual se encontra uma multiplicidade de designações baseadas em grande parte na natureza química do pigmento que possuem, lembro apenas que Fuchs (1914, p. 1189 e seg.) trata deste assunto extensissimamente, e depois d'ele numerosos AA. se preocuparam com o mesmo, como sejam Verne (1921, p. 58; 1926, p. 243), Schmidt nos seus numerosos trabalhos a partir de 1912 em diante, Ballowitz (1931, pp. 505-520) e muitos outros AA. a que poderão recorrer os interessados.

Poderemos distinguir no estudo da mudança de cor e dos elementos responsaveis correspondentes, sob o ponto de vista das pesquisas numerosas até agora realizadas, dois grupos fundamentais, a saber: 1. nos Vertebrados poiquiloterms; 2. nos Invertebrados, de modo especial nos Crustaceos e nos Cefalópodos.

Apenas como introdução ao estudo dos cromatóforos dos Crustaceos, darei a seguir resumidamente, os pontos essenciais relativamente aos dos grupos acima lembrados, e de modo exclusivo no que possam interessar ao presente trabalho.

CROMATÓFOROS DOS VERTEBRADOS EM GERAL

As células pigmentárias apresentam-se quasi sempre ramificadas, sendo as ramificações muitas vezes regulares e simétricas, irradiando-se ao redor do elemento que toma assim uma fôrma estrelada (Verne l.c. p. 245). Tais prolongamentos foram designados com o nome de cromorizas. Degner (1912a, p. 24) em seu importante estudo sobre a estrutura e a função dos cromatóforos, aponta as cromorizas contendo grânulos de pigmento, os quais nelas transitam num e noutro sentido, i.é, celulífugo e celulípeto. Dá ainda para tais cromorizas uma estrutura fibrilar bastante característica.

Nos Peixes afirmam Bolk (1908, p. 135) e Éternod e Robert (l.c., p. 123) que os melanoblastos se dispõem em uma ordem perfeitamente metamérica. Em *Alburnus lucidus* de 2cm., o primeiro A. citado notou inicialmente os melanoblastos em uma área dorsal triangular na cabeça. Segue-se logo a fileira de pigmentos da linha lateral. Cada segmento, no qual a linha lateral se mostra dilatada, contem um único melanoblasto. E em *Atherina* (l.c., p. 137) a série pigmentária da linha lateral aparece em primeiro lugar, mas uma ordem metamérica rigorosa aqui não se verifica. Quasi ao mesmo tempo porém, aparece nas linhas medianas dorsal e ventral um conjunto de melanoblastos, dispostos metamericamente de modo bem nítido, havendo uma célula para cada segmento.

Estes elementos celulares pigmentários são providos de nervos, pelo menos nos Anfíbios e nos Peixes. Harless (1854, p. 378); Pouchet (1872, p. 405); Knauth (1891, p. 74); Malard (1893, p. 114) já admitiam a presença de nn. nos cromatóforos. Foram, porém Ballowitz (1893a, pp. 677-703; 1893b, p. 73) e Eberth (1893, p. 71) que demonstraram nos cromatóforos da pele de Peixes e de Anfíbios uma inervação característica.

Ao primeiro destes AA. últimos citados se deve principalmente o conhecimento mais acurado da inervação dos cromatóforos. Os métodos de impregnação metálica permitiram ao mesmo observar como para cada melanóforo se aproximam uma ou ás vezes um grande número de fibras nervosas finas ou grossas. Na circunjacencia da célula pigmentária, cada um destes ramos se bifurca em uma imênse quantidade de delgadas fibrilas. A maioria delas se dirige para a periferia e fôrma, aí, tambem uma rêde

cujas terminações nervosas ou atingem as papilas cutaneas ou terminam entre os elementos epiteliaes. Segundo Ballowitz (l.c.) ao redor do melanóforo por assim dizer, se formam duas placas de terminações nervosas não separadas uma da outra mas unidas por ramificações múltiplas que perfuram o corpo do melanóforo. Estas pesquisas foram confirmadas por Eberth e Bunge (1895, p. 376) e em parte por Golovine (1907 p. 869), entre outros.

Trabalhos fisiológicos vieram também demonstrar já desde Pouchet (l.c.) a influência do sistema nervoso sobre os cromatóforos, cujas propriedades peculiares de contração e expansão, também conhecidas por sístole e diástole (Éternod e Robert l.c., p. 121) e em que se dão o fluxo e o refluxo dos grânulos pigmentários se realizam ainda sob a influência quer activa quer passiva destas células.

Os pesquisadores mais antigos criam que os cromatóforos fossem células amiboides providas de processos semelhantes a pseudopodos que se projetavam nos espaços intercelulares circunjacentes. Na fase de contração os processos seriam retraídos. Hocker (1914, p. 241 e 243) de seus estudos sobre os melanóforos de Anfíbios, girínos e adultos, conclúe que estes elementos se encontram em espaços preformados no tecido conjuntivo e no cório respectivamente, por onde se expandem e se retraem. Ballowitz (1914, p. 184) em **Gobiidae** pretendeu que os processos da célula não são retraídos, mas que os grânulos de pigmento se movem distal e proximalmente dentro deles. A este fenômeno o referido A. (l.c., p. 193) denomina "dança dos grânulos" ("Körnchentanz") ou "jogo da bóla" ("Kugelspiel"). Pela observação de um mesmo cromatóforo em escâma de **Fundulus heteroclitus** e respectivas fotografias feitas em série, determinou este A. o aludido movimento dos grânulos do pigmento. Ainda em Peixes, foi verificado (1913a, p. 86; 1913b, p. 475) que a mudança da cor na pele se altera extraordinariamente segundo os gêneros dos Peixes osseos em virtude da existência bem variável de associação de pigmentos. Em **Trachinus vipera** descreve a associação de guanino e melanóforos e porisso denominou a respectiva célula pigmentária de melaniniridosoma. Já nas **Gobiidae** encontra o mesmo A. (1913c, p. 82) uma outra associação, a saber de eritróforos e melanóforos. A corrente de pigmentos realiza-se rigorosamente em fileiras radiadas de grânulos que ficam dentro dos finos canaisinhos radiados (l.c., p. 115); o movimento é peculiarmente ondulatório. Tal observação coincide com aquéla já citada de Degner sobre as cromorizas dos cromatóforos dos Crustaceos.

A associação de pigmentos foi também estudada por Schmidt (l.c.) em muitos de seus trabalhos, principalmente nos Anfíbios, distinguindo-a com uma terminologia relativamente complexa.

A influência do sistema nervoso cerebro-espinhal e a do simpático sobre a mudança da cor já admitida por Pouchet (l.c., p. 406) como conclusão de suas experiências em Peixes, foi confirmada por Éternod e Robert (l.c., p. 128) e a seguir acuradamente estudada por v Frisch (1910, p. 18) que, seccionando em **Phoxinus laevis** o simpático no canal hemal, observou de $\frac{1}{2}$ a 1 minuto depois o escurecimento da parte caudal, acentuando-se o mesmo em ca. de 3 minutos e atingindo o máximo de 5-10 minutos. Continuando suas pesquisas, v Frisch (1911, p. 381) ainda em **P. laevis**, verificou a existência de um centro de contração dos pigmentos, localizado na extremidade anterior da medúla alongada. A excitação deste centro produz imediatamente a retracção dos grânulos pigmentários e a destruição do mesmo, a expansão das células respectivas em todo o corpo animal. Como vias de transmissão do influxo nervoso descreve as fibras nervosas pigmento-motôras que do cérebro se dirigem para a medúla dorsal — caudalmente até a região da 15.^a vertebra e daí passam para o simpático, orientando-se para a frente e para traz. Admite ainda este A. a existência provavel, na medúla dorsal de um segundo centro subordinado ao cefálico, para a contração do pigmento, centro esse que se estenderia da 15.^a vertebra até a cabeça. Tais pesquisas de v Frisch foram pouco depois confirmadas pelo mesmo A. (1912, p. 177-178) em **Trigla corax** e **Crenilabrus pavo**. Devo notar ainda que na Truta (1911, p. 368-380) este mesmo zoólogo diz que a cobertura de um olho não produz alteração do animal em fundo branco, i.é, o Peixe não escurece. Sumner (1933b, p. 277) em **Fundulus parvipinnis** repetindo a mesma experiência chegou porém a resultado contrario.

A contração e a expansão destas células pigmentárias se realiza não somente sob a influência do sistema nervoso, mas tambem por outras causas extrínsecas. Assim, os sais de sódio e os de potássio têm efeito sobre os movimentos dos cromatóforos, como foi determinado por Spaeth (1913, p. 523) que imergiu escâmas de Peixe em solução de 0,1M de NaCl e verificou uma expansão dos melanóforos. Focalisou uma porção da escâma escolhida, na qual os melanóforos tinham os seus processos aproximadamente no mesmo plano. Depois de cuidadosamente focalizada a célula sobre a escâma, o que era facilmente dado pela contagem do número dos aneis crescidos, foi tirada uma fotografia da fase expandida. A escâma foi então transferida para a solução de KCl para determinar a contração dos melanóforos. Uma segunda fotografia foi tirada e a escâma, a seguir, foi imersa na solução de NaCl. Na nova expansão, Spaeth verificou que os processos eram os mesmos e idênticos áqueles da primeira fotografia. De tais observações este A. concluiu (l.c., p. 524) que em **Fundulus**, os processos dos melanóforos permanecem exactamente constantes nas

suas dimensões, o que se acha em oposição a quanto foi asseverado por Zimmerman que em 1893 (p. 71) estabelecendo as relações entre os núcleos dos cromatóforos e os grânulos de pigmento, indicou serem variáveis os diâmetros dos prolongamentos respectivos.

Barbour e Spaeth (1917, p. 356) admitindo que os cromatóforos são uma simples célula, procuraram estudar aí a ação farmacológica de diversas substâncias. Escolheram as células pigmentárias de **Fundulus heteroclitus** e verificaram que os melanóforos reagem por uma contração aos aos estimulantes do simpático (epinefrina em uma solução até 1:50.000.000); aos simpáticos depressores (ergotoxina) os melanóforos efectuam primeiro uma concentração dos pigmentos, seguindo-se um relaxamento parcial. Como agentes parasimpáticos foi empregada a atropina (sol. 1:1.000 a 1:100.000 a pilocarpina e a eserina, observando-se expansão dos melanóforos. O uso da acetilcolina não resultou efeito algum, mesmo na diluição de 1:1000.

Lowe (1917, p. 150 e seg.) experimentou a acção do oxigênio sobre as células pigmentárias dos embriões de Truta e observou que na presença deste gaz os pigmentos são expandidos. Substituindo-o pelo hidrogênio, dá-se uma contração, o mesmo acontecendo com a actuação do CO₂.

Outros agentes químicos foram utilizados por este A. (l.c., p. 153) como os sais de potássio (K₂SO₄, KNO₃, KI) e os de sódio (Na₂SO₄, NaCl, NaBr, NaNO₃, NaI) ficando demonstrado o poder de contração dos primeiros e o de expansão dos últimos. A narcose por diversos agentes (alcoois, morfina, cocaína), a excitação pela estriquinina, nicotina, atropina, veratrina, etc. foram também experimentadas. O curáre (l.c., p. 176) causa uma mistura de respostas, i.é, ha areas de melanóforos extendidos e outras em que estão contraídos. O A. julga tal acção desigual pelo efeito do curáre sobre o mecanismo dos nn. periféricos sobre os melanóforos.

Spaeth e Barbour (1917, p. 431) investigaram os efeitos da epinefrina e da ergotoxina sobre os melanóforos de **Fundulus heteroclitus** e verificaram (l. c., p. 439) que a epinefrina causa uma completa contração dos melanóforos, sendo de 1:50 000.000 o limiar efetivo da concentração; que o fosfato de ergotoxina não é nem estimulante nem depressor. As soluções de ergotoxina determinam nos melanóforos, depois de um variado período de contração, eventualmente uma expansão. Os melanóforos que foram submetidos á acção da ergotoxina por algum tempo, não se contraem quando imersos em soluções de epinefrina, mas expandem-se. Seu comportamento é diretamente comparavel áquele de uma variedade de músculo liso típico. A crença de que o melanóforo é em realidade um músculo liso funcionalmente modificado, é, portanto, corroborada pela sua reacção característica á ergotoxina e á epinefrina. O fosfato de ergotoxina

póde reduzir o tempo normalmente requerido para uma contração completa em solução 0,1N KCl, mas nunca inverte a contração notória do KCl.

Por sua vez, Bray (1918, p. 58) fez experiencias com pedaços separados de péle de **Amiurus** com melanóforos completamente expandidos, imergindo-os em soluções de adrenalina. Verificou assim a contração de tais células a saber, numa solução de 1:5.000 sempre imediatamente, e de 1:2.000.000 em 120 minutos. Tomando pedaços de péle com melanóforos contraídos, submeteu-os á acção do éter, notando, ligeira expansão.

Usando a adrenalina, Redfield (1918, p. 312) operando em **Phrynosoma** veio trazer uma confirmação dos resultados de v Frisch já mencionados á p. 13, sobre a existência na medúla dorsal, entre a 8.^a e a 13.^a vertebrae, de estruturas nervosas atravez das quais passam impulsos que causam a contração dos pigmentos. Os impulsos passariam dirétamente da referida região da medúla para as glândulas suprarenaes. Admite ainda este A. a dupla inervação dos melanóforos, i. é, a cérebro-espinhal e a simpática, o que se acha de acôrdo com v Frisch já antes lembrado. Bigney em 1919 (p. 392) chega aproximadamente á mesma conclusão com o emprego da adrenalina nos melanóforos da Rã, o mesmo acontecendo com Kleinholtz que muito recentemente (1938a, p. 487) observou que a adrenalina provoca em **Anolis** uma reacção dos melanóforos, fazendo variar a côr do animal.

Para Gilson (1922, p. 130) e D. C. Smith (1928, p. 184) os productos de secreção interna teem grande influencia na função dos cromatóforos. Os impulsos chegariam á célula atravez do simpático, sendo independentes dos olhos. Tomam como prova deste facto a faculdade que os animais poiquilotermos teem de se adaptar ao fundo-ambiente ("background") quando os olhos são removidos.

A actuação química foi ainda larguissimamente pesquisada nestes orgãos da côr tanto nos Peixes como nos Anfíbios nos estados larvais e nos adultos. Em 1915, Stockard (p. 540) estudando a migração das células do saco vitelino em **Fundulus heteroclitus**, notou que no embrião de dois dias aparecem algumas células que se distinguem das demais pelo seu tamanho maior. Seguindo o seu desenvolvimento, verificou que se diferenciam em um ou outro dos dois tipos de cromatóforos. Poude observar em embrião de 52 horas os futuros cromatóforos pretos, os quais, naquele momento, ainda se mostravam desprovidos de pigmentos. Estes foram notados sómente em um embrião de 72 horas, já possuindo diversos processos ramificados como pseudopodos. Fazendo actuar soluções de adrenalina a 1:1.000, 1:10.000 e 1:100.000 obteve contração das células pigmentárias do encéfalo de **Fundulus**, não acontecendo o mesmo com os cromatóforos pretos ou pardos do saco vitelino. Tal resposta negativa, na opinião do A.,

corre por conta de tais células formarem sincícios ao redor dos vasos sanguíneos do saco vitelino. Se as células pigmentárias são explantadas (Dederer 1921, p. 229) do saco vitelino, migram rapidamente. Mais tarde, pesquisas feitas no mesmo sentido por Wyman (1924, p. 178), demonstraram que as membranas ovulares que envolvem o embrião, são extremamente eficientes como cobertura protetora contra substâncias tóxicas ou nocivas.

Além dos estimulantes químicos, foram empregados no estudo da fisiologia dos cromatóforos outros métodos como transecção de nervos, oclusão da artéria ciática, estímulo eléctrico, transecção da medula espinhal, do n. oculomotor, etc. Kropp (1927, p. 292) que utilizou a maioria destes meios em **Rana pipiens** determinou que os estímulos nocivos, como seja o de arranhar a pele, provocam a contração dos melanóforos, no lugar da irritação. Tal efeito seria causado pela ação directa do excitante sobre as células pigmentárias. Na anémia por oclusão do vaso sanguíneo, os melanóforos assumem uma condição reticular.

A lesão dos nn. produz em geral uma expansão dos melanóforos. Os estimulantes químicos utilizados por Kropp, como seja éter, clorofórmio, cloretona, induziram uma expansão dos pigmentos. O A. (l.c., p. 312) conclúe de suas experiências que o sangue é o mecanismo coordenador para facilitar rápida contração dos melanóforos em resposta aos estímulos nocivos, e em condições de excitação. Tal contração é oriunda do reflexo das glândulas adrenais.

Rowe (1928, p. 663) fez experiências ainda com **Rana pipiens**, sem decerebração, mas depois de branqueadas á luz brilhante em fundo claro. injectando em uma, intraperitonealmente, á temperatura do quarto (ca. 25°C) 0,5cc. de princípio oxitóxico (Oxitocina) equivalente ao extracto pituitario "standard"; em outra 0,5cc. de uma diluição de princípio pressor (Vasopressina) equivalente ao extracto de pituitrina cirúrgica "standard" (Pituitrina S), e uma outra servia de testemunha. Foram injectadas 20 séries de quatro animais cada uma. As conclusões de Rowe são (l.c., p. 669): a oxitocina não estimula os melanóforos da rã; a vasopressina estimula os melanóforos, mas aparentemente a um grão apreciavel menos que um extracto pituitario da mesma potencia pressora; o excitante melanofórico presente no extracto pituitário, póde ser um princípio diferente dos mais intimamente associados com o pressor que com o princípio oxitóxico.

Giersberg (1930a, p. 263-274; 1930b, p. 369) conclúe tambem pela dupla inervação dos melanóforos dos Peixes á vista do comportamento destas células á acção da ergotoxina, da adrenalina, da infundina em suggestivas experiências em **P. laevis**.

Em *Fundulus*, Matthews (1931, p. 476) estudou a migração do pigmento concluindo de suas numerosas experiências que, quando os grânulos largamente dispersos se concentram em pequenas áreas, seria devido a uma migração intracelular destes elementos, e não a uma actividade amiboide da célula. Os processos dos melanóforos não sómente não se retiraram de modo amiboide mas também não se contráem. Com o auxílio de sugestivos desenhos de melanóforos vivos (i. c., p. 475 e 476, Figs. 1 e 2) contidos em escamas deste Peixe e submetidos á acção de soluções "concentradoras" e "expansoras" respectivamente de KCl e NaCl, não pode observar canal algum como os descritos por Ballowitz (1914, p. 185). A membrana limitante dos processos era muito delicada. De fáto, o processo ramificado total quando livre de pigmento é tão pouco diferenciado dos tecidos circunjacentes que não pode ser visto em escâmas frescas por meio algum. Tais estruturas, na opinião do A., são realmente processos de melanóforo e não espaços de tecido preformado. A este proposito quero lembrar que a presença de uma membrana circundando os processos dos cromatóforos foi também admitida por Gilson (1926, p. 419).

Em muitos casos puderam ser vistos núcleos nesses processos livres de pigmento (Matthews l. c., p. 477 fig. 3). Com o uso do sulfáto de atropina (0,00025M) provocou este A. a migração do pigmento para a periferia. Dezeses horas depois, sujeitando a célula novamente á adrenalina (1;25.000) o núcleo central apareceu como anteriormente. Pela observação da migração de grânulos individuais de pigmento, mostrou que os prolongamentos são partes do melanóforo. Mediu ainda em tempos diferentes, o diâmetro dos processos dos melanóforos, encontrando sempre os mesmos valores em fases idénticas. Tais conclusões se opõem ás de Zimmerman (l. c., p. 77) que pretendeu, como já disse, serem variaveis os diâmetros dos processos dos melanóforos estudados em *Sargus annularis*, i. é, seriam menores quando vazio de pigmento; e também ás de Schmidt (1920, p. 278) em *Rana esculenta* e *Hyla arborea* que admite ser a diminuição do diâmetro dos processos dos cromatóforos devída a um relaxamento passivo e não a uma contração activa do processo. Sobre este ponto é de notar-se que á hipótese já citada de Ballowitz (1914, p. 185) segundo a qual as paredes dos canais dos processos dos cromatóforos seriam capazes de se contrair e relaxar, provocando assim o movimento dos grânulos, se opõe também Schmidt (1918a, p. 498) que acha ser a expansão e a contração dos cromatóforos realizadas com movimentos micro-peristálticos.

Por outro lado Biedermann (1926, p. 207) põe também dúvida á teoria de Ballowitz admitindo porém que a centrosféra indubitavelmente exerce uma função essencial no mecanismo responsavel pelo movimento dos grânulos e de pigmento, e deste modo serviria como centro de

actividade para a contração e expansão do pigmento. Matthews (l. c., p. 480) procurou comprovar esta hipótese de Biedermann fazendo a microdissecção da escama em gota pendente. Afastou assim os processos com os pigmentos do centro dos melanóforos. Tais processos isolados dentro das soluções de NaCl e de KCl, tinham os seus pigmentos respectivamente expandidos e contraídos, tanto quanto na célula da qual foram separados. Muitas outras experiências foram realizadas por este A. concluindo delas que o pigmento de um processo de melanóforo isolado é capaz de contrair-se e expandir-se. Daí resulta que a influência da centrosféra não pôde ser essencial para a migração do pigmento no processo melanofórico. Afastando assim, pelo menos em parte, a hipótese de Biedermann antes lembrada, Matthews adóta aquela de Spaeth (1916; ap. Matthews l. c., p. 483), segundo o qual o melanóforo é considerado um sistema físico-químico, constituído essencialmente de uma suspensão coloidal de grânulos de melanína (fase dispersa) em um meio de dispersão, que é uma espécie de protoplasma extremamente fluido, i. é, um sol emulsóide. A "contração do melanóforo consiste segundo Spaeth de uma agregação da fase dispersa dos grânulos desta substância. Em outras palavras "contração" e "expansão" dos melanóforos seriam similares á "gelificação" e "solisação" de emulsóides.

Os resultados de Spaeth e de Matthews foram em parte confirmados por Yamamoto (1933, pp. 121-127). Trabalhando com escamas isoladas de *Oryzias latipes*, notou que os ions Ca teem uma tendência a inibir e os ions Na a excitar os movimentos dos melanóforos. Para este A., tais movimentos são a expressão da excitabilidade aumentada induzida pela elevação do quociente ionico $\frac{CNa}{CCa}$ do meio ou do tecido que circunda os melanóforos.

Dentre os meios físicos empregados no estudo dos cromatóforos, a luz ocupa o primeiro lugar. Em 1913, Babàk (p. 468), em *Amblystoma* verifica que a luz e a obscuridade exercem um papel trófico sobre os cromatóforos da péle.

Cole e Dean (1917, p. 369) observando a fotocinése dos girinos de Rãs verificaram que tal reação seria controlada pelo mecanismo nervoso e não pelo estímulo diréto dos melanóforos.

Laurens Williams (1917 pp. 77-80) primeiro, e depois Laurens (1917, p. 197) descrevem os efeitos da luminosidade nos cromatóforos das larvas de *Amblystoma tigrinum* e nos da retina do olho normal e do olho transplantado deste Anfíbio.

McCord e Allen (1917 p. 222), porém contestando afirmações de Laurens de que a hipófise se acha ligada a um mecanismo ocular suficiente para actuar sobre células pigmentárias, admitem que a glândula

é provida de um princípio activo capaz de induzir mudanças pigmentárias independentes e completamente á parte das condições ambientes.

Em **Urodela** foi ainda verificada a influência da intensidade de luz por Herbst e Ascher (1927 p. 54).

Redfield (l. c., p. 283) em **Phrynosoma**, confirmou que a luz produz a expansão de tais células e a ausência desse estímulo, a contração. As altas temperaturas ocasionam a contração e as baixas expansão. O efeito do calor domina os extremos de contração e os de luz o máximo de expansão. Doflein (1910), p. 237) já havia indicado esta propriedade dos cromatóforos se expandirem durante o frio. Ainda quanto á temperatura lembro que D. C. Smith, já em 1916 (p. 187) determinou em **Fundulus** que entre 5° e 41°C se dá contração dos melanóforos, entre 1° e 5°C ha expansão. Fazendo a desinervação dos melanóforos ha sempre contração em altas e expansão em baixas temperaturas. Notou ainda que os melanóforos inervados do tronco sempre reagem ao calor e ao frio no sentido inverso dos desinervados. O estudo dos xantóforos de **Fundulus** foi feito em numerosas experiências por Fries (1931 p. 395) com vários métodos, sendo que a ação da luz foi analisada em animais influenciados por ambiente claro e escuro. Xantóforos de uma região desinervada reagem entre 30°C e 40°C por uma contração. O estímulo mecânico dos nn. produz expansão dos melanóforos.

Tanto os resultados de Redfield como os de Fries foram, em parte já afirmados por D. C. Smith (1928, p. 206) em escamas de **Fundulus**.

A electricidade foi também experimentada. As correntes farádicas causam a contração dos melanóforos.

No estudo dos cromatóforos são ainda dignos de nota os trabalhos de Parker e sua escola, que de ha muito se têm preocupado com o assunto. Assim juntamente com Lanchner (1922, p. 550) determinou que os olhos são o elemento receptor do estímulo e o melanóforo o efêtor. Ainda nesse mesmo ano o primeiro A. citado (p. 115) verificou a sensibilidade das Rãs através da pele, e em 1930a (p. 396) apontou mais que a injeção de adrenalina em **Hyla versicolor** faz com que o animal permaneça extremamente claro por algumas horas. A injeção de pituitrina tornava o animal escuro. Por estas experiências concluiu que a **Hyla** apresenta a mudança de côr não por influência do sistema nervoso mas por ação de uma secreção interna.

Nesse mesmo ano (1930b) Parker sintetiza os resultados de suas experiências em uma publicação que merece ser destacada entre as "mise au point" até agora publicadas.

Ainda estudando os Anfíbios, Parker (1931, p. 596) anota que a acetilcolina não é um meio importante para influenciar os cromatóforos, o que confirma a observação já citada de Barbour e Spaeth (l. c.).

Trabalhando com peixes (1933a, p. 1038) descreve as mudanças de cor em *Raja erinacea* e em *Mustelus canis*. Mais interessante ainda são as experiências em que Parker e Porter (1933, p. 306) em *Fundulus heteroclitus*, indicam que os melanóforos constituem bom meio para demonstrar que as fibras nervosas do sistema autônomo se regeneram fazendo voltar a expansão dos pigmentos. Mediram ainda a velocidade de regeneração de tais fibras a exemplo do que foi determinado por Cajal (1913, p. 253) e muitos outros, e chegaram ao resultado de 0,86mm por dia.

Uma nova concepção sobre as influências que ocasionam a contração e a expansão dos melanóforos tem origem nas experiências de vários AA. entre os quais cito Parker que, em 1933b, p. 556, trabalhando com *Fundulus*, admite sejam os melanóforos contraídos por neurohumores transmitidos pelos tecidos, havendo assim outra via que a sanguínea e a linfática. Baseia sua asserção no fato da discrepância de velocidade com que actúam a adrenalina e o humor que induz á formação de uma listra escura neste Peixe. Para observação das reacções dos melanóforos nestes animais, experimentou fazer um córte na raiz da nadadeira caudal e viu que os melanóforos da área desinervada se expandiram. Conclúe porisso haver uma dupla inervação para os melanóforos da cauda de *Fundulus*, uma para a expansão e outra para a contração. Tal hipótese é reforçada com o resultado de experiências ulteriores (1934a, p. 182; 1934b, p. 82) feitas em Tubarões e em *Fundulus*, nos quais foram seccionados os nn. da cáuda. Tal operação induz uma dispersão do pigmento do melanóforo na respectiva região, o que é explicado pelo resultado de um estímulo vigoroso das fibras nervosas dispersoras no n. cortado. As fibras contratoras que seriam cortadas ao mesmo tempo que as expansoras, não são efetivamente estimuladas pela transecção. Estas fibras, no entretanto, são sensíveis ao estímulo elétrico, resultando porém, com esta forma de excitação, uma contração dos melanóforos. Uma hora depois que o córte é feito, a estría caudal de *Fundulus* começa a desaparecer e no fim de um dia não mais existe. O desaparecimento lento da largura da estría confirma a idéa de que a área desinervada com seus melanóforos expandidos é gradualmente permeada de sua perifería por um "neurohumor" contrator que, produzido pelos nn. terminais contratores das regiões adjacentes, gradualmente penetra a listra de fóra para dentro. Experiências paralelas realizadas em *Elasmobranchii* (Parker e Porter 1934, p. 32) produziram resultado idêntico.

Em geral se admite que os neurohumores sejam distribuídos pela hemolinfa nos animais "inferiores" e pelo sangue e pela linfa nos "superiores"

Em 1931 Meyer (p. 263) em **Gobius** e **Pleuronectes**, usando o método das injeções, foi dos primeiros a demonstrar este fato. Quando o sôro de um animal adaptado ao escuro fôr injetado em um adaptado ao claro, uma mancha escura aparece na região da injeção dentro de 5 minutos. A mancha aumenta durante meia hora e depois diminui e desaparece. A injeção de sôro de um Peixe adaptado ao escuro em outro nas mesmas condições não ocasiona alteração na côr.

Em **Fundulus** o fenômeno apresenta alguma diferença. Mills (1932a, p. 242; 1932b, p. 246) por exemplo, verificou que a injeção de sangue desfibrinado de um **Fundulus** "pálido" em um outro "escuro" ou vice-versa, não produz mudanças de côr evidentes. Fez a desinervação pela secção transversa na cáuda e o peixe foi colocado em um fundo claro para induzir contração das células recentemente desinervadas. O processo de contração foi observado, e verificou-se que as células na área desinervada não se contraem simultaneamente. As da extremidade exterior da região dos melanóforos expandidos, principiaram a contrair-se primeiro. A reação aumentou-se gradualmente da periferia da área desinervada para o interior. Em um fundo claro, uma secreção melanóforo-contratôra é produzida em todos os lados da área desinervada. Como ela se difunde pelos tecidos, os melanóforos na periferia dessa área seriam atingidos e influenciados primeiro, enquanto que as células do centro, estando mais distantes da fonte de secreção a receberiam mais lentamente e em maior diluição. Um **Fundulus**, com uma incisão transversa na cáuda, foi colocado sobre um fundo claro até que os melanóforos desinervados fossem contraídos. Depois foi transferido para um recipiente de fundo escuro. Examinada a cáuda cinco minutos depois, verificou-se que as células tinham se expandido, enquanto que as da área desinervada não tinham ainda começado a mostrar alteração. Recolocado o animal no recipiente de fundo escuro 15 minutos depois as células da área desinervada mostraram uma expansão gradual. Por tais resultados Mills pretende que o contróle da contração e da expansão dos melanóforos corre por conta de secreções produzidas pelos nn. destas células, as quais se difundem nos tecidos.

A transecção da cáuda do Peixe foi repetida, em **Ameiurus nebulosus**, por Bacq (1933, p. 387) segundo a técnica de W y m a n n (1924, p. 43). Empregando a ergotamina, Bacq viu a contração dos cromatóforos inervados e a expansão dos desinervados. Tais experiências confirmam as de Fries (1927, p. 567) realizadas com os xantóforos de **Fundulus** após a secção da cáuda.

Os trabalhos de Parker e sua escola introduzindo a hipótese dos "neurohumores" como substâncias influenciadoras da mudança de cor nos Vertebrados poiquilótermos, vieram firmar a teoria humoral já então admitida por vários pesquisadores. Assim, para os Anfíbios, por Smith (1916, p. 59), Allen (1917, p. 129) e Hogben e seus colaboradores (1936, p. 142) e muitos outros havia sido estabelecida a influência de hipófise como elemento regulador da pigmentação cutânea. Lundstrom e Bard (1932, p. 3) trabalhando com *Mustellus canis* e seguindo esta mesma via, pelo processo da hipofisectomia determinaram que o lobo posterior hipófisário é responsável, em grau acentuado, pela característica expansão dos melanóforos da pele deste animal.

No mesmo ano, Zondek e Krohn (1932a, p. 849; 1932b, p. 1296) e depois Zondek em 1935 (p. 637) isolaram do lobo intermédio da hipófise de vários animais (*Phoxinus* e *Rana* inclusive), uma substância a que denominaram intermedina. Injectada em *Phoxinus* produz uma expansão dos melanóforos, dos xantóforos e dos eritróforos. Estes AA. afirmam que tal substância seria a única capaz de provocar a expansão dos eritróforos e ainda mais, que a duplicação da coloração vermelha que *Phoxinus* exibe durar e a estação da desova, pode ser obtida pela injeção de uma quantidade conveniente de intermedina.

O interesse despertado por tal descoberta, é natural, foi muito grande. Das experiências que se seguiram, lembro que Böttger (1934, p. 422) pode confirmar o efeito de expansão da intermedina sobre os melanóforos de *Phoxinus levis*, mas nada obteve quanto á concentração dos mesmos.

Seguiram-se outras experiências com o fito de demonstrar o valor pigmento-ativador da hipófise. Assim, Matthews (1933, p. 319) não conseguiu respostas dos pigmentos após a hipofisectomia de *Fundulus*. Aplicando o extracto de hipófise deste Peixe sobre as escamas, verificou ser o mesmo activo para os melanóforos. Geiling e Lewis (1935, p. 537) levando em consideração o extraordinário crescimento da hipófise dos mamíferos em meios apropriados, injectaram material derivado da cultura da *pars intermedia* do órgão na Rã, observando efeito marcante sobre a expansão dos cromatóforos. Kleinholtz (l. c. p. 489) operando *Anolis*, chega á conclusão que a hipofisectomia determina uma palidez permanente do animal.

Bem interessantes são os trabalhos de Koller e Rodewald (1933, p. 638) nos quais verificaram que os extractos de hipófise de *Rana temporaria* que foram mantidas no escuro não exercem mais efeito sobre os cromatóforos. Tal "inactivação" dos referidos preparados são suficientes, na opinião destes AA., para provar que os estímulos luminosos activam a hipófise e são recebidos pelos olhos e não pela pele. Com o emprego de raios de luz de comprimentos de onda diversos (l. c., p. 640) notaram serem extremamen-

te eficazes na activação da hipófise os raios ultravioletas. Experiências feitas com o intuito de determinar a influência da pele como órgão foto-receptor, foram negativas.

Dos órgãos localizados no encéfalo, não somente a hipófise possui influência sobre os cromatóforos. A este proposito são dignos de atenção os trabalhos Scharrer (1932, p. 506; 1933a, p. 4) aos quais voltarei no capítulo seguinte, e em que presume serem as células glandulares por êle descobertas no hipotálamo de Peixes e de Anfíbios, de actuação na mudança de côr desses Vertebrados.

Não obstante as incertezas que ainda existem sobre o modo de acção da hipófise como elemento pigmento-activador, como bem o assinala D. C. Smith (1931, p. 632), tal função tem sido geralmente aceita por grande número de AA. (Giersberg 1930b, p. 370; 1930c, p. 450). Ainda recentemente, o mesmo argumento foi repetido por Waring (1936a, pp. 51-59; 1936b, p. 80) o qual experimentou de muitos modos a acção da hipófise tanto de Peixes como de Anfíbios sobre os cromatóforos de **Scyllium canicula** e **Rana temporaria**. Usou não somente o metodo das injeções de extractos como o dos enxertos. O A. é favorável á existencia de um hormónio solúvel na agua produzido pelo lobo intermediario da pituitaria e que circula no sangue. Repetidas as experiências em 1938 (p. 275) pelo mesmo A. foram todas confirmadas.

Pela bibliografia que acabo de apresentar, restrita aos pontos essenciais que possam interessar ao assunto principal deste trabalho, i. é, o estudo da mudança de côr dos Crustaceos, vê-se que não poucos são os pontos em que ainda não se estabeleceu perfeito accordo entre os estudiosos da fisiologia destas células.

Quanto á denominação, não prevaleceram os nomes apresentados por Sumner, Mast, Parker etc., sancionando o uso o termo cromatóforo para as células pigmentárias, o qual costuma ser substituído tambem por melanóforo, xantóforo, eritróforo etc. de conformidade com a natureza do pigmento que possuem. Sobre esta última, pronunciaram-se longamente Schmidt que trabalha no assunto desde 1912 (p. 140), Fuchs (1914, p. 1492) Verne (l. c.), Ballowitz (1931, p. 505) e muitos outros interessados no estudo da química destas substancias. Verne (l. c.), Marc André (1935, p. 41), afirmam que os pigmentos podem ser líquidos ou granulosos, ocorrendo de diferentes côres em uma mesma célula. Verne propõe o termo "zooeritrina" para designar a substância dos pigmentos da série dos carotinoides.

Sobre a mobilidade dos processos ramificados dos cromatóforos, as opiniões tambem divergem. De um lado temos Ballowitz e Schmidt que admitem serem tais processos providos de membrana muito delicada e

contractil, e de outro encontramos Matthews que sustenta o contrário. Golovine não acredita sejam moveis os grânulos. Hoocker ainda crê na existencia, no tecido circunjacente, de espaços profundos nos quais os prolongamentos das células pigmentárias se intrometem durante a expansão. O problema da mobilidade dos cromatóforos apresenta, sem dúvida, grandes dificuldades, principalmente nos Vertebrados poiquilotermos onde é bastante frequente a associação de pigmentos em uma mesma célula. As experiências químicas de Spaeth e outros demonstraram serem os processos dos cromatóforos bem constantes nas suas dimensões.

A inervação destas células pelo sistema cérebro-espinhal não oferece dúvidas. As pesquisas de Ballowitz, Eberth, Eberth e Bunge etc. são conclusivas a respeito. Fisiologicamente, são admitidas as duas inervações: a do sistema cérebro-espinhal e a do sistema autónomo. Experimentalmente esta última foi demonstrada por v. Frisch nos Peixes, e confirmada por indagações farmacologicas inúmeras (Redfield Smith).

Sobre este mesmo ponto pronunciaram-se também Parker e sua escola, que propõem a hipótese de secreção "neurohumoral" como elemento pigmento-activador. Não obstante as razões de Parker, algumas das quais aceitaveis, tal hipótese ainda não saíu do domínio das conjecturas em virtude de não se achar fundamentada por fatos objectivos. Pode-se dizer ter sido a mesma já suplantada pela teoria das secreções internas, á vista dos resultados obtidos nas pesquisas em que Perkins, Kropp e principalmente Koller foram os iniciadores. Não obstante, é necessário dizer, cabe a Parker o mérito de, com suas variadissimas investigações tanto em Peixes como em Anfíbios, chamar a atenção para a importancia da via humoral como veículo de substancias cromatóforo-activadoras e ter mesmo motivado o desenvolvimento da teoria incretória.

Ao mesmo tempo que se intensificaram as indagações ácerca da influencia da luz sobre células, surgiram os estudos sobre o papel dos olhos e consequentemente do sistema nervoso. Nos Peixes, de modo especial, foi elegantemente demonstrado por v. Frisch que nas Trutas somente a metade ventral ocular é que transmite o influxo luminoso excitador dos órgãos que secretam as substancias cromatóforotrópicas. Como veremos no capítulo referente aos cromatóforos dos Crustaceos, estas experiências de v. Frisch foram realizadas com pleno êxito em muitos representantes desta classe dos **Arthropoda**.

Além da acção directa da luz, ou indirecta por intermédio dos olhos, e do papel do sistema nervoso (cérebro-espinhal e autónomo) as células pigmentárias são sensiveis á das substancias químicas, como foi amplamente demonstrado por Spaeth, Spaeth e Barbour, Lowe, Bray, Smith etc. Pode-se dizer, resumindo, que são cromatóforo-contractores: os sais de

potássio, a epinefrina, a ergotoxina etc.; cromatóforo-expansores: os sais de sódio, a atropina, a pilocarpina, a eserina, o éter, o clorofórmio, a cloretona, a ergotamina etc. A comprovação dos efeitos destas substâncias foi feita muitas vezes, seja pelo método das injeções intradérmicas, seja pela acção directa das drogas em porções isoladas da pele, ou mesmo em um único cromatóforo (melanóforo — Matthews) afastado da pele ou da escama do animal.

Dos meios físicos empregados no estudo dos cromatóforos, tanto de Peixes como de Anfíbios, além da luz, excitante mais usualmente utilizado, a electricidade também serviu para a análise de certas propriedades destas células. As correntes farádicas, foi dito, provocam a contração dos melanóforos. São dignas de nota, neste particular, as experiências de Spaeth (1916, pp. 594-595) em *Fundulus heteroclitus*, nas quais determinou que uma corrente tetanizante de intensidade moderada produz uma contração total. Num período que varia de 90 a 120 segundos pode-se dar a contração e o relaxamento completos. De suas numerosas experiências conclue Spaeth que o comportamento dos melanóforos ao estímulo eléctrico indica características acentuadas dos músculos lisos.

Dos produtos das glândulas de secreção interna, ocupam lugar de relevancia em primeira linha os da hipófise e depois a adrenalina. Pelos trabalhos de Scharrer (1933a, p. 3; 1933b, p. 218; 1934, p. 26) presume-se que os elementos glandulares existentes no diencéfalo de Peixes e de Anfíbios, sejam produtores de hormônios cromatoforotrópicos. Neste particular, acha-se demonstrado ser decisiva a acção do lóbo intermédio da hipófise, do qual, em muitos animais, Zondek e Krohn isolaram o hormónio chamado intermedina. Este producto, segundo os últimos AA. citados seria específico para a contração dos eritróforos. Veil, ultimamente (1938, p. 45), experimentando nos melanóforos de Carpa, simultaneamente a adrenalina e a intermedina notou que a presença deste último hormónio não perturba a actuação da adrenalina. Esta age exactamente da mesma maneira como se fosse empregada sozinha, parecendo mesmo tornar-se até ligeiramente mais activa. Sendo imediata a acção contratôra da adrenalina pura, passa a ser um pouco mais lenta se associada á intermedina. Ha, pois, uma supremacia da acção da adrenalina sobre a da intermedina. O comportamento de ambas estas substâncias levam a presumir a existência de uma relação íntima entre a hipófise e a suprarrenal na mudança de côr dos Vertebrados poiquilótermos.

A maioria das experiências acima expostas foi também efectuada nos Crustaceos. Passarei agora a expô-las, sucintamente num dos proximos capítulos.

IV

CROMATÓFOROS DOS INVERTEBRADOS

Pretendo dar aqui um rápido resumo sobre os cromatóforos dos Invertebrados em geral, onde também condicionam a mudança de côr, excluídos os dos Crustaceos, que serão objeto do capítulo seguinte.

Já foi dito á p. 8, que os cromatóforos ocorrem também em **Platyhelminthes, Hirudinea, Echinodermata**. Particularmente nos Hirudineos, Leydig (1849, p. 105), Graf (1895, p. 68), Hachlov (1910, p. 463-465) entre outros, mencionam a presença de células pigmentárias principalmente na região subepidérmica. Fuchs (1914, p. 1197), Erhard (1929, p. 204) apenas fazem sumárias referências aos cromatóforos destes Anelídeos. Dignas de nota, porém, são as pesquisas de Janzen (1932, p. 329) sobre a mudança de côr em **Piscicola geometra**. O A. distingue nesta Sanguessuga duas espécies de pigmento: branco e castanho escuro, contidos em células de diferentes tipos. Verificou que os cromatóforos se expandem na luz e contraem-se na obscuridade, e que a mudança do colorido do corpo se dá mais rapidamente nos indivíduos jovens que nos sexualmente maduros. Em **Placobella parasitica**, (Myers l.c.) estudando as alterações morfológicas durante a inseminação hipodérmica, indica a presença de melanóforos localizados nos espaços intercelulares no tecido conjuntivo. Estas células pigmentárias desaparecem na região onde se dá a implantação do espermatóforo. Devo acrescentar ainda que Prenant (l.c., p. 587) os assinala também em **Nemertini**. Nestes animais, porém, são as células intersticiais (Bömig 1929, p. 7) frequentemente portadoras de pigmentos, assemelhando-se no seu aspecto geral (Schneider l. c., fig. 348, p. 358, b.z. for), aos cromatóforos. Por outro lado, na aludida classe é muitas vezes o colorido da secreção das células glandulares epiteliais responsável pela côr fundamental do animal, como aponta Bürger (1897. p. 55).

Nos **Mollusca** os cromatóforos são de um tipo especial. Prenant (l. c., p. 590) referindo-se aos cromatóforos dos **Cephalopoda**, diz que merecem um logar á parte, porque são mais que simples células, são complexos celulares, verdadeiros aparelhos cromatóforicos.

A presença de fibras musculares lisas perfeitamente demonstradas morfológicamente já pelos histólogos mais antigos como Wagner (1841, p. 37)

e Harless (1846, p. 39) justifica até certo ponto tal distinção. Chun (1902, p. 162) e outros estudaram profundamente o desenvolvimento destas células e continuamente têm sido elas objeto de acuradas investigações, como sejam as farmacológicas de Sireni (1928, p. 488) e as fisiológicas sobre o tonus das fibrilas musculares, de Bozler (1928 a, b e c, pp. 379. 407 e 371).

Nos **Gastropoda** também foram realizadas importantes investigações sobre a morfo-fisiologia das células pigmentárias por ex. em **Limax**, por Weber (1923, p. 241 e seg.).

Finalmente no tão discutido grupo dos **Pteropoda** lembrarei ainda as curiosas observações de Gegenbaur, Kölliker e Müller (1853, p. 332) feitas em **Cymbulia radiata**.

Entre os **Arthropoda**, como já disse, se bem que a propriedade da mudança de côr, seja muito espalhada como nos Insectos, e que tem provocado importantes pesquisas como as de Schleip (1910, p. 47; 1915, p. 225; 1921 p. 151) de Willrich (1931, p. 157) e de grande numero de estudiosos tanto da morfologia como da fisiologia dos pigmentos, a presença de cromatóforos verdadeiros é privativa por assim dizer dos Crustaceos, onde se encontram em grande número e são bem desenvolvidos como veremos a seguir.

Particularmente nos Insectos são dignos de referência os estudos que Schmidt (1918, p. 125 e seg.) fez em **Phloethrips**, relativamente á propriedade da mudança da côr e á presença de cromatóforos bem numerosos neste animal. O A. conseguiu observar larvas e adultos deste Insecto, no estado vivo e em preparações histológicas, identificando no mesmo um verdadeiro sistema cromatofórico bem desenvolvido. Não admite ser a ocorrência dos cromatóforos nas **Phloethripidae** um fato isolado. Na sua opinião, parece se tenham conservado nesta familia "primitiva" remanescentes do sistema cromatofórico dos Crustaceos. Em favor desta hipótese fala também o fato de não haver aqui cromatóforos isolados, como acontece nas vesículas traqueais de **Corethra**, mas trata-se de um sistema bem desenvolvido de células pigmentárias muito semelhante ao que existe nos Crustaceos (l. c., p. 134).

Não obstante tais averiguações, pode-se ainda dizer que, comparativamente aos Crustaceos, os cromatóforos são raros nos Insectos.

CROMATÓFOROS DOS CRUSTACEOS EM GERAL

Nesta Classe, a grande maioria dos seus representantes é dotada destas células pigmentárias, e sendo um grupo bastante numeroso, tem sido como já acentuei o mais intensamente estudado que qualquer outro dos Invertebrados. E dos Crustaceos, os Decapodos receberam maior atenção. Tal estudo das células pigmentárias intensificou-se nestes últimos tempos, graças, de modo especial, á íntima colaboração entre os estudos histológicos e fisiológicos destes órgãos, de natureza e função ainda hoje bastante discutidas.

Já v. R y n b e r k que em 1906 (p. 350) apresentando os resultados das pesquisas realizadas até então por diversos AA., afirmava que o entendimento dos cromatóforos dependia de uma estreita cooperação entre os morfólogos, fisiólogos e químicos. Muito recentemente ainda, encontra-se de certo modo tal afirmativa em K o l l e r (1938, p. 93) quando diz que o complexo problema da mudança de côr dos Crustaceos deu origem a outros novos, para cuja solução os métodos de trabalho histológico e fisiológico têm de ir de mãos dadas.

Desde a primeira descrição dos cromatóforos dos Crustaceos feitas em **Myis** por Sars (1867 ap. Hanström 1937b, p. 187) até hoje sem conta são os trabalhos publicados quer sobre a morfologia destas células pigmentárias, quer sobre sua fisiologia. Justifica-se, ao meu vêr, o interesse despertado por um tal estudo, o fato de apresentarem estes animais muito mais intensamente que qualquer outro, o fenômeno característico da mudança de côr, pela qual são responsáveis os estádos fisiológicos dos cromatóforos, pela primeira vez entrevistos em representantes desta classe em 1842, segundo Hanström (l.c.) por Krøyer nas **Carididae** do gênero **Hippolyte**.

Não obstante a grande móle de conhecimento sobre tais fenômenos e também da função dos cromatóforos, póde-se dizer que apenas se acham traçadas as vias para a solução de varios problemas oriundos das investigações elaboradas, particularmente com o auxilio dos processos de técnica moderna. Reléva notar ainda, que até agora, pelo menos, pelo que póde

inferir da extensa bibliografia ao meu alcance, as investigações nestes animais têm sido realizadas de modo especial entre os Decapoda, e menos intensamente nas demais ordens como sejam os **Amphipoda**, **Stomatopoda**, **Isopoda**, etc. É natural que para objetos de tais estudos sejam os primeiros particularmente os preferidos. Animais abundantes no mar e nos rios, facilmente capturáveis e que resistem longamente nos aquários, de porte grande e por isso prontamente manejáveis, e além do mais portadores de grandes cromatóforos que permitem estudo com pequenos recursos técnicos, atraíram desde há muito grande número de interessados na biologia destes **Branchiata**. Daí, penso, esta enorme disparidade entre o número dos pesquisadores dos Decapoda, e os das demais ordens. Para avaliar-se a quantidade de trabalhos que versam sobre este ponto, isto é, da mudança de cor nos Crustaceos em geral, basta lembrar que além da compilação já citada de v. Rynberk encontram-se os trabalhos fundamentais de Parker (1930b, p. 59), de Matthews (1931, p. 470) e de Franström (1937b, p. 143) os quais resumem, de certo modo amplamente, a literatura anterior, já tendo sido mesmo compendiados os resultados das inúmeras pesquisas em Tratados clássicos, tanto da Histologia como da Fisiologia comparativas por especialistas diversos. (Schneider, 1902, p. 74; Fuchs 1914, p. 1285; Biedermann, 1914, p. 1657; Krüger, 1926, p. 471; v. Buddenbrock, 1928, p. 388 e seg.; Jordan 1929, p. 523, entre muitos outros).

Não obstante a vasta bibliografia a respeito da mudança de cor nos Crustaceos, muito poucos são relativamente os trabalhos que versaram investigações nos Isopodos de modo particular. Sendo meu objetivo principal cuidar da fisiologia das células pigmentárias tão somente nos representantes desta subordem (**Isopoda**), procurarei dar a seguir apenas as notas bibliográficas que pude obter sobre este assunto nos **Crustacea** em geral, acentuando os pontos em que elas possam relacionar com as pesquisas por mim efectuadas.

Como facilmente se compreenderá, nem mesmo seria possível resumir aqui a literatura existente sobre a mudança de cor nos Crustaceos em geral, bastando lembrar que v. Rynberk (l.c., p. 395) o primeiro que a compilou, a inicia com um trabalho publicado em 1772.

O fenômeno da mudança da cor nestes Artrópodos, de há muito conhecido, já entre nós foi objeto de preocupação de Fritz Müller que (1880/1881, p. 472; 1915, p. 860) o assinalara em **Atyoidea potimirim**, **Palaeomon** e **Gelasimus** por ele observados em Itajaí (1892, p. 155): " é muito variável, não só nos diferentes indivíduos, como no mesmo animal. Os machos costumam ser pálidos e transparentes. As fêmeas adultas, quando apanhadas por entre as ervas submersas das margens dos rios, têm

em geral uma côr bastante escura, esverdeada, tirando mais ou menos ora ao azul, ora ao pardo, e mostram mais ou menos distintamente uma larga listra longitudinal parda clara, que no meio da face dorsal se estende desde o rosto até a cauda. Algumas vezes elas têm uma bellissima côr de anil, mais ou menos carregada. Deitando-as em um vaso de vidro, a côr não tarda a desmaiar passando a um pardo cada vez mais pálido até desaparecer quasi completamente. Entre plantas mortas os camarões tomam a côr parda escura das mesmas plantas, faltando a listra dorsal; uma tarde puz em um vidro, em que já havia algumas duzias de camarões verdes um destes camarões pardo-escuros; já no fim de poucos minutos não o pude distinguir por ter tomado a côr esverdeada e a listra dorsal parda-clara dos outros. (Dessa faculdade de mudarem de côr se acham dotadas tambem várias outras espécies de Crustaceos Decapodos tanto **Macrura** como **Bra-chyura**, v. g. a **Hippolyte smaragdina** da Noruégia, segundo **Kröyer** e certas espécies catarinenses de **Gelasimus** e **Grapsus**)"

Em uma pequena nota, **Agassiz** (1892, p. 189) faz ligeiras referências ao comportamento de **Decapoda** quando colocados em fundo claro ou escuro, tendo observado que **Crangon** e **Palaemon** não apresentaram mudança perceptível de coloração (l.c., p. 192).

Cabe sem dúvida a **Gamble & Keeble** terem inaugurado o estudo da mudança da côr nos Crustaceos sob base experimental, com o seu importante trabalho sobre **Hippolyte varians**, publicado em 1900. Indicam estes AA. (p. 601) que este Decapodo possúe a capacidade extraordinária de adaptar sua côr a do substrato em que fôr colocado, comprovando suas asserções com bÉlas e impressionantes figúras (l.c., t. 32 e 33) nas quais se vÊm **Hippolyte** com côres diversas correspondentes ás dos Briozoários e das Algas subjacentes, seu alimento preferido. Estabelecem estes AA. (l.c., p. 607) uma estreita relação entre o pigmento e o sangue, particularmente visível no pedúnculo ocular (t. 34, fig. 17 18). Dentro deste encontram-se os gânglios óticos incluídos em um tecido conjuntivo, achando-se entre eles os corpos das manchas grandes de pigmento vermelho escuro, cujos processos se estendem á direita e á esquerda; á direita formando ângulos para os centros mais estreitos e alongados, envolvendo os gânglios. O sangue é levado por uma artéria que corre proxima á superficie com numerosos ramos, interdigitando-se com os processos pigmentários dos cromatóforos (t. 34, figs. 18 e 19). Encontra-se na **H. varians** uma concentração de células pigmentárias, principalmente na cauda, muito musculosa, ás quais **Gamble & Keeble** dão o nome de "musclechromatophores" localizadas nos ângulos formados pelas ramificações das artérias. Para estes AA. (l.c., p. 608) as mudanças de côr no animal são causadas por movimentos do pigmento den-

tro dos cromatóforos, movimentos que pôdem ser modificados por impulsos nervosos, mas de natureza e origem que desconhecem ("of which we know nothing"). Verificaram ainda a natureza tubular dos processos ramificados, os movimentos ondulantes dos pigmentos, a fusão dos ramos de um com os de outros cromatóforos, e a relação estreita destes elementos coloridos com certos órgãos e particularmente com o sistema vascular. Não foram porém capazes de demonstrar (l. c., p. 609) se as manchas pigmentárias ou cromatóforos eram realmente células.

A este proposito Holmgren (1898, p. 415) mostrou que em **Pa-laemon** os cromatóforos são células conjuntivas nucleadas cujos processos confluem frequentemente. Descreve um plexo nervoso periférico em estreita conexão com os elementos coloridos e os troncos nervosos ordinários.

Notaram ainda Gamble & Keeble (l. c., p. 612) que os **H. varians** jovens muitas vezes apresentam colorações distintas das dos adultos. Nas experiências que realizaram, esta *Cancrida* submetida á luz altamente intensa, procura esconder-se. Se, porém, fôr compelida a suportá-la tendo como fundo um disco branco de porcelana (p. 619) apresentará efeito verde.

Verificaram ainda que o pigmento no cromatóforo é profundamente influenciado pela quantidade de luz, não conseguindo obter, porém, efeito da luz corada nas condições diurnas dos pigmentos. Quando porém, submetido á luz refletida de espelhos, os resultados eram exatamente idênticos aos obtidos quando os animais eram sujeitos á obscuridade. Os animais expostos ao vermelho aproximadamente puro ou ao azul brilhante, rapidamente voltavam a sua chamada "côr noturna". O efeito verde brilhante era, no entretanto, menor. Concluíram então estes citados AA. (p. 621) que, enquanto que a intensidade luminosa exerce uma parte consideravel na determinação da côr fundamental, a qualidade da luz não tem efeito algum. As ligeiras modificações de côr obtidas com a luz monocromática parecem correr por conta antes da intensidade que da qualidade. Uma possibilidade, no entretanto, existe em que a qualidade da luz possa exercer um efeito directivo sobre **Hippolyte**, i. é, actúa na mudança de posição. Seria duvidoso admitir aqui, segundo estes AA., o chamado "sentido de côr" descrito em **Daphnia**. Sendo um animal da zona das "Laminarias" está sujeito aos movimentos da maré, sofrendo mudança de iluminação duas vezes em vinte e quatro horas. Na maré alta, praticamente, vivem na obscuridade. Estes mesmos AA. (l. c., p. 638) depois de numerosas observações sobre as fâses noturnas da vida de **H. varians**, concluíram que a noite induz uma fâse muito distinta no ciclo das.

mudanças de côr. O mesmo contraste aqui se encontra como nas **Mysidae** e no **Pandalus**. Este efeito da obscuridade concorda aliás com o que foi relatado por Pouchet (o iniciador dos estudos da mudança de côr — l.c., p. 152) o qual afirma ter a obscuridade algum efeito alterando a "função cromática" nos Crustaceos. A fase noturna é distinguida pelo desaparecimento, ou antes, retracção, de todos, excéto do pigmento peculiar azul, e é associado com grande transparência dos tecidos. Em alguns casos, a côr azul da rêde cromatica é suprimida e daí resulta descoramento ou acinzentamento. A fase começa com um escurecimento, atinge o seu desenvolvimento máximo e depois decresce. Tal efeito sofre das condições da época do ano, da atmosfêra e da natureza da costa. A fase noturna é um estado peculiar que se refere tambem a orgãos outros que os da côr. Os tecidos conjuntivos e muscular tornam-se de acentuada transparência, e os batimentos do coração são duas vezes mais rápidos (ca. de 240 por minuto) que os durante o dia (150 por minuto). A distinta côr azul é sómente uma das numerosas mudanças afetando todo o corpo, e constitue o character menos significativo dos "noturnos". As experiências em que os animais foram submetidos á luz constante, assim como aquelas em que foram guardados em permanente obscuridade, mostram que a mudança é periodica, isto é, dá-se quando o estímulo externo — mudança de intensidade de luz — é interceptado. Os "induzidos-escuros" noturnos são muito susceptiveis aos estímulos luminósos, os "induzidos-luminósos" noturnos são, ao contrario, a eles refratários. Tal periodicidade desaparece quando ha condições constantes de luz. **Hippolyte** cêga apresenta periodicidade, se bem que muitas vezes o fenômeno seja complicado por efeitos imediatos da operação (remoção dos olhos).

A influência dirêta da luz sobre os cromatóforos de **H. varians** foi tambem verificada, correndo os pigmentos do centro aos ramos.

Neste mesmo Crustaceo tambem Minkiewicz (1908, p. 919) confirma plenamente os dados de Pouchet (l.c.) e Gamble & Keeble (l.c.) sobre o comportamento deste animal em fundo claro e escuro. Em suas experiências com luz monocromática poude obter **Hippolyte** tão variadas quanto as côres fundamentais do espectro solar, e considera o comportamento deste crustaceo como o resultado de suas reações cromatotropas em relação ás radiações luminosas. Os animais perdem as propriedades a que denomina sincromáticas.

Nos Crustaceos tambem existe a associação dos pigmentos. Verne (1921, p. 58-65) lembra que cromatóforos dos Crustaceos têm sido considerados de importância sistemática secundária e de distribuição inconstan-

te. Não ha razão, porém, para a sua afirmativa de que "não seria de admirar que os zoólogos tenham geralmente negligenciado o estudo dos pigmentos dos Invertebrados" Ao meu vêr, o contrário justamente é que se verifica, e para isso basta compulsar os trabalhos de v. Rynberk, de Matthews e de Hanström que resumem de modo satisfatório a literatura sobre o assunto, para se ter uma idéa da quantidade extraordinaria de trabalhos exclusivamente de zoólogos.

Verne (l.c.) estudou a repartição dos pigmentos nos Decapoda sob o ponto de vista bio-químico, e opina ser tal critério tambem de valor taxonômico. Pelas suas pesquisas histoquímicas distingue os pigmentos destes Crustaceos em duas grandes séries: uma a chamada série azotada de origem proteica e a outra da zooeritrina ou dos pigmentos carotinoides. As duas séries existem concomitantemente, mas a última é a que atraíu maior atenção porque, muito largamente representada, é a ela que os Decapodos devem a sua côr. Admite em alguns pigmentos a presença de aminoácidos. Se bem que as pesquisas de Verne já tenham encontrado repercussão (Bals 1927, p. 849) a sua proposição quanto á distinção taxonomica dos Decapodos segundo a qualidade do pigmento, parece, foi deixava completamente de lado. Brown (1934, p. 372-379) indica para *Palaemonetes vulgaris* que o pigmento vermelho parece ser "astacina" ao passo que o amarelo seria idêntico á carotina das plantas.

Como aconteceu no capítulo referente aos cromatóforos dos Vertebrados, aqui tambem deixo de parte a questão da histo-química destas células. Não obstante sua reconhecida importância, este assunto, ultrapassa os limites deste trabalho. Aliás, particularmente nos Crustaceos Decapodos, já foi o mesmo largamente tratado por Verne (1923, pp 40 e seg.) em várias publicações, ás quais poderão recorrer os interessados.

A distinção dos cromatóforos nos Crustaceos, usualmente se faz pela côr.

Assim em *Crangon vulgaris* (Koller 1927, p. 200) distinguem-se quatro classes de células pigmentárias: sepia-pardo, branco, amarelo, e vermelho. Em suas inúmeras pesquisas sobre este animal, este A. verificou que é mais abundante o pigmento sepia-pardo e menos o vermelho. Quando são monocromáticos, apresentam-se sempre pardos e se policromáticos a esse pigmento juntam-se um, dois ou tres de outras côres. A distribuição dos cromatóforos tambem varia em função de uma série de fatores, os quais são assim classificados por Koller (l.c. p. 209): 1) fatores segundo a origem (dependentes da espécie, da raça e do indivíduo); 2) fatores fisiológicos internos (desenvolvimento e crescimento, muda, reprodução, psiquismo); 3) fatores ecológicos externos (temperatura do ambiente, teor salino, teor do oxigênio).

Perkins (1928, p. 76) distingue em **Palaemonetes** além das duas classes de cromatóforos amarelos e vermelhos uma substância azul já referida em **H. varians** por Gamble & Keeble (l.c.) e mais uma outra substância que é amarelo-pálida á luz refletida e cinza á luz diréta.

Ordinariamente cada ramo do cromatóforo tem sua propria côr, se bem que combinações possam ocorrer tambem nos prolongamentos celulares.

Dahlgren e Kepner (1930, p. 239) enquadram os pigmentos dos cromatóforos no grupo dos melanóforos.

Sobre a morfología dos cromatóforos Parker (1930b, p. 66) assinála que os dos Crustaceos formam um grupo de células estreitamente associadas ou talvez melhor um sincício contendo numerosos nucleos. A massa central contem uma densa acumulação de pigmento que se dirige para a perifería na expansão dos processos ramificados.

De ha muito que se admite serem os cromatóforos dos Crustaceos células com processos ramificados, sendo os pigmentos neles projetados do mesmo módo que os pseudopodos de uma améba e que teriam assim tais processos um carater temporario ou transitório (Matzdorff 1883, p. 38; Megusar 1912, p. 487). Em opposição ao ponto de vista destes AA., encontra-se a observação de Perkins (l.c.) que fotografou em **Palaemonetes** os cromatóforos no estado de expansão e depois no de contração e novamente em expansão, mostrando as fotografías a mesma fórma dos ramos sempre em detalhe como na primeira. Assim haveria um limite de movimentos dos cromatóforos não sendo o seu movimento livre e não circunscrito, o que vem confirmar a observação de Gamble & Keeble (l.c.).

Parker (1930b, p. 67) acha que tais mudanças presumivelmente resultam seja de uma migração do pigmento central no processo preformado do cromatóforo, ou do fluxo da substância cromatófórica com o acompanhamento do pigmento em um sistema de espaços preformados. Esta operação, já bastante complicada em cromatóforos monocromáticos, torna-se muito mais complexa nos elementos policromáticos, onde é possível acharem-se em ação quatro séries de pigmentos mais ou menos independentemente a um tempo.

A histologia das células pigmentárias dos Crustaceos foi amplamente estudada por varios AA.

Gamble & Keeble para os cromatóforos de **Praunus** relatam a existência de uma série de compartimentos nucleados, piriformes para o centro dos cromatóforos, que arrastam perifericamente em troncos tubulares ramificados, terminando como arvores nos espaços intercelulares. Os compartimentos são células chatas, ou antes coenocitos, arranjados geral-

mente em duas séries concêntricas. Ao longo de um dado radius ha continuidade entre células centrais e periféricas. Quando contraídos para o centro, o pigmento é contido na célula central em fórmula de uma faixa ou cromatóforo no sentido botânico; no cromatóforo expandido o pigmento passou para a célula periférica e seus ramos. A esta descrição bastante obscura pode-se dizer com certeza, como o faz D e g n e r (1912a, p. 143) que os AA. ingleses diferenciam a estrutura dos cromatóforos mais complicadamente que na realidade o é.

D e g n e r (l.c., p. 5) distingue em seu trabalho fundamental sobre a histologia das células pigmentárias dos Crustaceos três grupos em que podem ser reunidos os cromatóforos: 1. com pigmentos puramente líquidos: vermelho, alaranjado, amarelo, violeta, azul; 2. líquidos com massa fundamental corada, na qual ficam os grãos de pigmento de outra côr, a saber:

a) sepia-pardo quando a massa fundamental é amarela.

b) vermelho-pardo ao violeta, quando a massa fundamental é amarelo-avermelhada.

3. com pigmento puramente granuloso: amarelo, branco amarelado, branco fortemente refringente.

Para este A. (l.c., p. 24) os cromatóforos compõem-se de corpo e de apêndices a que denomina cromorizas, como já anteriormente foi dito. Admite ao lado da mobilidade dos cromatóforos uma mobilidade da massa central, e porisso não pôde tirar conclusões sobre a conformação dos cromatóforos pelo seu estado de expansão. Os cromatóforos propriamente não possuem capacidade de mudança de fórmula, a mobilidade ativa dá-se somente durante o desenvolvimento embrionário, não obstante ainda não ter sido provada experimentalmente de maneira perfeita. Histologicamente D e g n e r (l. c., p. 41; 1912b, p. 709) considera os cromatóforos como sincícios, nos quais, no animal adulto, ainda se realiza divisão dos nucleos. São envolvidos por uma membrana forte uniforme. Na expansão pôde-se provar a existência nas cromorizas de uma estrutura fibrilar ritida que desaparece na contração maxima. A tais cordões admite uma função de apoio.

O ponto de vista de G a m b l e & K e e b l e (l.c.) no entretanto é tambem sustentado por v B u d d e n b r o c k (1926, p. 388) que crê não serem os cromatóforos dos Crustaceos amiboides, mas que os pigmentos são transportados em caminhos preformados, o que concorda com D e g n e r (l.c., p. 32). Neste ponto, devo ainda notar ser ligeiramente modificada a opinião de F r ö l i c h (1910, p. 1) que acha serem os cromatóforos de *Palaemon* células amiboides.

Dentre as vias de transmissão do influxo luminoso para a mudança da côr nos Crustaceos, já de ha muito foram tidos os olhos como sendo a princi-

pal. Experiências inúmeras vieram demonstrar esta asserção, realizando-se as primeiras com o método da adaptação dos animais ao fundo claro e ao fundo escuro, outras com o processo da remoção dos olhos principalmente utilizando nas *Edriophthalmae*, ainda outras, pelo elegante processo da cobertura dos órgãos visuais com substância opaca.

Já em 1910, Frölich (p. 1) empregou em **Palaemon** este último método citado, notando uma expansão dos cromatóforos á noite, e mais ainda que os animais assim cegos perdem totalmente, em algumas semanas, o seu pigmento, tornando uma cor branca sem desenho algum. O mesmo A. experimentou ainda sectionar o nervo da perna, observando a seguir a perda do tonus dos cromatóforos da palma do membro correspondente.

O processo da adaptação ao fundo foi utilizado por Gamble (1910, p. 555) durante seus estudos sobre a variabilidade do pigmento na larva de **Hippolyte varians**. Nesta fase somente se encontra pigmento vermelho granuloso. Não ha pigmento amarelo algum presente, mas os cromatóforos são dotados de uma substância que se apresenta amarela á luz refletida e pardacenta á luz direta. Afirmo ainda Gamble que a luz não é essencial para a produção do pigmento vermelho nas formas jovens. De suas experiências comparativas sobre a influência do fundo claro e escuro e ação da luz, resultou que a ação deste excitante, quando monocromático, é inteiramente diferente que a de um fundo monocromático e luz branca. Á luz vermelha pura, por ex., desenvolve-se o pigmento amarelo. Á luz verde o pigmento carmin é produzido e se houver pigmento vermelho ou amarelo, desaparecem sempre completamente. Sobre um fundo vermelho em luz branca, **Hippolyte** torna-se vermelho-alaranjada; sobre um fundo verde em luz branca, **H.** ficará verde, mas a cor não é mantida se a vasilha for transferida para um fundo escuro, portanto absorvente. É interessante assinalar que este A. não notou evidencia de que os pigmentos da alimentação (algas) sejam fontes dos pigmentos desta Decapado. Esta observação concorda com a de Millot (1923, p. 364) que afirma jamais ter observado uma influência da alimentação na formação dos pigmentos dos cromatóforos. Os extensos estudos de Menke (1911, p. 41) em **Idothea**, aos quais voltarei no capítulo referente aos Isopodos, indicam tambem a influência da luz sobre os cromatóforos, mas acha-se em desacordo com os dois ultimos AA. mencionados pois que conclue de suas numerosas observações que á periodicidade do metabolismo corresponde tambem uma periodicidade do movimento dos cromatóforos. Menke trabalhou com **Isopoda**, Gamble com **Decapoda** e Millot com Vertebrados poiquilotermos, e os resultados discordantes daquele com os destes dois parecem indicar uma diferença acentuada ao metabolismo das células pigmentárias dos representantes de grupos tão diferentes.

A cobertura dos olhos utilizada por Me g u s a r (1912, p. 51) em **Gelasi-**
mus, **Astacus** e **Palaemonetes**, deu mesmo a idéia de que os cromatóforos
seriam células de formas determinadas, no que é contestado por D e g n e r
(1912b, p. 702). Este A. trabalhando com **Praunus flexuosus**, **Neomysis**, **Lean-**
der treillanus e **Crangon vulgaris**, com o auxílio dos métodos já referidos
(fundo claro e escuro e cobertura dos olhos) chegou á conclusão de que a
regulação dos movimentos dos cromatóforos não se realiza pelo sistema ner-
voso central visto como os Crustaceos cegos perdem a capacidade de adap-
tação ás côres. Quanto ao degamento, confirma a diminuição do pigmento
azul tanto nos cromatóforos como no tecido do corpo, ao mesmo tempo que
um grande aumento do pigmento granular branco se faz notar. Os **Crangon**
vulgaris apresentam na obscuridade artificial e natural, expansão pigmen-
tária. Exemplos após o cegamento mostram-se inativos quanto á cor na
obscuridade artificial. Ao cair da noite, porém, passam da sua condição
anormal clara á coloração escura quasi normal. E a cor noturna já aqui in-
dicada quando me referi a G a m b l e & K e e b l e em **Hippolyte varians**,
e da qual voltarei a tratar nos capítulos de minhas experiências. Os **Crangon**
cegos voltam, durante o dia, novamente a uma cor clara nitida. sim 01 e 7

São também de se referir ás observações de C u é n o t (1927, p. 134)
quando trata da homocromia nos animais. Na parte relativa aos Crustaceos
este A. confirma plenamente ás observações de G a m b l e & K e e b l e em
Hippolyte varians, salientando que os jovens têm a propriedade de harmo-
nizar rapidamente sua cor com a da Alga sobre a qual foram postos. Tal
mudança não se opera mais nos adultos, ou pelo menos nestes é ela tão
lenta que serão necessários cerca de oito ou mais dias para o animal "harmo-
nizar" a sua cor com a da Alga em que se acha colocado. 106. 107. 108.

Como nos Vertebrados poiquilotermos, também nos Crustaceos os crom-
atóforos são sensíveis ás variações de temperatura. D. C. Smith (1930,
p. 196-199) surpreso com o comportamento de **Macrobrachium acanthurus**
ás altas e ás baixas temperaturas, submeteu uma série deles sistematicamen-
te á determinadas variações. Verificou assim que em todos os exemplares
experimentados, o aparecimento do pigmento vermelho pardo era mais rá-
pido nas altas que nas baixas temperaturas. Ao calor, bastavam 10-15 minutos
para tornar o animal completamente escuro, enquanto que com o frio 30-45
minutos eram necessários. Os animais eram colocados de um fundo branco
para um preto a diversas temperaturas. Os camarões cegos artificialmente
e os cloretonizados tinham os cromatóforos em expansão, não sendo esta
influenciada pelo calor. 109. 110. 111. 112. 113. 114. 115. 116. 117. 118. 119. 120.

Verificada assim a via de transmissão do influxo luminoso, atribuiu-se
logo á corrente sanguínea importante papel na variação relativamente rá-

pida da côr destes animais. Sabido como os **Crustaceos** se adaptam facilmente ao fundo claro e escuro tomando cores claras ou negras, as pesquisas subseqüentes visaram um novo processo para tentar elucidar a natureza desta importante propriedade da contração e da expansão dos cromatóforos de tais Artrópodos. A influência da corrente sanguínea suscitou a idéa da existência de órgãos especiais incretorios que secretassem substancias capazes de actuar nos cromatóforos. O método das transfusões sanguíneas nos Crustaceos proporcionou uma série de experiencias com excelentes resultados. Por este método v. **Buddenbrock** (1926, p. 393) presupoz a origem endócrina da substância pigmento-activadora quando afirma ser o transporte da excitação de tal modo que uma glandula incretória sob o influxo do sistema nervoso central, lança no sangue do animal uma substância que provoca uma expansão ou retração dos pigmentos. Estas idéias foram posteriormente desenvolvidas por **Koller**, o qual ainda sob a direção do ultimo **A.** citado, em 1925 (p. 131) ensaiou pela primeira vez, ao que me parece, o método das transfusões de sangue em Decapodos. Assim, injectou o sangue de um animal escuro (**Crangon vulgaris**) em um outro claro. Este último de 7 a 10 minutos depois da injeção tornou-se escuro em virtude da forte expansão dos pigmentos. A operação contrária, porém, não deu resultados satisfatorios, i. é, sangue de animal claro injectado em um escuro não determinou um clareamento deste último, mas unicamente os pigmentos se expandiram.

As experiencias de **Koller** tão auspiciosamente iniciadas continuaram com bom êxito. Em 1927 (p. 243) nas que realizou em **Crangon** (no estado de *Mysis*) observou que os cromatóforos das larvas, nesse estado, mostram uma pronunciada constância celular quanto ao número e posição e a capacidade da mudança de côr, o que vem confirmar as observações ha pouco lembradas de **Gamble & Keeble** e **Cuénot** á p. 37 para **Hippolyte varians**. **Koller** ainda neste seu trabalho verifica que a alimentação, a temperatura, teor salino e oxigenico da agua não actuam sobre a côr e a mudança da côr de **Crangon**. O mesmo se dá com as irradiações ultra-violetas.

Se bem que **Perkins** (1928, p. 88) afirme que na época em que **Koller** publicára o seu trabalho, havia injectado sangue de um camarão em outro sem resultar mudança de côr e até o momento não obtivera êxito com o processo, cabe a **Koller**, sem dúvida, o ter aplicado esse meio seguro para elucidar alguns pontos da fisiologia da mudança de côr nos Crustaceos. **Perkins** (l. c.) afirma ainda que não conseguira resultados com a injeção de hormônios de Vertebrados (adrenalina e pituitrina) sobre os cromatóforos, salvo quando a quantidade injectada fosse tão grande que se desse uma expansão dos pigmentos como resultado da morte. Durante as pesquisas

sobre as v.ias nervosas para a mudança de côr, Perkins notou que o único corte que influiu sobre o fenômeno era o que se produziu sobre a artéria abdominal dorsal e deste módo localizou o curso do impulso pelo vaso sanguíneo ou pela rêde nervosa. Outras artérias foram lesadas tambem, e sempre resultou, como para as aa. antenarias direita e esquerda, uma perturbação na função cromática nas regiões por ela irrigadas. A secção porém da artéria oftálmica mediana produziu completa expansão dos pigmentos dos cromatóforos de todo o corpo, do mesmo módo que nos camarões em que os olhos foram removidos. Os produtos de tais experiências mostram de modo evidente a importante função dos olhos no mecanismo da mudança da côr.

Seccionada uma artéria em um camarão que foi adaptado ao fundo preto e o animal sendo colocado sobre um fundo branco, todos os cromatóforos excepto aqueles supridos pela artéria principiaram a contrair-se dentro de três a cinco minutos, como é evidenciado pela formação do pigmento azul, enquanto que aqueles da região operada não demonstram sinal de contração. Parece razoavel, afirma Perkins ainda (l. c., p. 89), supôr que os cromatóforos iniciaram a contração dentro de 5 minutos depois de cessada a suplência sanguínea, visto como nas condições dos tecidos, ha ainda a regulação do sistema nervoso. Tal demóra na contração é um fenômeno normal, visto poderem os cromatóforos de **Palaemonetes** contrair-se fóra do corpo do animal, isoladamente. Uma outra objeção á influência do sangue na mudança de cor sería aquela de que na secção dos vasos sanguíneos tambem se cortam os nervos que os acompanham e que são os condutores de impulso da mudança de côr. Perkins melhorou sua técnica procurando afastar tais objeções. Assim, conseguiu impedir a circulação do sangue fazendo por engenhoso processo a compressão sobre a artéria abdominal dorsal, o que determina a cessação da corrente sanguínea para a região posterior do animal, tendo como consequência, se a operação fôr feita em um camarão adaptado ao fundo preto e depois transportado para um branco, que as partes anteriores do animal se tornam claras, enquanto que as posteriores permanecem pretas. Restaurada a circulação sanguínea por descompressão do vaso referido, os cromatóforos da região posterior do abdomen passavam a contrair-se. A operação sobre animais adaptados ao fundo branco e transportados para um escuro, na compressão e na descompressão da artéria dorsal abdominal obteve pleno resultado positivo, i. é. a parte posterior do camarão que se achava clara antes da descompressão passou imediatamente ao escuro como as demais regiões do animal colocado em fundo escuro.

O fáto envolve tambem uma questão morfológica interessante. Foi demonstrado histologicamente, e fisiologicamente tambem que em **Palaemonetes**, contrariamente ao que acontece em outros Decapados, não existe uma

arteria esternal e nem ventral abdominal. Assim, a oclusão da a. dorsal abdominal afecta todos os cromatóforos da parte do abdomen posteriormente á região da oclusão, visto como toda a circulação abdominal então se interrompe. Tal situação peculiar em **Palaemonetes**, não se acha mencionada por Bouvier (1891, pp. 248-263) que admite em todos os Decapodos, com excepção de **Pagurus**, duas artérias abdominais, uma superior e uma inferior. A assérção de Perkins, porém, não se acha completamente certa. Brody e Perkins (1930, p. 128) procuraram esclarecer tal disposição arterial de **Palaemonetes** que teria escapado aos estudos extensos de Bouvier. O método de Knowler (1908, p. 207), ligeiramente modificado, proporcionou a estes A.A. estudarem o sistema arterial de **Palaemonetes vulgaris**. Chegaram á conclusão de que o abdomen deste Decapado recebe sangue principalmente pela artéria dorsal abdominal que se aprofunda ventralmente no sexto segmento do abdomen, e, dirigindo-se anteriormente como a corrente ventral, leva o sangue ao quinto e ás vezes ao quarto segmento abdominal. Os ramos laterais da artéria dorsal abdominal no terceiro e quarto segmentos suprem as porções ventrais dos mesmos, enquanto que a a. ventral abdominal irriga somente as porções ventrais dos dois primeiros segmentos. Este fáto explica a razão da ausência de afluxo sanguíneo ao abdomen, tanto dorsal como ventralmente, quando fôr ocluída a a. dorsal abdominal.

Concomitante com a influência da corrente sanguínea, surgiu a hipótese da existência de um órgão incretorio que, excitado pela luz derramará no sangue um producto capaz de actuar sobre os cromatóforos. A tal conclusão chega Koller em 1928, (p. 608) utilizando-se dos métodos de alimentação, injeção de certos extractos, operações destrutivas. Crê o A. na existência em **Crangon vulgaris** de um órgão incretorio a que denomina "órgão pretejador" que condiciona a expansão dos pigmentos pretos (Melanina) e vermelhos, situado na região mais anterior mediana e dorsal do encéfalo, i. é, na "região rostral" do **Crangon**. Afirmo o A. (l. c., p. 611) que pela primeira vez foi conseguida para a injeção dos animais sem vertebras a prova de que não é ela específica nem da especie nem do género. As conclusões de suas experiências até então foram resumidas em um trabalho de conjunto aparecido em 1929, no qual trata da secreção interna nos Invertebrados. No capítulo referente aos Crustaceos (p. 294) reafirma as conclusões anteriores sobre a possível presença de um "órgão pretejador" em **Crangon vulgaris**, o qual como figura (p. 296, fig. 17) estaria em relação directa com os pedúnculos oculares do Crustaceo e seria assim activado pelo estímulo luminoso.

As duas vias, a nervosa e a hormonal, passaram daí por diante, i. é, a partir dos estudos de Perkins e de Koller a constituir objecto de pesquisa intensa o que até hoje ainda se dá.

Continuando suas investigações, Koller (1930, p. 635) primeiro e depois Koller-Meyer (1930, p. 760 e seg.) em **Crangon**, determinaram uma glândula sanguínea ("Blutdrüse") que estaria situada na **membrana basilaris** e teria significação incretória. Designou-a aquele A. primeiro citado por "orgão branqueador" ("Weissorgan") em virtude de ser, na sua opinião, necessária a existência desta glândula para a adaptação do animal ao fundo branco. A secreção de tal orgão parece exercer em primeira linha uma influência sobre o cromatóforo para a contração. Servindo-se do método do cegamento, chegou á conclusão de que a operação realizada unilateralmente tem em geral sómente uma acção passageira: ligeiro clareamento dos animais escuros, ligeiro escurecimento dos animais claros. Alguns animais brancos não são mais aptos, depois de um cegamento unilateral, a uma contração total da melanina. A observação da situação do pigmento nas diferentes células coradas depois da cegueira bilateral, dá a apparencia de que existe, no cromatóforo policromatico, uma determinada dependência da expansão de um pigmento para a contração do outro. Veremos a importancia deste fáto no capítulo relativo aos cromatóforos dos **Isopoda**, na parte experimental. Os movimentos dos pigmentos, determinou ainda Koller, não correm somente por conta de adequadas irritações dos nervos da visão, mas também poderão ser devidos a inadequadas excitações óticas como irritações mecânicas ou elétricas. Os dois AA. ultimos referidos comprovam ainda a inespecificidade das substâncias a que atribuem valôr harmonico. Assim experimentando em **Idothea tricuspidata** a injeccção de extractos pedunculares de **Crangon vulgaris**, **Praunus flexuosus**, e **P. inermis** e extractos de cefalotorax de duas espécies de **Mysis** notaram a sua influenciação sobre os cromatóforos. Os extractos de partes do abdome foram porém ineficazes na mesma operação. Do mesmo módo, os extractos de pedunculos oculares de **Praunus** actuam favoravelmente nos cromatóforos de **Crangon**.

Neste trabalho agora aludido, os mencionados AA. apontam ainda, para comprovar a inespecificidade da substância capaz de agir sobre os cromatóforos que se encontram no pedúnculo ocular, injeccções do referido extracto de **Crangon** e de **Praunus** que fizeram em **Gobius ruthensparri**, em **G. minutus**, e em **Pleuronectes platessa** e observaram que os melanóforos destes animais também se contráem como os de **Crangon**. O extracto da região rostral, porém, foi inactivo. Afirmam os AA. supra indicados (p. 768) que pela primeira vez ficou provada a eficacia de hormónios de Invertebrados sobre os Vertebrados. Mais tarde (1931 p. 231 e seg.) Meyer trabalhando com **Gobius** e **Pleuronectes** confirma novamente estas experiencias conforme já foi citado no capítulo relativo aos cromatóforos dos Vertebrados á p. 21.

Admitida assim a influenciação dos cromatóforos por via nervosa e hormonal, Giersberg (1931, p. 364) apresenta extenso relatório sobre as mes-

mas dando um resumo do estado da questão, referindo porém ser a primeira mais intensa nos Vertebrados e a segunda nos Invertebrados, particularmente nos Inséto.

Ao lado destas pesquisas mais intimamente relacionadas com a substancia que actua sobre o elemento efêtor, o melanóforo, encontramos ainda outras em que, por processos mais ou menos similares, estabelecem novas propriedades das células pigmentárias. Assim, Perkins e Snook (1932, p. 117) removeram um dos olhos de um camarão adaptado ao fundo branco e lesaram o outro na base, e verificaram que logo após a extirpação do olho os cromatóforos vermelhos ficaram completamente contraídos sobre um amareló. Extirpando o segundo olho o pigmento amarelo começou a expandir-se em ca. de 5 minutos e tão rapidamente que a sua progressão não pode ser observada prontamente. O pigmento vermelho começou a expandir-se em ca. de 10 minutos, tendo sido possível fazer um diagrama do progresso da expansão como os AA. figuram á p. 118 (Fig. 1, a, b, c). Certas irregularidades nos movimentos destes cromatóforos trouxeram alguma luz sobre a natureza de sua actividade. Acham que o processo do cromatóforo permanece fixo na posição dentro dos espaços dos tecidos e que tem paredes elasticas que colapsam quando o pigmento retrocede. Atribuem ser o pigmento confinado dentro das paredes do cromatóforo em todo tempo, pois que grupos isolados de grânulos de pigmentos devem ser circumdados por delicada membrana do processo cromatófórico que adere intimamente a ele. Esta conclusão não deixa de ser mais uma contribuição para a compreensão da natureza dos cromatóforos já discutida á p. 12.

A acção dos chamados hormónios dos Crustaceos — extracto de pedúnculos oculares — sobre os Vertebrados foi tambem comprovada pelas experiências de Perkins e Kropp (1932, p. 111) que usaram o extracto de pedunculo ocular de *Palaemonetes vulgaris*, injectando-o em girinos de *Rana clamitans* adaptados ao fundo branco. O resultado foi um escurecimento da péle destes Anfíbios, que começou logo cinco minutos depois da injectção atingindo o máximo 30 minutos depois. No mesmo ano, Kropp continuando a série de experiências para demonstrar a inespecificidade do hormónio do pedúnculo ocular dos Decapodos, injectou este extracto obtido de *Palaemonetes vulgaris* (p. 690) nas doses de 5, 10, 50 e 100 pedúnculos em Ratos. Sacrificou estes no quarto dia após a injectção. Não observou diferenças significativas no exame dos orgãos (gonadas) dos animais experimentados em comparação com os testemunhas. Referindo-se ás qualidades hipofisárias dos referidos extractos, acha que não obstante serem elas existentes como seja para a acção sobre os melanóforos, a secreção dos Invertebrados não produziu uma alteraçã nas gonadas dos mencionados Mamíferos, como acontece com a hipótise.

O ciclo destas experiências continúa ainda com K r o p p e P e r k i n s (1933, p. 29) que procuraram saber qual o efeito da substância ativadora dos cromatóforos existentes no pedúnculo ocular de **Crangon** sobre os cromatóforos dos Peixes e Anfíbios. Injectaram um total de duzentos pedúnculos oculares macerados em agua do mar, fervendo-os, centrifugando-os e decantando o extracto. A seguir, diluíram este extracto em dois cc. de agua de mar. Foram utilizados Peixes adaptados ao fundo escuro e ao fundo claro. As reações máximas foram obtidas em **Fundulus heteroclitus** adaptados ao escuro tendo a injeção determinado contração extrema dos cromatóforos. Em **Rana clamitans** a injeção provocou extrema expansão dos melanóforos. Em outros animais (Peixes) houve também resultados ligeiramente positivos para contração ou absolutamente nulos. Os mesmos AA. buscaram obter em vários Crustaceos (**Crangon boreas**, **Pandalus montagni**, **Homarus americanus**, **Pagurus longicarpus**, **Libinia emarginata** e **Cancer erroratus** e em **Mysis stenolepsis**) a acção humoral da activação cromatofórica. Pelas injeções de extracto de pedúnculo ocular verificaram (1933, p. 29) que tal substância activadora cromatofórica é muito largamente distribuída e de nenhum modo restrita aos Decapoda. Sua ocorrência não poderá portanto ser tomada como fortuíta em uma simples espécie, mas como geneticamente presente, provavelmente através do grupo e correlata com os efêtores cromatofóricos nos estados larvários e adultos.

Estabelecida uma certa relação entre o extracto de pedúnculo ocular dos Crustaceos com o efeito provocado pela hipófise, como por ex. o efeito cromatoforotrópico determinado por Z o n d e k e K r o h n (l. c.) nos Anfíbios e em muitos outros Vertebrados, e que as reações de tal órgão (hipófise) podem ser obtidas por meio de extractos de urina durante a gravidez, propuzeram N a v e z e K r o p p (1934, p. 250) investigar a possível acção do extracto de pedúnculo ocular no crescimento dos tecidos vegetais. Utilisaram-se das coleptíles de **Avena** e das raízes cortadas de **Lupinus**, aplicando o extracto pelo método dos blocos de agar. Os Crustaceos empregados nas experiências foram todos **Palaemonetes vulgaris**. Determinaram a eficiência do produto por meio de injeções em **Palaemonetes** adaptados ao fundo escuro segundo a técnica usual e depois aplicaram-no às plantas. As conclusões destes AA. foram pela existência de uma substância capaz de promover aumento da velocidade de crescimento de raízes cortadas de **Lupinus** e das coleptíles de **Avena**, no pedúnculo ocular de **P. vulgaris**.

Admitida assim, pelo menos fisiologicamente, a existência de órgãos da natureza incretória no pedúnculo ocular dos Crustaceos e na parte rostral, seja a glândula sanguínea ("Blutdrüse") ou o "órgão preteizador" (Schwarzorgan) ou ainda o "órgão branqueador" ("Weissorgan") de K ö l l e r, ou

mesmo todos, é natural que os pesquisadores porfiassem em determinar tais órgãos objetivamente por meios histológicos. Dignos de menção pela sua excelência e pela seqüência lógica seguida, são os trabalhos de Hanström e sua escola. De ha muito vem este A. pesquisando acurada e sistematicamente a histologia dos centros nervosos dos Crustaceos (1924, p. 1; 1925, p. 221; 1928, p. 1; 1929, p. 154; 1935a, p. 1, entre muitos dos seus trabalhos). Em 1931 (p. 200) identificou em *Squilla* um órgão, o qual pela sua situação e fina estrutura apresentava analogia com os grupos celulares encontrados por Scharrer (1928, p. 32) no diencéfalo de *Phoxinus laevis*. Por desconhecer a sua natureza e função, Hanström (l.c.) denominou-o "**orgão X**". Afirma que tal órgão não fôra ainda descrito mas que Bellonci (1822, ap. Hanström l.c.) o figurára também em *Squilla* (Fig. 1 t. 2) sem descreve-lo porém. Em 1933, Hanström (pp. 480-490) identifica o mesmo órgão em *Benthescymus*, *Gennadas*, *Sergestes*, *Acanthecephyra*, *Parapandulus*, *Virbius*, *Lysmata seticaudata*, *Spirotoncaris poiaris*, *Pontonia syrrhena*, *Processa edulis*, *Pontophilus norvergicus* e *Parapandalus*. Não o encontrou porém em vários outros animais estudados. Em 1934b (p. 138) o mesmo A. apresenta uma descrição pormenorizada deste órgão em *Acanthecephyra*, assinalando a correspondência da estrutura do mesmo com as células encontradas por Scharrer acima mencionadas. Ainda no mesmo ano (1934c, p. 5) indica todos os Crustaceos em que encontrou o "orgão X" e estudando a natureza da secreção admite (p. 11) uma fundação hormonal possível, sendo presumivelmente o órgão secretor da substância activadora dos cromatóforos já indicada por Köller (1928-1930), Köller-Meyer (1930), Parker (1930a, 1932) etc. As relações entre o órgão branqueador de Köller e a glândula sanguínea descrita por Hanström (1931 l. c.) e Sjögren (1934, p. 147) não estavam ainda bem esclarecidas. Tendo em vista porém que Welsh (1930, p. 486) em suas pesquisas sobre a migração do pigmento distal dos olhos de *Macrobrachium*, a qual verosimilmente se daria pela influência diréta do sangue e indiréta do sistema nervoso, e as de Parker (1932, p. 282) em que admite uma influência humoral sobre a migração dos pigmentos da retina nos olhos dos Crustaceos em geral, Hanström (1934c, p. 13) lembra que o órgão branqueador de Köller já havia sido por ele (1933, p. 200) e por Sjögren (l. c.) descrito como glândula sanguínea. Recorda ainda mais o mesmo A. que até então sómente havia encontrado o "orgão X" em **Stomatopoda** e em **Decapoda**. Uma glândula sanguínea dos Decapodos verosimilmente homóloga com o órgão X crê ter encontrado na vesícula papilar das **Mysidaceae** no seio sanguíneo dos **Stomatopoda** (1933, p. 507), o que seria de interesse fosse confirmado visto como Köller-Meyer

(1930, p. 762) no pedúnculo ocular das **Mysidaceae** do gênero **Praunus**, encontraram um hormônio activador da mudança de côr.

A questão do órgão ou dos órgãos responsáveis pela produção de tais substâncias activadoras apresenta-se agora sob um aspecto relativamente complexo, principalmente quando se lembra que Parker (1933c, p. 176) escreve: "quando os pormenores destas relações em um animal como **Cran-gon** são apontados, a complexidade da situação deve ser evidente. Este camarão, de acôrdo com Koller, adapta-se bem ao branco, ao amarelo, ao alaranjado ou ao fundo vermelho. Deveremos admitir um hormônio separado ou possivelmente um par de hormônios para cada uma destas mudanças?"

Vem muito a proposito lembrar que Brown (1935a, p. 319) em seus estudos sobre a mudança de côr em **Palaemonetes** estabeleceu para o mesmo quatro espécies de pigmentos: branco, vermelho, amarelo, azul, admitindo (1935b, pp. 4-13) que os mesmos são regulados por hormônios independentes. Assim, o pigmento seria influenciado por um hormônio concentrador produzidos nos pedúnculos oculares e em tecidos da região anterior do céfalo-tórax. O hormônio concentrador do pigmento vermelho teria origem também nos pedúnculos oculares e no sistema nervoso central, sendo de se presumir fosse o pigmento azul susceptível também a um hormônio também de origem pedúncular. Ainda sobre o mesmo assunto são dignas de nota as pesquisas de Abramowitz (1937a) sobre a fisiologia comparativa das "respostas pigmentárias" nos Crustaceos. De suas experimentações em **Mysidaceae**, **Decapoda** e **Isopoda** julga ainda não autorizado (p. 419) a resolver o problema da existência de hormônios unitários ou múltiplos, afirmando ser esta ainda uma questão aberta na fisiologia das secreções internas dos Crustaceos. Beauvallet e Veil (1934, p. 688-90) em pequena nota, fazendo uma comparação entre os cromatóforos dos Peixes e os dos Crustaceos indicam que, fisiologicamente, para os últimos a regulação dos movimentos é de ordem humoral, havendo uma contractina secretada pelo pedúnculo ocular e uma substância antagonista oriunda da parte rostral. De passagem apenas, lembro ainda que estas AA. assinalam como diferença entre os cromatóforos dos animais acima designados, a falta de reacção á corrente elétrica pelos dos Crustaceos.

Em 1934b, Hanström (p. 19-20) na continuação de suas pesquisas, compara ainda o "órgão X" ao órgão frontal dos Crustaceos, aos quais confere igualmente uma possível função incretória. Por tal razão Nowikoff (1934, p. 379) estabelece uma relação estreita entre elementos glandulares e nervosos (olhos em especial). As relações mostram-se, em primeira linha, na função onde os elementos nervosos adquirem a faculdade de secretar

como uma função anexa, ou mesmo se transformam totalmente em células glandulares. Aliás, tais relações foram demonstradas em trabalhos fundamentais por Ernst e Berta Scharrer em varias publicações. De fato, em 1928 o primeiro destes AA. (p. 21) descreve no diencéfalo de **Phoxinus** células com propriedades secretoras. Em 1930 (p. 768) o mesmo A. confirma suas pesquisas anteriores, mas agora em **Fundulus heteroclitus** e mais tarde, em 1932 (p. 492-497) conclúe pela natureza glandular destas células em **Perca fluviatilis** e ainda em **Phoxinus laevis**. Ainda no mesmo ano (1932, p. 575, figs. 2 e 3) figura estas células, indicando a presença nos vacuolos de uma substância coloidal. É preciso notar que desde o início de sua pesquisas E. Scharrer se preocupou com o fenômeno da mudança de cor, como se vê, por ex. no seu trabalho sobre a influência da iluminação unilateral em **Gasterosteus aculeatus** e **Phoxinus laevis** (1929, p. 105). Cumpre lembrar porém, que a atribuição de uma função incretória aos órgãos nervosos se encontra já anteriormente descrita por Speidel (1922, p. 303-317) na **Raja**.

B. Scharrer renova as pesquisas de E. Scharrer mas em Invertebrados. Assim em 1935 (ap. B. Scharrer 1936, p. 299) a A. descreve o "orgão X" de Hanström nos **Opisthobranchia**; ainda no mesmo ano (Ibid.) estuda as glândulas da mesencéfalo em **Cristiceps argentatus** e a seguir (p. 300) descreve "células-nervosas-glandulares" em **Nereis virens** já apontadas por Hamaker (1898, p. 98) no mesmo animal mas não com o caracter de elementos secretórios. B. Scharrer (l.c., p. 302) conclue que dos Vermes ao Homem, podem encontrar-se estes novos tipos de células nervosas, sem que até então se tenha podido dar a tais elementos uma significação.

Ainda a respeito dos Crustaceos devo mencionar que Hanström (1935b, p. 585) em **Callinectes** procurou determinar a região dos olhos que transmitia o influxo luminoso excitador do órgão incretório contido no pedúnculo. Fez cegamentos parciais dos olhos deste animal e chegou á conclusão de que a substância activadora está contida na metade distal dorsal do pedúnculo ocular de **Callinectes**. Em **Homarus**, ao contrário, ela se encontra na metade proximal. Em **Pagurus** o "activador" acha-se nos dois terços proximais e em **Uca pugilator**, de acôrdo com experiências realizadas com Carlsson, no terço médio do pedúnculo ocular. Anota ainda que em **Uca** a glândula sanguínea se acha no terço médio e é bem desenvolvida, enquanto que o "orgão X" é muito pequeno ou mesmo completamente reduzido.

Em 1937b, Abramowitz (p. 345 e seg.) promoveu a standardização do hormônio cromatoforotrópico dos Crustaceos, utilizando-se para

isso de **Palaemonetes vulgaris**, **Uca pugilator**, **U. pugnax**, com doses determinadas de extractos de pedúnculo ocular. Chegou a verificar o seguinte: a) primeira resposta perceptível; b) obtenção do efeito máximo; c) duração da expansão do melanóforo; d) período durante o qual os melanóforos se contraem novamente. Estabeleceu assim a unidade **Uca** que corresponde á quantidade de hormónio contido em um c.c. de solução, 0,05 dos quais, quando injectados em cada um de 15 especimes de **Uca pugilator** previamente cegos, produzem uma resposta cuja média de duração é cerca de 5.0 horas.

A questão do ritmo diurno e noturno já antes lembrada em vários Crustaceos toma agora um outro aspecto. **Kleinholtz** (1937b, p. 179 e 184) procurou estudá-la em varios **Macrura** e **Brachyura** á luz dos novos conhecimentos no dominio da fisiologia carcinológica. Chega á conclusão que tal ritmo se acha na dependência da secreção hormonal. O mesmo **A.** (1938b, p. 520) trabalhando com **Crangon**, **Hippolyte varians** e **Leander adspersus** procurou saber quantos hormónios se encontram envolvidos no contróle do sistema pigmentário dos Crustaceos. Para isso adotou os métodos de adaptação ao fundo claro e escuro, o das injeções e o da destruição da região rostral. Conclue **Kleinholtz** pela hipótese da existência de um hormónio unitário, i.é, pela existência de um único hormónio melanóforo-dispersor, originado na região rostral.

Abramowitz e **Abramowitz** (1938, p. 278 e seg.) numa série de variadas experiências, tentaram determinar a especificidade e as propriedades dos hormónios cromatoforotrópicos, servindo-se de **Uca pugilator**. Como conclusões interessantes deste estudo devo mencionar o fato da água destilada provocar expansão dos melanóforos quando injectada em animais cegos. A quantidade de hormónio contida em um pedúnculo ocular de **Uca** de 5,0 grs. de peso, foi calculada em 0,2 γ . O mínimo de hormónio activo foi determinado ser 0,00006 γ .

Cumpré ainda notar que ao chamado "orgão branqueador" **Köller** (1930, p. 657) atribue ainda a particularidade de secreção de um hormónio destinado á regulação da deposição do calcio no exo-esqueleto dos Crustaceos, além da já aludida actividade cromatoforotrópica. **Brown** (1938 p. 553) partindo das asserções de **Köller**, procurou saber quais outras influências os pedúnculos oculares poderiam exercer no organismo dos Crustaceos. Para isso, fez em uma série destes animais a ablação dos referidos órgãos e verificou que no pedúnculo ocular dos Crustaceos existe realmente uma substância química essencial para a manutenção da vida do animal, visto como, todos os animais por êle operados não duravam mais que vinte e cinco dias.

As propriedades químicas do chamado princípio cromatóforoconcentrador foram estudadas, entre outros, por Kalmus (1938, p. 790-795) o qual verificou que o extracto é solúvel nos alcoois metílico, etílico, butílico, na acetona e às vezes no cloroformio, sendo insolúvel no éter.

Como acabamos de vêr pelo exame da literatura sobre os cromatóforos dos Crustaceos em geral, extraordinárias têm sido as conquistas principalmente no domínio da fisiologia destas células. Deante dos resultados obtidos com meios técnicos mais exactos, por assim dizer ficaram de lado as questões relativas á morfologia destes elementos condicionadores da mudança de côr. Talvez por isso mesmo, problemas inúmeros vêm aparecendo, num ritmo crescente, sem que aos mesmos se possa dar uma solução satisfatória. O ritmo da mudança de côr já descrito para **H. varians** parece constituir uma condição própria dos animais que teem a propriedade referida. Pauli (1926, p. 425) descreve tambem um ritmo diurno e noturno da mudança de côr em larvas de Salamandra.

A histologia das células pigmentárias apresenta pontos onde não se estabeleceu ainda a necessária harmonía de vistas. Assim, por ex., aqui tanto quanto para os elementos correspondentes dos Vertebrados poiquilothermos, o caráter da célula é ainda discutido. Matzdorff, Megusar, Minkewicz, Frölich atribuem ás mesmas um caráter amiboide, enquanto que Gamble, Keeble, Verne, Perkins, Kropp opinam sejam elementos fixos tendo sómente os grânulos móveis dentro dos prolongamentos celulares ramificados que se contraem sob a acção de vários excitantes. Bem interessante é a convicção de Perkins e Snook de que as células são fixas mas os prolongamentos são retracteis e expansíveis, sendo providos de membrana que "colapsa durante este movimento". A existência de espaços preformados nos quais se expandem os processos celulares e dentro deles os grânulos de pigmento constitue opinião de Parker. A hipótese de Spaeth, aceita tambem por Matthews, de que os pigmentos dos cromatóforos se acham num estado coloidal, sendo os seus movimentos correspondentes á "solisação" e á "gelificação" não passa, ao meu vêr de uma fotografia do problema dada a complexidade em que ainda se encontra a questão dos colóides biológicos.

A química dos pigmentos dos cromatóforos acha-se apenas delineada para os dos **Decapada**. Verne menciona duas qualidades de pigmentos sob este ponto de vista, introduzindo o novo termo "zoeritrina" para aqueles da série carotinoide.

Fisiologicamente acha-se firmada a influência da luz sobre os cromatóforos e a sua sensibilidade ao substrato, i.é, os animais tornam-se claros em fundo branco e escuros num fundo preto. A côr noturna já foi assi-

nalada por Gamble e Keeble e confirmada por outros AA. (Kleinholtz e Welsh, 1937 p. 852). Ao lado desta propriedade nota-se ainda, principalmente em Decapodos, outras particularidades por influência da noite, como sejam transparência do animal, aceleração dos batimentos cardíacos, etc.

A inervação das células pigmentárias ainda não se fundamenta em bases histológicas, sendo porém afirmada fisiologicamente dadas as reacções aos excitantes químicos. Não obstante os trabalhos de Alexandrowicz (1909, p. 400-402) e os da escola de Bethé (1896 em diante) e ser admitida uma inervação simpática nos Crustaceos ainda não se demonstrou morfológicamente a relação da mesma com os cromatóforos. A opinião de que os cromatóforos dos Invertebrados correspondam a células musculares é aceita pelos AA. principalmente para os dos Cefalópodos; quanto aos dos Crustaceos, porém, não obstante varias provas em favor da mesma, alguns pesquisadores guardam reserva.

Devo assinalar aqui o fáto de ter sido afirmada por Retzius em 1891 (p. 45, t. 13 fig. 13), a existência de uma inervação dos cromatóforos dos Crustaceos. Pesquisas inúmeras que procuram confirmar o achado de Retzius foram, porém, até hoje completamente negativas.

A importância da corrente sanguínea foi assinalada principalmente pelas investigações de Parker, as quais podem ser consideradas como uma preparação á hipótese hormonal hoje corrente. Os movimentos dos cromatóforos acham-se pois em dependência estreita do sangue e do sistema nervoso, admitindo-se neste a particularidade de secreção de substâncias cromatóforo-activadoras veículadas por aquele. A hipótese "neurohumoral" de Parker sucedeu-se aquela hormonal proposta pela escola de v. Buddenbrock e fundamentada fisiologicamente pelas pesquisas numerosissimas de Perkins, Koller-Meyer etc. Morfológicamente, a influência da corrente sanguínea foi comprovada pelas interessantes pesquisas de Perkins com o método de oclusão temporária de vasos sanguíneos.

Deve-se a Koller e a Hansström principalmente a identificação nos órgãos nervosos de regiões com propriedade de secreção de substancia cromatoforoatrópica. O primeiro deduziu tal existência de suas investigações no dominio da fisiologia, e o segundo com a sua técnica histológica precisa, objetivou tais órgãos (glândula do seio e órgão X) morfológicamente. A questão porém não se acha completamente resolvida. O proprio Hansström afirma (1937a, p. 29) que a presença do órgão X não é indispensavel para que os pedúnculos oculares dos Decapodos produzam a substância hormonal. Assim, por ex. em Astacus foi notada a particularidade de pro-

ducção de elementos pigmento-activadores, mas não identificada a existência do "orgão X"

Sobre este ponto, existe notável paralelismo entre as experiências realizadas nos Vertebrados e nos Invertebrados. Em ambos foi determinada a preponderância da via indirecta de actuação sobre os cromatóforos, i.é., a influência dos olhos. E destes órgãos a metade ventral é aquela que recebe o influxo luminoso estimulante da producção do hormónio.

Uma das propriedades dos cromatóforos dos Crustaceos é aquela da sensibilidade aos hormónios produzidos pelos Vertebrados, oriundos da hipófise e das suprarenaes. E a substância hormónica produzida nos pedúnculos oculares de vários **Decapoda** é também activa sobre os cromatóforos dos Vertebrados poiquilothermos. A experiência de Perkins e Kropp sobre a acção negativa de tal substância em Mamíferos (Ratos), ainda permanece única no capítulo da fisiologia dos hormónios dos Invertebrados. Dadas as propriedades por assim dizer "hipofisárias" da substância pigmento-activadora produzida pelos Crustaceos, será necessário um estudo sistemático dos órgãos productores da mesma. No momento, as experiências até agora realizadas, por aqueles AA., podem ser consideradas como uma hipótese a ser verificada.

A influência do metabolismo do animal no sistema pigmentario constitue ainda uma questão aberta. Gamble e Keeble Verne Millot e outros afirmam serem os cromatóforos indiferentes ao metabolismo, ao passo que Koller e alguns dos seus colaboradores concluem pela sua eficácia. Alguns factos verificados na histologia destas células, parecem apoiar esta última asserção, como por ex. a presença de grânulos de gordura constatada por Keeble e Gamble nos cromatóforos, e também a íntima relação que tais células mantêm com a corrente sanguínea.

Finalmente, pode-se dizer que não obstante os progressos da técnica moderna terem influido preponderantemente na fisiologia dos cromatóforos dos Crustaceos, restam ainda muitos problemas bem interessantes para cuja solução será eficaz um trabalho de conjunto em que participem a morfologia, a fisiologia e a química.

VI

CROMATÓFOROS DOS ISOPODOS

Não obstante a inferioridade em número, como já, acentuei, relativamente aos **Decapoda**, das pesquisas tanto histológicas como fisiológicas dos cromatóforos dos **Isopoda**, já de longa data têm sido estes elementos objetos de estudo por parte de alguns pesquisadores. Assim, em **Trichoniscidae** **Weber** (1881, p. 583 e seg) localiza as células pigmentárias na matrix da epiderme, admitindo serem elas contracteis e formadoras de pigmento da pele. Seu trabalho é fundamental no estudo desses **Isopoda**.

Remane (1931, p. 109) distingue em **Idothea tricuspidata** três tipos de cromatóforos: escuros, sempre presentes variando de indivíduo para indivíduo (pardo, violeta escuro, raramente alaranjado claro); brancos encontrados ao longo da linha mediana sagital dos tergitos e também nas paredes do coração; amarelo-esverdeados dispostos em linhas longitudinais lateralmente no dorso. Além dos cromatóforos, o A. atribue a cor do animal a outros elementos, como sejam: as cores internas próprias dos tecidos ou da corrente sanguínea, e a cor especial da quitina geralmente amarelo esverdeada clara.

Quanto á estrutura menciono apenas mais o trabalho de **Patané** (1936, p. 209) que resume extensa bibliografia e no qual figura (t. 5, fig. 6) os pigmentos de **Ligia oceanica** na camada profunda do exoesqueleto.

Quanto á fisiologia dos cromatóforos, lembro que desde 1879 **Mayer** (p. 521) em **Idothea**, notou a mudança consideravel da cor quando submetia o animal ao ambiente escuro ou claro.

Especialmente em **Ligia**, **Tait** (1910, p. 1) assevera que em **L. oceanica** a luz não tem influencia sobre os cromatóforos, parecendo a este A. ser totalmente indireto o estímulo sobre ás células pigmentárias actuando o olho como órgão receptor. A pequena nota de **Tait**, infelizmente, não adianta outros pormenores, parecendo mesmo tratar-se de uma observação fortuita e não completa, porquanto, como veremos, sua opinião permanece única na questão relativa á não influencia da luz.

Idothea foi ainda objeto de extensas investigações de **Menke** (1911 p. 43) o qual, mantendo os animais em aquário, nota serem eles mais escuros de dia do que á noite. Muitas formas, especialmente as de coloração escura, não deixam perceber nenhuma mudança de cor. Sobre um substrato cin-

zento de areia, os cromatóforos distendem-se durante a manhã para se contraírem á tarde. Num substrato escuro, o período da mudança de côr desloca-se mais para o lado da contração. Com muita justeza, nota o A. que na verificação desta periodicidade é necessário que as condições externas — substrato, temperatura, teôr salino da água — sejam mantidas constantes para todos os animais em observação. Experimentou ainda (p. 45) a influência do fundo sobre o movimento dos cromatóforos. Seus resultados não diferem daqueles já mencionados para outros crustaceos. Estabelece também as relações entre a periodicidade e outros fatores como sejam metabolismo, temperatura, ação do éter, influência do sistema nervoso, etc.

Piéron (1913, p. 952) verificou em **Idothea** o fáto da mudança de côr sob a ação da luz ou da obscuridade. Descreve o pigmento deste Isópodo, como sendo composto de grãos arredondados, animados de movimento brauniano. Insiste o A. na presença de um pigmento verde o qual aparece á noite em todas as **Idothea** observadas, ao mesmo tempo que se dá uma retração dos cromoblastos. Esta côr verde noturna corresponde, para Piéron áquela cobertura azul noturna de que **Hippolyte** é dotada, como já mencionei á p. 32. Um pouco mais tarde (1914, p. 30 e seg.) este mesmo A. confirma estas suas observações no mesmo Isopodo (**Idothea**) e em outro da familia **Sphæromidae (Dynamene rubra)**. Neste importante estudo, Piéron procurou analisar o comportamento de **Idothea** submetida á influência do fundo, da obscuridade, com olhos cobertos ou não de substância opáca. Em suas experiências verificou (p. 53) a generalidade do fenômeno da persistencia rítmica das coberturas diurna e noturna. Tal persistência não parece indefinida, e está sob a dependência de diferenças individuais.

Quanto ao mecanismo da retração e da expansão dos cromatóforos, lembra o A. ser mais provavel a migração dos grânulos de pigmento no interior dos prolongamentos invisíveis das células. Em **Idothea** os cromoblastos brancos seriam nocívos á homocromiã, visto como, sobre Algas pardas, na luz, tais manchas brancas revelariam a presença do animal. Como Matzdorff, o A. admite a existência do pigmento verde neste Isopodo, mas não incluído em cromatóforos e sim no estado difuso. Seria tal pigmento análogo (p. 58) ao azul de **Virbius varians**.

O mecanismo das variações cromáticas está sob a dependência direta do sistema nervoso, pelo menos em **Idothea** (Piéron, l. c.). Outros fatores podem também interferir, como seja a nutrição.

Em **Dynamene** o mesmo A. observou que a retração dos cromoblastos que se dá durante á noite não se acompanha necessariamente da dos cromoblastos esbranquiçados e ficando geralmente expandidos os verdes. Quanto á tonalidade noturna do animal, deve-se distinguir nesta **Flabellifera**,

o aspecto esverdeado do tubo digestivo, visto por transparência, daquele devido á difusão do pigmento verde.

Tanto em um como em outro destes dois Isopodos, Piéron acha que ao lado da adaptação cromática (p. 79) existiria também uma adaptação luminosa, assegurando, não mais a homocromia mas a homofania. Esta resultaria de uma certa atividade dos cromoblastos e de particularidades independentes do animal, tendo talvez uma função protetôra cujo valor ainda não póde ser exactamente apreciado.

Remane (l. c., p. 110) refere-se em *Idothea tricuspидata* á correspondencia de contração e de expansão dos cromatóforos claros e escuros, denominando tal movimento de sincromatóforo.

Mais recentemente, A.A. americanos dedicaram atenção especial á fisiología dos **Isopoda**. Entre eles são dignos de menção os trabalhos de Kleinholtz (1937, p. 26) relativos ao chamado ritmo diurno da **Ligia baudiniana**. Em numerosas observações e experiências com o fundo preto e branco conclúe Kleinholtz pela presença de um ritmo diurno da actividade pigmentária, sendo tais Isopodos escuros durante o dia e claros á noite, o que concorda com as observações de Menke em *Idothea*, ha pouco lembradas. Kleinholtz (l. c., p. 34) experimentou também a acção de extrátos dos pedunculos oculares de **Gebia affinis** e **Hippa talpoida** em **L. baudiniana**, tendo verificado serem ineficazes na concentração de cromatóforos dispersos, porque, acentúa, a glândula sangúinea é ausente nos pedunculos oculares deste Crustaceo. Extractos preparados de cabeças totais destes dois Décapodos, mostraram-se ativos porque os orgãos presumíveis, possuidores de uma função endócrina, estão localizados na superfície do cérebro. Por serem sesseis os olhos de **Ligia**, utilizou a cabeça total para preparar os extractos. Injecção de preparados assim obtidos feita nos espaços do corpo de **L. baudiniana** determinou um clareamento da côr pela contração dos melanóforos. Viu ainda mais o mesmo A. que os extractos, de cabeças de **L. escúras** e **claras**, nas duas condições de ritmo diurno são praticamente iguais nos efeitos da concentração dos melanóforos dos Isopodos escúros. Conclúe, porisso, que a atividade pigmentária diurna não é devida a um ciclo de exaustão e elaboração do material secretado na glândula endócrina controladora das mudanças de côr.

Ainda em 1937, H. G. Smith da escola H o g b e n, utiliza como material de suas experiências **Ligia oceanica** (p. 250 e segl.) procurando verificar o mecanismo receptor da resposta ao fundo pelo comportamento cromático. A escolha de **L. oceanica** diz o A., foi motivada por possuir olhos sesseis e por isso ser possível mais prontamente um contróle do campo de visão que nos **Decapoda** e **Schizopoda**. também por conter um sistema

pigmentário efetôr relativamente simples. Realmente, em **Ligia**, os xantóforos e os melanóforos são separados.

Smith (l. c.) adotou em suas pesquisas para avaliar os estados dos cromatóforos em contração e expansão, o index introduzido por Hogben e Slome (1931, p. 12) e Hogben (1936, p. 144). Tal índice dá o valor 1.0 para a contração máxima e 5.0 para a máxima expansão. Com processos relativamente modernos, chega o A. a concluir que em **Ligia oceanica** ha uma resposta primária e uma secundária á influência do fundo, para as quais já Stephenson (1932, p. 913; 1934, p. 391) chamára a atenção em **Porcelana longicornis**, **Eupagurus bernhardes** e **Galathea strigosa**. As respostas ao fundo preto dão-se quasi como aquelas dos animais cégos. Admite uma resposta primária, diréta dos melanóforos, independente e distinta do fundo, e uma secundária que depende dos olhos que funcionam como órgão receptor. Animais cégos apresentam, na obscuridade, um index melanofórico mais baixo que á luz brilhante. Animais não cégos quando guardados em fundos branco ou preto, têm um baixo index melanofórico se sujeitos á iluminação reduzida. Para o A., o mecanismo de coordenação cromática envolve a produção de um ou mais hormónios e a significação do tempo das relações das respostas cromáticas pôde ser examinada segundo o argumento de Hogben e Slome, (1936, p. 165) i. é, que uma hipótese de um hormonio implica: a) um hormonio melanóforo-contrator, W, cuja produção é inibida sobre um fundo preto ou b) um hormonio melanóforo expensor, B, cuja produção é inibida por um fundo branco. Smith admite em **Ligia** um fase que ultrapassa a de equilíbrio e á que denomina fase supernormal. O mesmo A. (p. 254) estudou tambem a influência da direção e incidência de iluminação, tendo verificado que os melanóforos são os principais agentes da mudança de côr. Sua resposta á iluminação é parcialmente diréta e parcialmente controlada pelos olhos. Observou ainda que uma iluminação intensa aumenta a difusão do pigmento. A iluminação superior de um animal em um vaso branco torna-o pálido. Animais cégos não são tão escuros como os animais não cégos guardados em um fundo preto. Na obscuridade, eles são ainda mais pálidos pela eliminação da resposta primária. O tempo das relações da resposta ao fundo mostra que os cromatóforos são controlados por dois hormónios. A existencia de uma fase supernormal na transição do equilíbrio ao fundo branco reforça tal conclusão. Variando a direção de incidência da iluminação e limitando a penetração da luz nos olhos, pôdem-se distinguir dois grupos de océlos: um dorsal acessível á iluminação superior e responsavel pela iniciação da descarga do hormônio que evôca a expansão do melanóforo e outro látero-ventral que recolhe a luz difundida do ambiente circunjacente e é respon-

savel pelo início da descarga do hormônio que causa a contração do melanóforo.

Pela literatura que acabo de referir se depreende que os **Isopoda**, pelo menos **Idothea** e **Ligia**, tanto quanto os **Decapoda**, são capazes da mudança de côr, sendo influenciados pela luz e pelo substrato, tendo os olhos como vias de condução de influxo activador dos movimentos dos pigmentos dos cromatóforos. Ambos os **Isopoda** apresentam também como alguns **Decapoda** (**Hippolyte**) a coloração noturna, mas sendo aqui verde. Quanto á significação desta coloração noturna verde ainda ha dúvidas. Piéron (l. c.) identifica-a com a coloração noturna azul de **Hippolyte** descrita por Gamble & Keeble (l. c.). O ritmo diurno é presente tanto em **Idothea** como em **Ligia**. As experiências de Kleinholtz (l. c.) são conclusivas a este respeito. Deste modo, fica, como disse, isolada a opinião de Tait (l. c.) de que a luz não influencia as células pigmentárias de **L. oceanica**.

A propriedade neste último Isopodo mencionado, de uma resposta primária devida á influência da luz e uma secundária motivada pela via indireta dos olhos é evidenciada pelas experiências de Smith (l. c.). A questão, porém, da existência de uma fase supernormal ainda não se acha bem esclarecida, sendo de se desejar confirmação dos resultados deste A., com material mais abundante.

A delimitação de dois grupos de ocelos, um dorsal responsável pela descarga do hormônio expansor e um látero-ventral destinado a receber a luz difundida e evocador do hormônio contractor em **Ligia oceanica**, de certo modo discorda de quanto foi escrito por Hansström (1938b, p. 1-7) em **Palaemonetes vulgaris** e **Leander adpersus**. Este realizou inúmeras experiências nas quais o método principal foi o da cobertura parcial dos olhos com substância opaca. Deduz que elas confirmam o conceito da importância da metade ventral para as reações dos cromatóforos nestes camarões, já por ele apresentados em 1937a (p. 72) em **Palaemonetes vulgaris**. A metade ocular ventral, diz Hansström representa evidentemente fator decisivo na realização das reações cromatóforicas. Unicamente a cobertura dorsal dos olhos não produz nenhuma expansão. A cobertura das metades oculares ventrais induz uma expansão máxima de pigmento vermelho e amarelo somente quando as metades dorsais forem atingidas por um mínimo de luz. As metades oculares dorsais são também importantes para a mudança de côr, visto como o escurecimento dos animais brancos em substrato escuro é consideravelmente retardado se tal metade dorsal for coberta com substância opaca. O referido escurecimento chega mesmo a ser parcial-

mente impedido. Para que os cromatóforos principiêm a expandir-se diz *Hanström*, provavelmente ha necessidade de uma certa quantidade de luz atingir os órgãos visuais. No escuro eles se contráem, mas sob uma intensidade luminósa mais forte ha uma discrepancia entre a irritação da metade ocular dorsal e ventral quando o substráto é escuro, certamente devido á uma inibição que então se dá do hormônio cromatóforo contractor. Aliás, esta questão da capacidade de regulação diferente das duas metades oculares da mudança de côr nos Artrópodos já foi estudada por *Atzler* (1930, p. 521) e *Priebatsch* (1933, p. 465) em *Dixippus*. Cobrindo-se as metades óticas ventrais nestes animais, eles tornam-se acastanhados. A mesma operação realizada nas metades dorsais não provoca efeito algum. E' de se notar tambem que já em 1911, v. *Frisch* (pp. 359-365) fez operações idênticas em *Trutas* e *Sumner* (1933*b*, p. 269) em *Fundulus parvipinnis*, notando que a cobertura das metades óticas ventrais produz expansão dos pigmentos enquanto que a cobertura das dorsais não causa efeito. Ainda a este propósito quero recordar que *Priebatsch* (l. c., p. 456) observou resultado contrário em *Idothea* e *Bacillus rossius*, isto é, as duas metades oculares não diferem em importância, para a regulação da substância activadora da mudança de côr. Esta última referência é, no caso, de certa importância, porquanto se opõe ás conclusões a que chega *Smith* em *Ligia*. Aliás, as pesquisas sobre os hormônios tanto nos Crustáceos como nos Insectos seguem um certo paralelismo. Em ambas as classes teem sido procurados porfiadamente os órgãos que secretam as substâncias pigmento-activadoras. Índice bem significativo são, por ex., as pesquisas últimas feitas recentíssimamente por *Hanström* (1938*a*, p. 12) nas quais estuda ao mesmo tempo o chamado "orgão X" dos Crustáceos e os "corpora allata" e "glândula cardiaca" nos Insectos.

Resumida assim a parte essencial da literatura que me foi possível obter sobre os cromatóforos dos Isopodos, passarei agóra á segunda parte deste trabalho, i. é, á exposição das experiências realizadas em *Ligia exótica* e em *Eriphia gonagra*, e com os preparados pituitários de *Felichthys bagre* e *Bufo marinus*, com o fito de contribuir para a elucidação de certos pontos da fisiologia dos cromatóforos do referido Isopodo, principalmente em relação á actividade hormonal sobre os melanóforos e sobre os xantóforos. Tambem me foi possível trabalhar com melanóforos isoladamente valendo-me de um micromanipulador *Zeiss*. Até agora, pelo que pude ver na bibliografia consultada, somente *Matthews* (l. c.) utilizou esta técnica, e assim mesmo em cromatóforos de Anfíbios. Os resultados por mim obtidos em melanóforos de *Ligia exótica*, em parte correspondem, como se vê áqueles de *Matthews*.

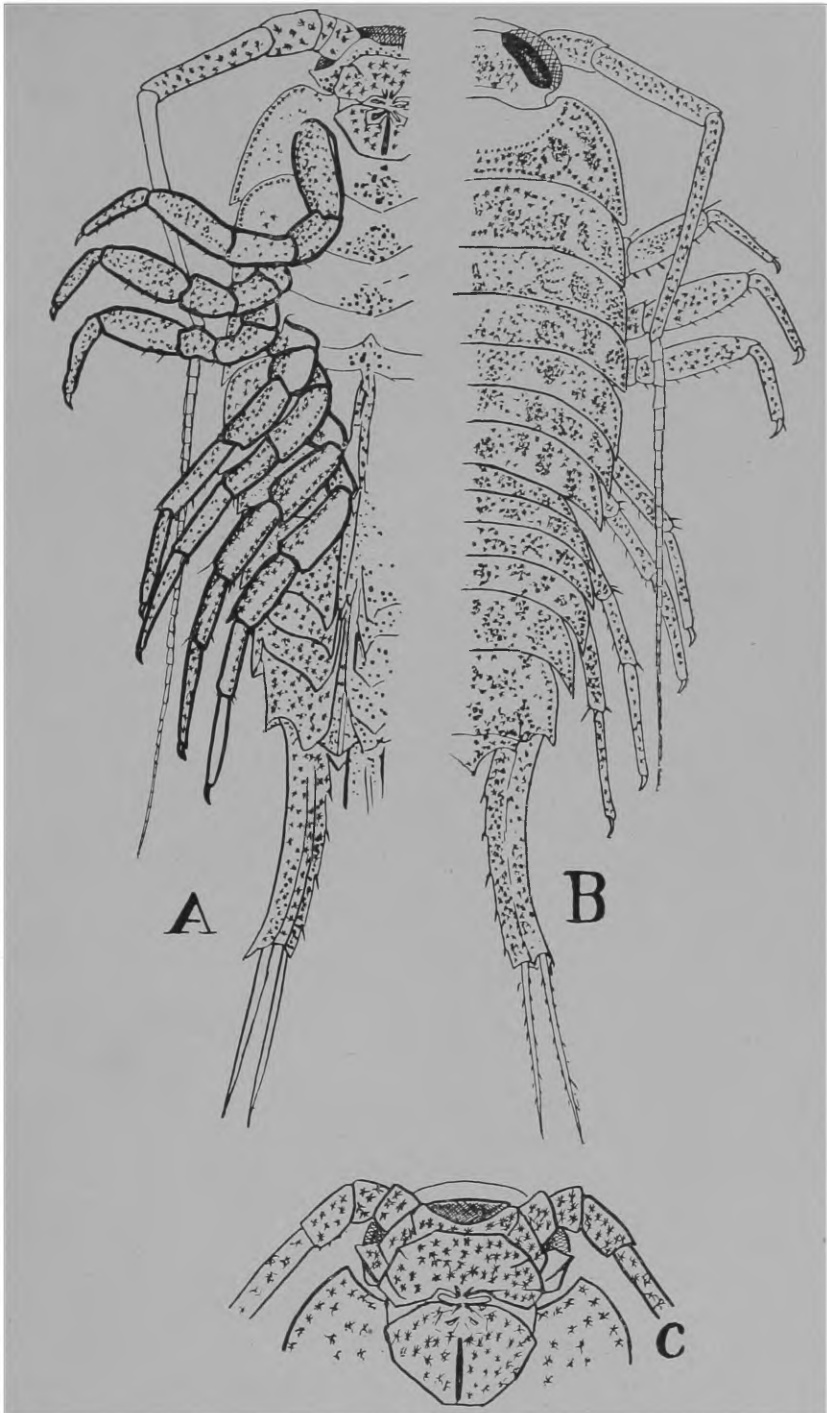


Fig. i

Ligia exotica (Roux) A = face ventral; B = face dorsal; C = cabeça
(x 3,5 vezes, des. C. Camargo).

VII

PARTE EXPERIMENTAL

Nesta parte, como já foi dito, farei uma exposição das séries de experiências realizadas tanto na Ilha das Palmas como no Laboratório de Fisiologia. Precedendo tal exposição, apontarei resumidamente a técnica utilizada e o material escolhido para estes estudos.

A) MATERIAL E TÉCNICA.

O material empregado nas minhas experiências consta de *Ligia exotica* (Roux), (Est. I, Fig. 1), recolhida do litoral de S. Paulo. Durante o verão último, tive a oportunidade de estacionar durante vários dias na Ilha das Palmas onde me foi possível recolher, á vontade, uma grande quantidade destes Isopodos que serviram para as minhas experiências. Uma parte destas foi realizada naquele local, mas como ali eram mínimos os recursos indispensáveis para uma averiguação, tão exata quanto possível, dos resultados obtidos, julguei indispensável verificá-los novamente no Laboratório de Fisiologia do Departamento de Zoologia, o que me foi possível fazer duas vezes. Dada a concordância quasi uniforme dos efeitos obtidos na Ilha das Palmas e no referido Laboratório, nas tabelas que darei a seguir, serão mencionadas as médias dos resultados das três secções de experiências, se bem que naquela realizada na ilha aludida, em virtude da temperatura relativamente elevada por ocasião da estada, os efeitos fossem mais acentuados.

O veículo para a factura dos macerados foi a agua do mar colhida de um lugar onde, por ser mais batida a praia da Ilha, me pareceu ser mais pura e mais oxigenada. No laboratório usei água do mar artificial segundo a fórmula de Schmalz (Peterfi 1928, p. 236) a saber: (peso em grs.) NaCl 2815; KCl 67; $MgCl_2 + 6H_2O$ 551; $MgSO_4 + 7H_2O$ 692 diluir ad 100 l e juntar $CaCl_2 + H_2O$ 145.

Os macerados foram sempre filtrados e alguns mantidos a 95°C em banho-maria durante cinco minutos e outros usados sem esta última operação, visto como verifiquei ser a mesma indiferente nos resultados finais.

As cabeças de *Ligia* e os pedúnculos oculares de *Eriphia gonagra* foram triturados em um almofariz de porcelana com bastão de vidro. Depois de se obter um macerado bem homogêneo procedeu-se sempre á filtração.

A luz monocromática foi conseguida com vidros corados e controlados ao espectroscópio.

Para eliminar a influenciação dos olhos procedi á cobertura dos mesmos com o esmalte comum do comércio do tipo Enamel, o qual sempre deu excelentes resultados. A técnica consistia em pincelar toda a cornea das Ligias com o esmalte, preferentemente usado o branco para maior contraste com o ambiente. Recomenda-se o uso do esmalte por ser suficientemente flúido e aderente ao animal, mesmo sendo este húmido. Por outro lado, dispensa um grande tempo para a secagem. Pude muitas vezes observar animais em que foi feita a cobertúra dos olhos, mergulharem imediatamente depois na água sem se desprender o esmalte. Ainda mais, pareceu-me esta técnica muito favoravel, não sómente pela sua simplicidade como pela sua durabilidade. Conseguí manter nos aquários do Laboratório de Fisiologia várias Ligias com olhos cobertos durante mais de mês sem que o esmalte se desprendesse.

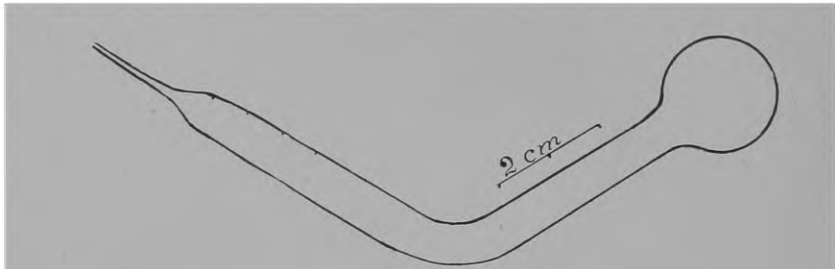


Fig. 2

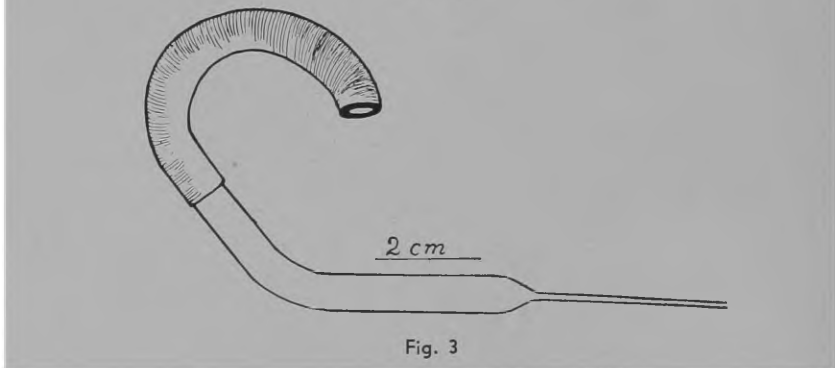


Fig. 3

As injeções de macerados foram feitas por meio de uma seringa de Pravaz graduada em decimos de centímetros e com êmbolo metálico. As agulhas escolhidas foram as mais finas em virtude do tamanho relativamente pequeno dos animais de experiência (1-3cm. de comprimento). Tendo ve-

rificado que o uso de tais agulhas ás vezes maltratava muito os animaisinhos provocando, mesmo em várias ocasiões, refluxo de quantidade apreciavel de líquido, procurei modificar esta técnica construindo um pequeno aparelho especial para as injecções (Fig. 2). Ao bico de Bunsen estirei um pequeno tubo de ca. 10 cc. de comprimento e 3mm. de diâmetro reduzindo-o a mm. 0,01. Na extremidade oposta o tubo foi soprado até ficar uma pequena bóla de cerca cm. 0,5 de diâmetro. Para aspirar o macerado líquido basta mergulhar a extremidade afilada no recipiente com a substância a injectar e com o auxilio da chama de gaz provoca-se o aquecimento da parte globosa e consequentemente se desprenderão bolhas de ar no líquido referido. Imediatamente depois dá-se a aspiração do macerado.

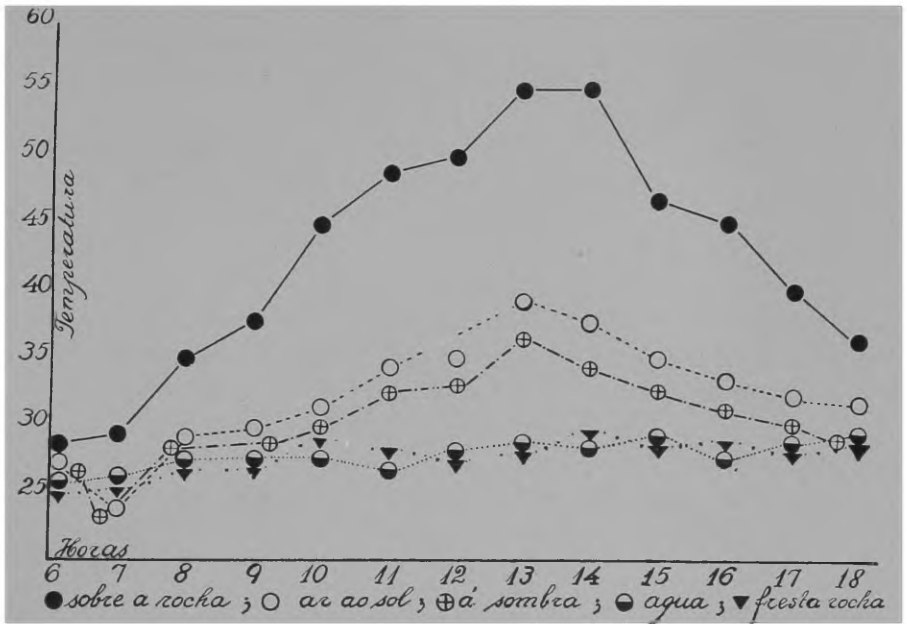


Fig. 4

Temperaturas médias na Ilha das Palmas, durante a estada de cinco dias

Para a injecção introduz-se a extremidade ponteaguda no lugar desejado e com os dedos provoca-se um ligeiro aquecimento da parte globosa e imediatamente o líquido escorre para dentro do animal. Si o calor dos dedos não fôr suficiente, basta chegar á esfera a chama do bico de Bunsen. Quando as injecções foram feitas sob lupa de Greenough, principalmente nos animais menores, a quantidade injectada foi controlada por um auxiliar. Tal aparelho bastante simples não passa aliás de uma modificação do que foi construido e utilizado por Knowler (1908, p. 209) para injectar os vasos de pequenos embriões.

Para os animais de porte maior em que era dispensável a Greenough, construí um outro pequeno aparelho (Fig. 3) bastante semelhante ao primeiro, com a mesma ponta afilada. Na extremidade oposta, porém, substituí o pequenino globo por um tubo de borracha flexível mas de paredes grossas. Com uma seringa colocava o líquido desejado no tubo de vidro, adaptando a seguir o tubo de borracha. Para a injeção, bastava introduzir a extremidade afilada no animal e soprar com certa pressão pelo tubo de borracha. Este processo facilita melhor a averiguação da quantidade de líquido a injectar, podendo-se esperar tempo suficiente para obstar o refluxo do mesmo. Este pode assim ser sempre evitado, embora o líquido injectado fosse hipertónico relativamente ao meio interno do animal. A espera de um minuto, no máximo, com o tubo dentro do Crustaceo foi sempre suficiente para impedir tal refluxo. Atribuo este fato á uma capacidade especial destes animais de restabelecerem, com rapidez, o equilibrio osmótico, tal como acontece em geral nos Crustaceos, como por exemplo em **Carcinus maenas** e outros como foi muitas vezes determinado por Bethe e sua escola (Bethe Holst e Hup 1935, p. 339). Na literatura consultada não encontrei para **Isopoda** pesquisas correspondentes áquelas da determinação do mecanismo da pressão interna em **Decapoda**. Parece-me, porém, bem verosimil que haja tal correspondência, principalmente em **Ligia** que, como se sabe, é animal que vive na zona da maré sendo tipicamente estenohialino, como determinou Barnes muitas vezes, (1932, p. 496; 1934, p. 124; 1935, p. 259; 1936, p. 109; 1938, p. 108).

Em todas as experiências realizadas, como disse, tanto na Ilha como no laboratório foi levada em conta a temperatura ambiente e ás vezes o estado higrometrico do local respectivo. No primeiro local indicado foram tomadas sistematicamente as temperaturas do ar, da agua, da rocha, da fresta, como se vê no gráfico da Fig. 4, o qual indica a média das temperaturas durante a permanencia na Ilha. No Laboratório a temperatura ambiente variou entre 16° e 21° c. Para os macerados de hipófise de Peixes foram utilizados exemplares de **Felichthys bagre** e para os de Anifíbios **Bufo marinus**. O macerado de pedúnculo ocular de Decapodos foi fornecido por exemplares de **Eriphia gonagra**, provenientes tambem da Ilha das Palmas como as Ligias.

Todas as experiências, na terceira secção, foram fiscalizadas por um auxiliar e comparados os resultados.

As injeções em **Ligia** foram feitas todas no espaço entre o 4. e 5. tergitos, justamente no local correspondente á linha mediana, i.é, para assim atingir o vaso sanguíneo dorsal. Foi nessa região tambem que se procederam ás contagens dos batimentos deste vaso.

Nos Vertebrados (Anfíbios) a via preferida para a introdução dos macerados, tanto de cabeça de **Ligia exotica** como de pedúnculo ocular de **Eriphia gonagra**, foi a peritonial.

Obtidos os resultados na terceira secção dos trabalhos, foram todos interrompidos, não obstante ser, em alguns, ainda pequeno o número de animais utilizados para se ter base segura para as conclusões, como por ex. nas injeções de macerado de hipófise total de Peixes e a observação á luz monocromática. Infelizmente, a interrupção de experiências tão auspiciosas, foi imposta pelo curto prazo restante para a apresentação deste trabalho. Decorre principalmente deste facto o ter neste momento, em algumas experiências, resultados por assim dizer provisórios, visto como será mistér um maior número de experimentações para confirmação ulterior de alguns resultados.

A denominação do material que usei, i. é, o Isopodo **Ligia exotica** Roux merece aqui um determinado reparo. O género **Ligia** é, sem dúvida, universalmente mencionado na maioría absoluta da literatura carcinológica, desde que foi lançado por Fabricius em 1798, fide Richardson (1899, p. 866). Sendo animal já bastante pesquisado sob muitissimos aspectos, o nome **Ligia** já foi admitido, por assim dizer, definitivamente na literatura. Cumpre-me porém notar, embóra rapidamente, que Rathbun em 1904 (p. 172) houve por bem modificar, com muita razão, a denominação do genero **Ligia**. A espécie **Ligia oceanica** de Linneu (1867) foi incluída por Fabricius (1798) no género **Ligia**. No catálogo de Weber (1795) porém, o género **Ligia** aparece com três especies, das quais duas são "nomina muda" sendo a terceira **Ligia granaria** idêntica a **Cancer granarius**. Deste modo, **Ligia** cai na sinonimía de **Cancer**. Para os especialistas da sistemática de um grupo, talvez sejam tais considerações bastante interessantes. A Zoologia Geral moderna, porém, considera a nomenclatura dos seus objectos não como finalidade dos seus estudos, mas apenas como processo que deverá proporcionar um entendimento internacional entre todos os pesquisadores. O uso de nomes obsoletos, em que pese a lei da prioridade, muitas vezes virá acarretar muito mais dificuldades para tal entendimento que vantagens, quasi sempre bem reconhecidas da applicação rígida das regras nomenclaturais. Tal é o caso, parece-me do Crustaceo objeto do meu estudo. Rathbun (l.c.) preconisa a mudança do nome **Ligia** para **Ligyda** já empregado por Rafinesque em 1815, e que foi aceito por ex. por Richardson (1905, p. 10; 1910, p. 125) e mais recentemente por Edmondson (1931, p. 3) pelo que me foi possível ver na bibliografía de que pude dispôr. Outros sistematas, porém, mesmo recentemente, continuam a optar pelo nome **Ligia**, como por ex. Chilton

(1911, p. 568), Verhoeff (1928, p. 115), Dons (1933, p. 96), Strouhal (1938, p. 17), Vandel (1939, p. 125) entre muitos outros. Tratando-se aqui de um trabalho puramente fisiológico, em que foi pretendido também um resumo da literatura anterior, não obstante reconhecer a validade de **Ligyda** e toda a razão a Rathbun e Richardson (de onde tirei todas as citações acima referentes a Linneu, Weber e Rafinesque), achei de melhor propósito conservar o nome de **Ligia**, por assim me parecer facilitar mais a tarefa bibliográfica dos futuros interessados neste assunto dos cromatóforos.

B) INFLUENCIA DO SUBSTRATO.

Depois do exame de cerca de duas centenas de **Ligia exotica**, julguei ser possível adotar para os estados de contracção e de expansão dos cromatóforos (melanóforos e xantóforos) índices entre I e V a saber, I correspondente á fase de expansão máxima e V á máxima contracção, sendo naturalmente as três outras (II, III, IV) as fases intermediárias. Neste particular, lembro que Menke (l. c., p. 41) refere que no estudo dos cromatóforos o pesquisador sómente poderá determinar a condição cromática por um julgamento subjetivo. Para a maioria dos primeiros observadores dos movimentos dos cromatóforos eram indicadas apenas duas fases: a primeira em que a célula se apresentava fortemente contraída, provocando uma côr clara no animal, e a outra, em que os cromatóforos se apresentando completamente distendidos, tornava o animal escuro. Como porém, não ha uma transição rápida da fôrma clara para a escura, e estas duas fases se acham ligadas por outras intermediárias, é natural que os movimentos das condições dos cromatóforos não poderão, como muito bem afirma este último A. mencionado, prescindir do método subjetivo. Sendo possível distinguir o aspecto dos cromatóforos não qualitativamente por diferenças de tonalidade da côr do animal, porém, quantitativamente por letras ou algarismos atribuidos a formas de certo modo constantes, que poderão ser julgadas principais, Menke (l. c., p. 42, Fig. 1), em **Idothea**, escolheu sete fases como fundamentais e a que enuméra de 1 a 7. Kleinholz (1937a, p. 30, Fig. 1) adóta o mesmo processo, indicando os estados por A, B, C, e D.

Depois de elaborados todos os meus protocólos de experiências em **L. exotica** nas três secções já referidas, vieram-me ás mãos os trabalhos de Hogben e Slome (1931, p. 10; 1936, p. 158) e Hogben (1936, p. 142) nos quais os índices de contracção e de expansão dos cromatóforos

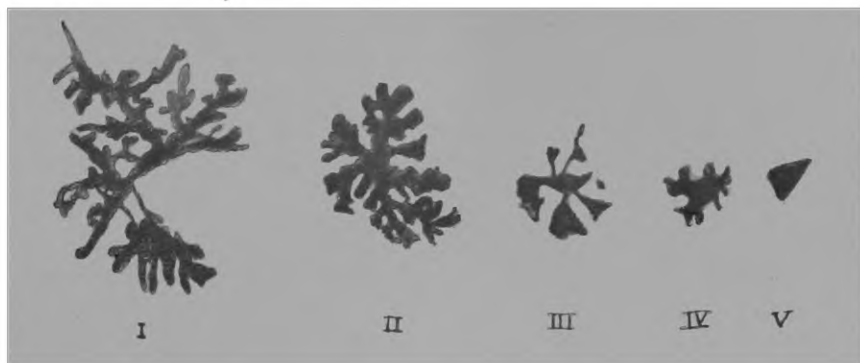


Fig. 5

Índices dos melanóforos (Microfoto Zeiss x ca. 60 vezes, esquematizado G. Siegel — P. Sawaya).

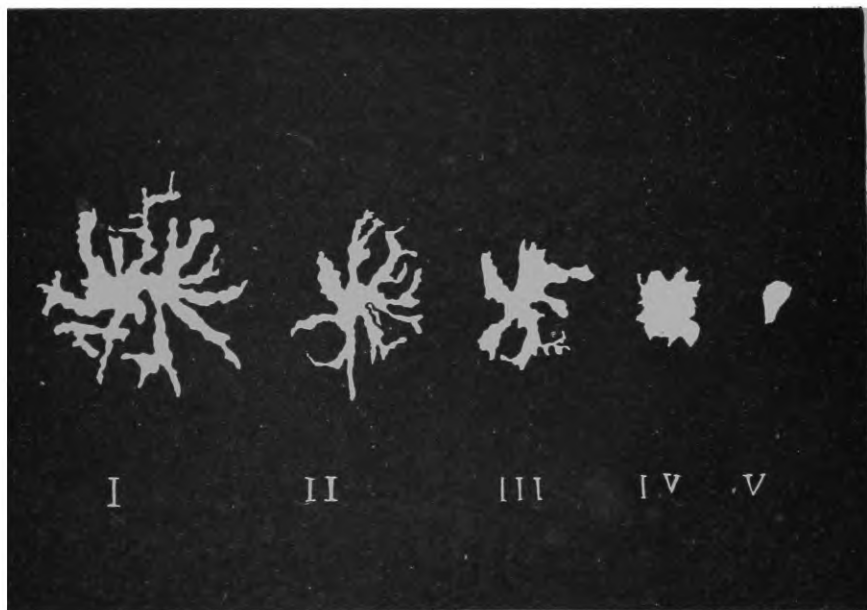


Fig. 6

Índice dos xantóforos (x ca. 50 vezes, des. P. Sawaya)

nos Anfíbios são enumerados 1.0 a 5.0 para os estados máximos, e mais ainda o trabalho de Smith (l. c.) que toma estes mesmos índices para a verificação dos estados dos cromatóforos de *Ligia oceanica*. Continúo a manter os índices por mim adotados, visto como não ha em todas estas indicações uma diferença fundamental, não escapando mesmo nenhuma delas a um critério bastante subjetivo. As Figs. 5 e 6, Est. II, indicam os estados, respectivamente dos melanóforos e dos xantóforos, da contração e da expansão em *L. exotica*, figuras que foram feitas usando-se fotografias dos animais em experiência e retocadas para obtenção de clichés, porquanto os preparados sendo muito espessos não permitiram uma fotografia bastante nítida para um esquêma como o que desejo apresentar nos índices.

Cumpre-me assinalar ainda, que na elaboração das tabélas foram levados em conta sómente os exemplares que sobreviveram pelo menos quarenta minutos após as diferentes manipulações. Uma percentagem muito pequena de mortos foi verificada. Nestes deu-se sempre a expansão dos melanóforos seguida 6 horas depois de uma ligeira contração.

Além disso, em todas as experiências, cada uma das *Ligias* utilizadas foi acompanhada por uma outra como testemunha. As que recebiam productos de macerados tiveram como testemunhas outras em que se injectou agua do mar natural (na Ilha) ou artificial (no Laboratório). A observação da contração e da expansão dos melanóforos e dos xantóforos foi feita sempre num mesmo ponto previamente estabelecido (geralmente o ísquio do primeiro pereopodo) em cada animal tanto no de experiência como na testemunha. Quasi sempre foi possível observar exclusivamente um único e mesmo cromatóforo.

Feitas estas ligeiras anotações que se referem mais propriamente á técnica por mim seguida nas experiências, passo agora á descrição rápida dos resultados obtidos.

Na Serie A das experiências utilizei 30 *L. exotica* submetendo-as ao substrato claro e escuro, com os olhos cobertos ou não de substância opaca já aludida á p. 58. A seguinte tabéla mostra tais resultados.

SÉRIE A

a) Ligias transportadas do fundo escuro para o claro

Tempo minutos	Melanóforos					Xantóforos					Bat. card.
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	
0	10								10		180
5	10								10		180
10	8	2						4	6		160
15	3	6	1					10			150
20		1	9				10				120
25				10			10				120
30					10		10				120
35					10		10				116
40					10		10				116

b) Ligias transportadas do fundo claro para o escuro.

0					10	10					105
5				10		10					110
10			10			10					110
15			10				10				110
20		5	5					10			110
25	3	7						10			110
30	9							10			120
35	10							7	3		130
40	10								10		130

Os resultados aqui apresentados nesta série, correspondem á média obtida dos 30 exemplares observados. Como se vê na tabéla supra, em *L. exotica* confirma-se a propriedade da mudança de côr assinalada em vários *Isopoda*. Cumpre notar, porém, que a reacção dos melanóforos ao fundo é mais rápida que a dos xantóforos, como se poderá deduzir pelo exame dos gráficos das Figs. 7 e 8. Na realidade, quanto aos primeiros sempre foi possível obter uma contração e uma expansão completa, ao passo que os xantóforos nunca se apresentaram todos inteiramente expandidos ou contraídos. A análise destes últimos, é verdade, é muito mais difícil e mesmo Kleinholtz os deixou de parte no seu estudo supra citado em *L. baudiniana*. Não se achando ainda elucidada a composição química de tais xantóforos de *Ligia*, impossível será mesmo, no momento, aventar qualquer hipótese para explicar este facto. Será este, sem dúvida um dos problemas abertos para pesquisas futuras.

Piéron (l. c., p. 952) verificou, como já aludí, que o pigmento verde de *Idothea* aparece em todos os indivíduos durante á noite, havendo uma retração dos cromoblastos e aparecendo uma cobertura verde no animal,

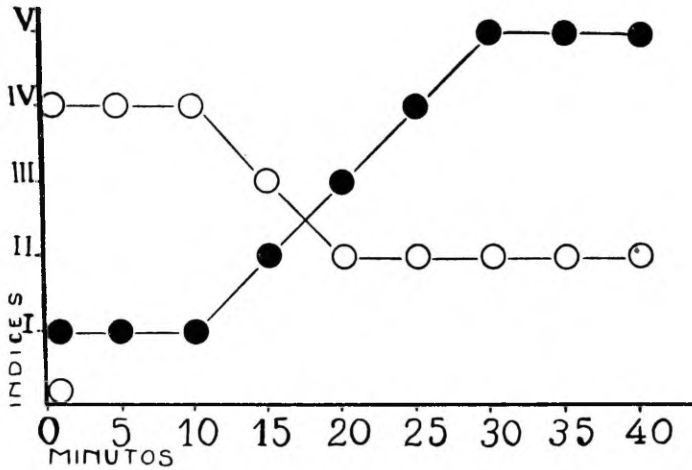


Fig. 7

Influência do substrato. *L. exotica* transportadas do fundo escuro para o claro. Série A. 1.^a Tabéla. Neste gráfico e nos demais, as esféras correspondem aos melanóforos e os círculos aos xantóforos.

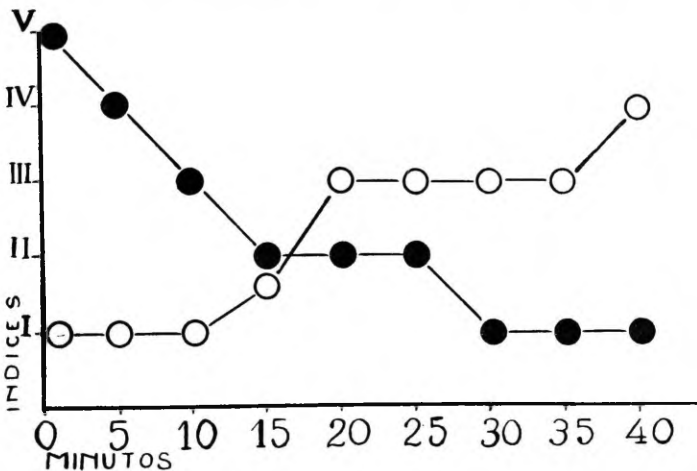


Fig. 8

Influência do substrato. *L. exotica* transportadas do fundo claro para o escuro. Série A. 2.^a Tabéla.

o que se acha em oposição a quanto refere Matzdorff (1883, p. 45), que diz possuírem os animais durante a noite a mesma côr diurna. Em *L. exotica* não foi possível verificar com certeza a chamada "cobertura

verde noturna" Tratando-se de animal onívoro, mas que se alimenta principalmente de algas verdes, quer de dia quer de noite, todo o corpo se reveste de uma tonalidade esverdeada. A única distinção que pude fazer foi dos animais guardados por mais de uma hora em um fundo completamente preto. Quando dele eram retiradas as **L.** se mostravam inteiramente escuras, quasi negras, mas á medida que se ia dando a modificação da côr sob a influência da luz, a tonalidade verde geral do corpo tambem aparecia. Não me foi possível, portanto, identificar neste animal a côr noturna que Piéron refere de modo especial em **Idothea**.

Quanto ao ritmo diurno descrito por Kleinholtz, as experiências realizadas com **Ligia** de olhos cobertos e guardadas em caixa completamente preta demonstraram ocorrer tambem nelas tal ritmo diurno de **L. baudiniana**, i. é, os animais ficam escuros durante o dia e claros á noite.

C) MACERADOS DE CABEÇAS DE **LIGIA CLARAS EM AGUA DO MAR.**

Nas séries de injeções de macerado foram usados primeiramente os macerados de cabeças de **Ligia**, adaptadas ao substrato claro (prato de porcelana branca), segundo o método indicado á p. 57 utilizando-se de **L.** claras ou escuras com os olhos cobertos ou não. As **L.** escuras com olhos descobertos reagiram á injeção de macerado de cabeça de **L.** clara positivamente, isto é, os melanóforos passaram do índice I ao índice V, dentro de cada 5 minutos. A reação dos xantóforos foi menos activa, i. é, da expansão total passaram a uma contracção porém que não atingiu ao máximo. As **L.** claras com olhos cobertos e tambem com eles descobertos não reagiram absolutamente á injeção que foi feita por diversas vezes.

Como se vê na tabéla da série A., **L. exotica** apresenta aceleração dos batimentos quando mantida no escuro. Tal fenómeno, porém, não é tão acentuado como no Decapodo (**H. varians**) estudado por Gamble e Keeble mencionado anteriormente. Devo assinalar que a contagem destas pulsações foi feita, mas três secções, em **L.** jovens de preferência, visto como, nas mais velhas a espessura do tegumento dificulta muito tal contagem. Durante a manipulação dos exemplares que serviram para esta série de experiências, pude verificar que **L. exotica** tambem apresenta a resposta primária e a secundária indicada por Smith em **L. oceanica**.

A tabéla seguinte demonstra a média dos resultados obtidos.

SÉRIE B

Macerado de 4 cabeças de *L. claras* em 2 cc de água do mar artificial. Filtrado. Exame no ambiente do Laboratório. Inj. de cc 0,1 do macerado em cada *L.*

Tempo minutos	Ligia			Melanóforos					Xantóforos					
	Cor	Olhos	exs.	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	
0	escuras	descobert.	10	10										10
2				5	5								5	5
4					10								10	
8						10				8		2		
10							10			8		2		
15							10			8		2		
25								10		10				
20								10		10				
30								10						
35								10		10				
40								10		10				
0	claras	descob.	10					10-10		10-10				
3		cobertos	10					10-10		10-10				
6								10-10		10-10				
12								10-10		10-10				
15								10-10		10-10				
20								10-10		10-10				
25								10-10		10-10				
30								10-10		10-10				
35								10-10		10-10				
40								10-10		10-10				
0	escuras	cobertos	10	10										10
3				10									10	
6					10							10		
12					10							10		
15						10						10		
20						10				10				
25						10				10				
30							10			10				
35							10			10				
40							10			10				

Os gráficos das Figs. 9 e 10 mostram a diferença de velocidade nos movimentos de expansão e contração tanto dos melanóforos como dos xantóforos.

D) MACERADO DE CABEÇAS DE LIGIA ESCURA EM AGUA DO MAR.

Procurei também conhecer os efeitos do macerado de cabeças de Ligias mantidas no escuro durante 12 horas sobre os cromatóforos de outras *L.*

Ligias escuras com olhos descobertos ou cobertos não reagiram absolutamente às injeções. L. claras porém, com olhos descobertos, tendo os melanóforos quasi completamente contraídos, reagiram por uma expansão sucessiva a qual atingiu o máximo em 30 minutos após a injeção, ao passo

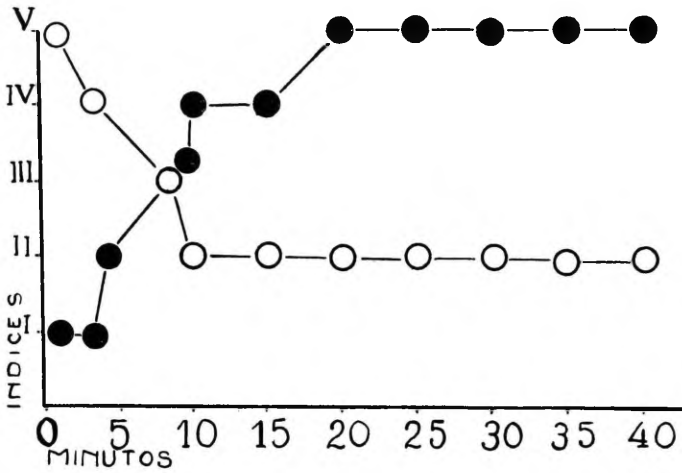


Fig. 9

Influência do macerado de cabeças de *L. exotica* claras em *L. exotica* escuras com olhos descobertos. Série B. 1.ª Tabéla.

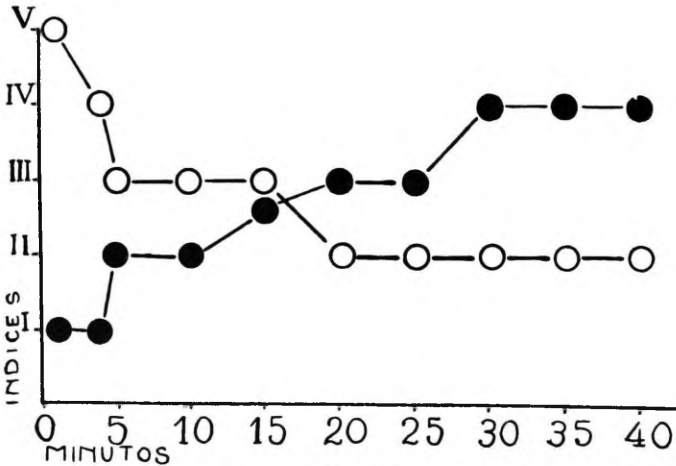


Fig. 10

Influência do macerado de cabeças de *L. exotica* claras em *L. exotica* escuras com olhos cobertos. Série B. 3.ª Tabéla.

que os xantóforos apenas se contraíram passando do índice III para o IV. Ainda *L. claras* com olhos cobertos, reagiram muito favoravelmente às in-

jeções: os melanóforos expandiram-se acentuadamente, atingindo o máximo em 45 minutos, e os xantóforos contraíram-se menos acentuadamente, atin-

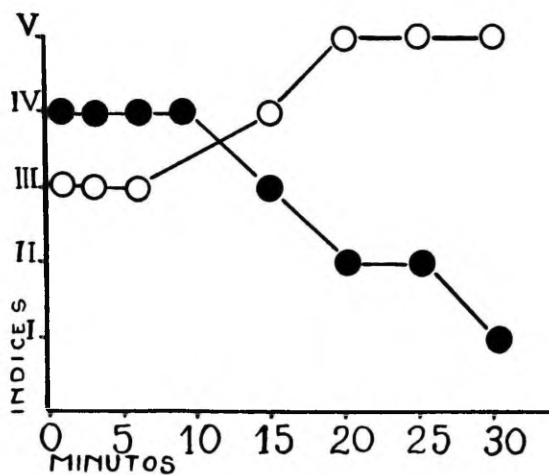


Fig. 11

Influência do macerado de cabeças de *L. exotica* escuras em *L. exotica* claras com olhos descobertos. Série C. 2.^a Tabéla.

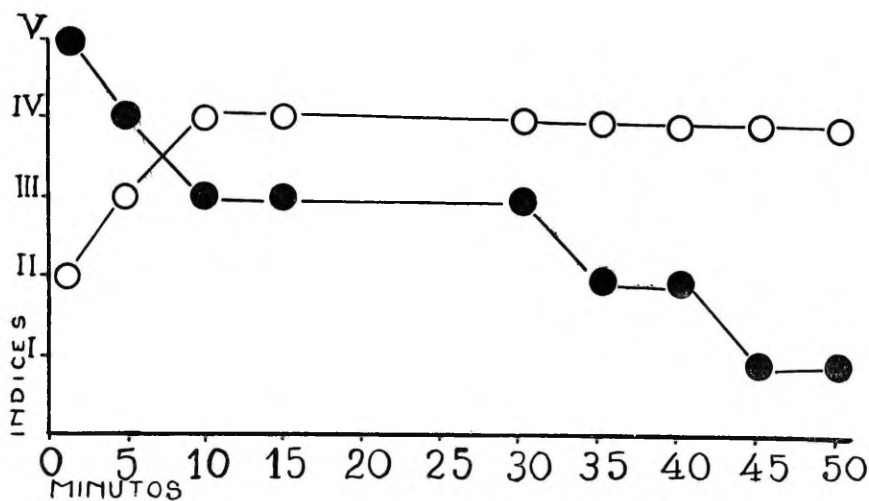


Fig. 12

Influência do macerado de cabeças de *L. exotica* escuras em *L. exotica* claras com olhos cobertos. Série C. 4.^a Tabéla.

gindo porém o máximo logo depois de oito minutos, como se poderá vêr na tabéla C. e nos gráficos das Figs. 11 e 12.

SÉRIE C

Macerado de quatro cabeças de *Ligia* mantidas no escuro durante doze horas em 2cc. de água do mar. Filtrado. Cada *L.* recebeu cc. 0,1 do macerado.

Tempo minutos	Ligias			Melanóforos					Xantóforos				
	Côr	Olhos	exs.	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
0	escura	descob.	10	10									10
2				10									10
6				10									10
8				10									10
21				10									10
60				10									10
0	claras	descob.	10				10				10		
2							10				10		
7							10				10		
9							10				10		
15						10						10	
20					10								10
25					10								10
30				10									10
0	escuras	cobertos	10	10									10
3				10									10
10				10									10
13				10									10
21				10									10
31				10									10
50				10									10
60				10									10
65				10									10
0	claras	cobertos	10				10	10		10			
4							10			10			
8						10					10		
16						10					10		
30						10					10		
35					10						10		
40					10						10		
45				10							10		
50				10							10		

As experiências desta série permitem concluir que nas cabeças de *Ligia* mantidas no escuro ha pelo menos uma substância capaz de influenciar, de modo acentuado, a mudança da côr das Ligias, tornando escuros os animais pálidos, i. é, possui pelo menos um princípio "melanóforo-expansor"

E) MACERADO DO PEDÚNCULO OCULAR DE *ERIPHIA GONAGRA*

Verificada por Hanström e sua escola e outros AA., como foi dito, a presença no pedúnculo ocular de vários Crustáceos, de órgãos presumivelmente de natureza incretória, determinando a produção de hormônios cromatoforotrópicos, indaguei com material apropriado colhido na Ilha das Palmas, a possível existência dos mesmos em um animal até agora, parece-me, ainda não estudado. Durante a estada na referida Ilha, recolhi uma grande quantidade de Sirís, os quais pude determinar no Laboratório como sendo *Eriphia gonagra*. Naquele local, com os macerados dos pedúnculos oculares deste Decapodo, fiz injeções em *Ligia*, observando respostas positivas para a contração e para a expansão dos cromatóforos. Repeti várias vezes no laboratório no mesmo Isopodo, num total de 40 animais, as referidas experiências, as quais foram plenamente confirmadas. Assim *L.* escuras, com olhos descobertos, recebendo macerado de quatro pedúnculos oculares de *Eriphia* tiveram os seus melanóforos contraídos muito pouco, passando em 20 minutos do índice I ao índice II. Do mesmo modo, os xantóforos também reagiram fracamente, passando do índice IV ao índice III, também em 20 minutos após a injeção. As *L.* claras, com olhos descobertos, reagiram muito mais favoravelmente. Os melanóforos expandiram-se quatro minutos após a injeção. Tal expansão continuou atingindo o índice II meia hora depois da operação. Os xantóforos contraíram-se com o mesmo ritmo acelerado, não chegando, porém, a uma contração total. As *L.* escuras com olhos cobertos comportaram-se do mesmo modo que aquelas também escuras com olhos descobertos. As *L.* claras com olhos cobertos responderam á injeção do mesmo modo que as *L.* claras com olhos descobertos.

Estas experiências que se encontram resumidas na tabéla da série D, e nos gráficos das Figs. 13 e 14 parecem induzir á conclusão da existência nos pedúnculos oculares de *Eriphia*, de uma substância ou substâncias pigmento-activadoras, sendo porém mais activas as melanoforotrópicas que as xantoforotrópicas. Levam também tais experiências a admitir possível presença do órgão incretôr. De facto, como se verá, no capítulo referente ao "órgão X" em *Eriphia*, á p. 35, neste Decapodo pude demonstrar a existência de células, as quais pela sua situação e pelos seus caracteres histológicos parecem-me corresponder ao aludido órgão.

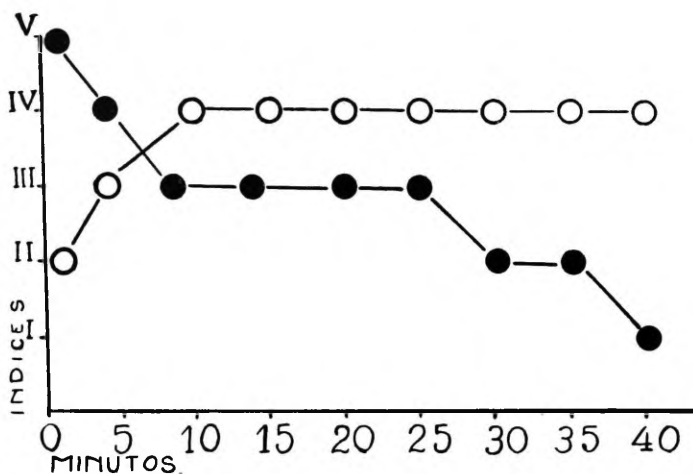


Fig. 13

Influência do macerado de pedúnculos oculares de *Eriphia gonagra* em *L. claras* com olhos descobertos. Série D. 2.^a Tabéla.

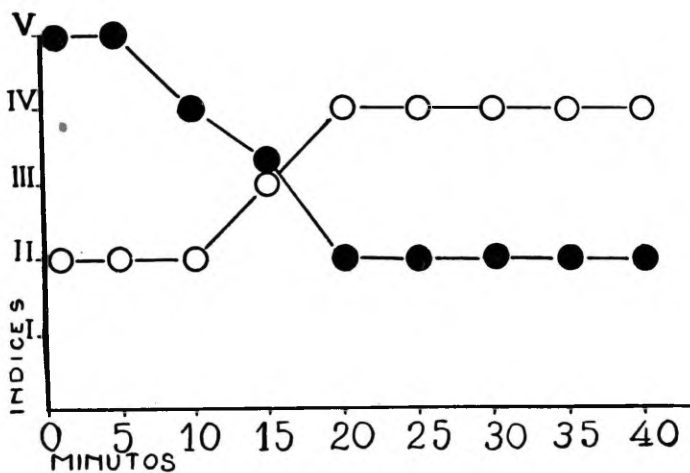


Fig. 14

Influência do macerado de pedúnculos oculares de *Eriphia gonagra* em *L. claras* com olhos cobertos. Série D. 4.^a Tabéla

F) HIPÓFISE DE FELICHTHYS BAGRE.

Com hipófise de *Felichthys bagre* dos aquários do Departamento, foram feitas injeções de macerados em água do mar e filtrados, em *L.* tanto claras como escuras, cegas ou não. Os resultados obtidos, embora

SÉRIE D

Macerado de 4 pedunculos oculares de **Eriphia gonagra** em 2cc. agua do mar artificial; filtrado. Injecção de cc. 0,1 em cada **Ligia**.

Tempo minutos	Ligias			Melanóforos					Xantóforos				
	Côr	Olhos	exs.	I	I	III	IV	V	I	II	III	IV	V
0	escuras	descob.	10	10									10
2				10									10
5				10								10	
10				10								10	
15				10								10	
20					10						10		
25					10						10		
30					10						10		
0	claras	descob.	10				10	10		10			
4													
8						10						10	
13						10						10	
20						10						10	
25						10						10	
30					10							10	
35					10							10	
40				8	2							10	
0	escuras	cobertos	10	10									10
2				10									10
5				10									10
10					10							10	
15					10							10	
20					10							10	
25					10							10	
30					10							10	
0	claras	cobertos	10					10		10			
5								10		10			
10										10			
15						10		10			10		
20					10							10	
25					10							10	
30					10							10	
35					10							10	
40					10							10	

eu os tome a título provisório, em virtude de não ter podido dispor de material mais abundante, são todavia bem promissores. Assim, pôde-se afirmar que o macerado de hipófise total de **F. bagre** tem acção mínima, e ás vezes mesmo não actúa em **L. exotica** escuras, ao passo que nos animais claros, tanto cegos como não cegos, provôca uma expansão dos melanóforos

e uma contração dos xantóforos, como se poderá vêr na tabéla da série E e no gráfico da Fig. 15, o qual mostra a velocidade de reacção dos cromatóforos de *Ligia clara* com olhos cobertos onde foi maior. Pelo que púde observar sobre ação da hipófise total de **F. bagre** sobre os cromatóforos de **L. exotica**, creio que se póde admitir a existência nesse orgão do hormónio cromatoforotrópico já constatado nesse mesmo orgão de muitos outros vertebrados. E' de se desejar não somente um conhecimento melhor da estrutura da hipófise de **F. bagre**, afim de determinar qual a parte responsável pela produção do referido hormónio, pois as pesquisas em **Ligia**, pela sua facilidade de execução, e técnica acessível, poderão permitir sem dúvida resultados seguros.

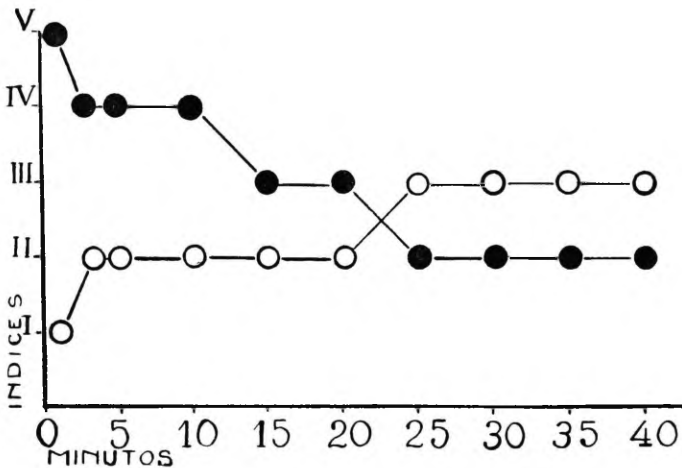


Fig. 15

Influência de macerado de hipófise total de *Felichthys bagre* em *L. exotica* clara com olhos cobertos. Série E. 4.^a Tabéla

G) HIPÓFISE DE BUFO MARINUS.

Paralelamente às pesquisas com a hipófise de **F. bagre**, fiz também outras com hipófise total de **Bufo marinus**, como doador, retirado do aquário e **L. exotica** como receptor. Um macerado obtido segundo a técnica usual e injectado nas doses de cc. 0,1 em ca. de 40 *Ligias*, de diversos tipos, deu como resultado ser o mesmo bastante activo como elemento cromatoforotrópico. Assim todos os tipos de *Ligia* empregados, como se deduz da tabéla da série F gráficos das Figuras 16-18, reagiram, os melanóforos por contração e os xantóforos por uma expansão relativamente bem acentuada às injecções supra-referidas. Nos casos por mim estudados aqui, foi possível demonstrar que a injecção de cc. 0,1 de macerado de hipófise

SÉRIE E

Macerado de uma hipófise total de **Felichthys bagre** em 4cc. de agua do mar artificial. Filtrado. Inj. de 0,1cc. em cada **Ligia**.

Tempo minutos	Ligias			Melanóforos					Xantóforos				
	cor	olhos	exs.	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
0	escura	descob.	10	10									10
5					10								10
10					10								10
15					10								10
20					10								10
25					10								10
30					10								10
35					10								10
40					10								10
0	clara	descob.	10				10			10			
2							10			10			
5						10					10		
10					10							10	
20					10							10	
25					10							10	
30					10							10	
35					10							10	
40					10							10	
0	escura	cobertos	10	10									10
2				10									10
5				10									10
10				10									10
15				10									10
20				10									10
25				10									10
30				10									10
35				10									10
40				10									10
0	clara	cobertos						10	10				
2							10			10			
5							10			10			
10							10			10			
15						10				10			
20						10				10			
25					10						10		
30					10						10		
35					10						10		
40					10						10		

total de *B. marinus*, em *L. exotica*, tanto jovens como adultas, de ambos os sexos, cegas ou não, ha um efeito positivo para os melanóforos e os xantóforos de *L. exotica*, creio que se póde admitir a existência nesse órgão do hormónio cromatoforotrópico já constatado nesse mesmo órgão de muitos outros vertebrados. E' de se desejar um conhecimento melhor actividade hormonal da hipófise.

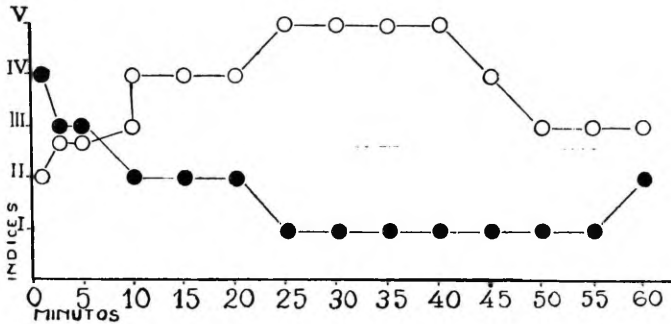


Fig. 16

Influência de hipófise total de *Bufo marinus* em *L. exotica* com olhos descobertos. Série F. 2.^a Tabéla.

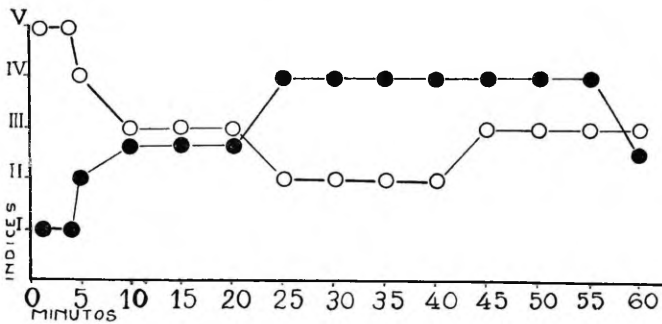


Fig. 17

Como no gráfico anterior. *L. exotica* escura com olhos cobertos. Série F. 3.^a Tabéla.

Pelo exame das tabélas e dos gráficos (Figs. 16-18) nota-se que o macerado de hipófise total de *B. marinus* provoca contracção e expansão dos melanóforos e dos xantóforos em *L. exotica* claras com olhos descobertos ou não e escuras com olhos cobertos. *L. exotica* adaptada ao substrato escuro e com olhos descobertos não demonstrou reacção acentuada dos cromatóforos. Talvez este resultado possa ser levado á conta de quantidade insuficiente de órgão injectado. Os efeitos do macerado nas demais Ligias

SÉRIE F

Macerado de uma hipófise total de **Bufo marinus** em 4cc, de agua do mar artificial. Filtrado.
Inj. de cc. 0,1 em cada **Ligia**.

Tempo minutos	Líguas			Melanóforos					Xantóforos				
	Côr	Olhos	exs.	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
0 2 5 10 15 20 25 30 35 40	escura	descob.	10	10	10 10	10 10 10 10 10 10 10 10						10 10	10
0 2 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60	clara	descob.	10		10 10 10	10 10	10			10	10 10 10	10 10 10	10 10 10
0 2 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60	escura	cobertos	10	10 10	10	10 10 10	10 10 10 10 10 10 10			10 10 10 10	10 10 10	10 10 10 10	10 10
0 2 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60	clara	cobertos	10		10 10 10	10 10	10 10	10	10	10 10	10	10 10 10 10	

indicam uma reacção mais nítida por parte dos melanóforos que dos xantóforos.

À vista das respostas dos cromatóforos de **L. exotica** ao macerado de hipófise de **B. marinus** é de se admitir a presença de pelo menos dois pares

de hormônios pigmento-activadores neste órgão, um melanóforo-xantóforo-contractor e outro melanóforo-xantóforo-expansor.

H) LEPTODACTYLUS OCELLATUS

Verificada assim a actividade do hormônio pigmento-activador de Vertebrado (aqui no caso oriundo da hipófise de **F. bagre** e de **B. marinus**) indaguei da possibilidade de actuarem os princípios cromatoforotrópicos da cabeça de **L. exotica** e do pedúnculo ocular de **E. gonagra** sobre Vertebrados. Como efetôr utilizei **Leptodactylus ocellatus**, no qual em uma 1.ª série (G) injetei 1cc. de macerado de cabeças de **L. exotica**. Numa segunda série (H) cada **Leptodactylus** recebeu dois cc. de macerado de pedúnculo ocular de **E. gonagra**. Os resultados acham-se expostos nas tabélas G e H e nos gráficos das Figs. 19 e 20 e fotografias das Figs. 21 e 22, Est. III.

Como já foi dito várias vezes, os Anfíbios também se adaptam ao fundo claro e escuro mais ou menos rapidamente. Nestas experiências empreguei unicamente **Leptodactylus** adaptados ao fundo claro. Não me foi possível, muito infelizmente, usar os mesmos animais adaptados ao fundo escuro por me faltarem para estas experiências quantidades suficientes de **Ligia** e **Eriphia**.



Fig. 21

Leptodactylus ocellatus ♂ ad., mantido em fundo claro durante 6 horas (Foto Contax, Sonnar 1:2 f = 5; Delta 5 X 42, P. Sawaya).

Fig. 22

O mesmo animal 30 minutos depois de receber 2 cc. de macerado de 15 cabeças de *L. exotica* mantidas na obscuridade durante 6 horas (Foto Contax, Sonnar 1:2 f = 5, Delta 5 X 42, P. Sawaya).

SÉRIE G

Macerado de 15 cabeças de *L. exotica escuras* em 4cc. agua do mar artificial, filtrado. Efetor. *Leptodactylus ocellatus* mantido em fundo claro durante 6 horas. Injecção de cc. 2 na cavidade peritonal.

Tempo minutos	Exs.	Melanóforos					Xantóforos				
		I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
0	3					3	3				
5					3		3				
10					3		3				
15				3				3			
20				3				3			
25				3				3			
30		3						3			
35		3							3		
40		3							3		
45		3								3	
50		3								3	
55		3								3	
60		2								2	
65				2					2		

Um dos exemplares de *L. ocellatus* morreu 60 minutos depois da injecção.

SERIE H

Macerado de 18 pedúnculos oculares de *Eriphia gonagra* em 4 c.c. agua do mar artificial, filtrado. Efetôr: *Leptodactylus ocellatus* mantido em fundo claro durante 6 horas:

0	2					2	2				
5					2		2				
10					2			2			
15				2				2			
20				2				2			
25		2							2		
30		2							2		
35		2							2		
40		2								2	
45		2								2	
50		2								2	
55		2								2	
60				2					2		

Comparando as tabélas G e H e os respectivos gráficos, nota-se que tanto os macerados de cabeça de *Ligia* e de pedúnculo ocular de *Eriphia* têm uma acção sobre os melanóforos e os xantóforos de *Leptodactylus*.

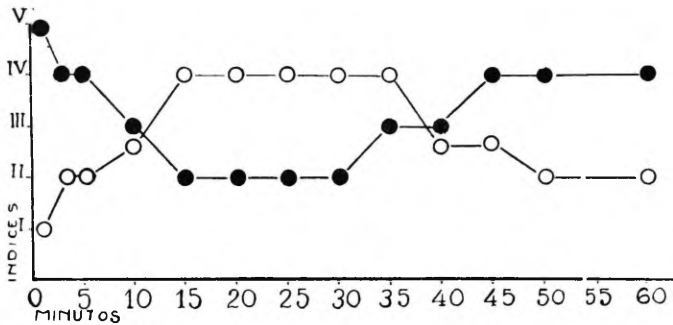


Fig. 18

Como no gráfico da Fig. 17. *L. exotica* claras com olhos cobertos.
Série F. 4.^a Tabela.

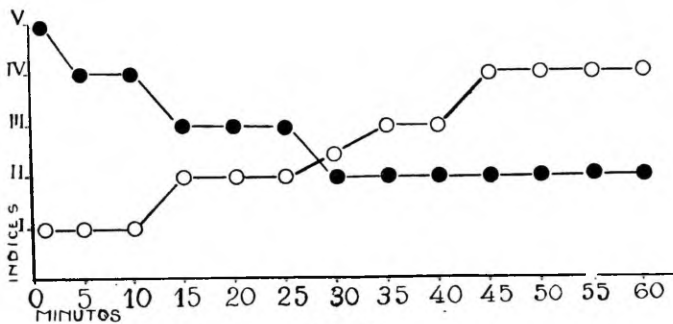


Fig. 19

Influência do macerado de *L. exotica* escuras em *Leptodactylus ocellatus*. Série G.

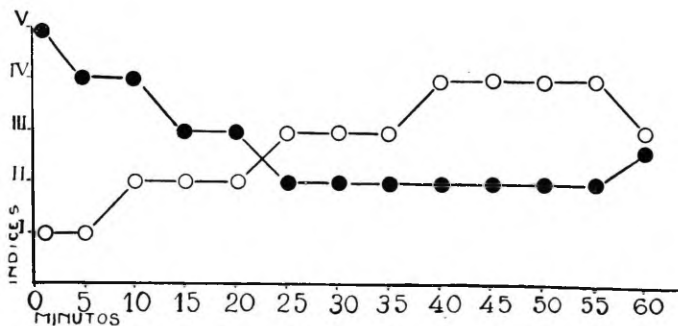


Fig. 20

Influência do macerado de pedúnculos de *Eriphia gonagra* em *Leptodactylus ocellatus*. Série H.

E ainda mais que actúam quasi com a mesma intensidade. Os resultados obtidos, parecem-me, autorizam-me a admitir em **Ligia exotica** e em **Eriphia gonagra** a existência de hormónios pigmento-activadores que provócama uma expansão dos melanóforos e uma contração dos xantóforos dos Anfíbios (**Leptodactylus**).

I) LUZ MONOCROMÁTICA.

A exemplo de outros pesquisadores tentei observar a influência da luz monocromática sobre **L. exotica**. Apresento aqui apenas os primeiros resultados, visto como, pelos motivos já expendidos atrás, tive de suspender as observações. Assim, posso apenas dar, no momento, os resultados conseguidos com a luz amarela e a verde, aguardando outra oportunidade para apresentar as reacções dos cromatóforos de **L. exotica** ás côres de outros comprimentos de onda.

Pelas tabélas da série I, que dou a seguir, poder-se-á verificar que o verde não tem influência sobre **L. escuras**, i. é, que foram mantidas na obscuridade pelo menos doze horas. A falta de reacção tanto se dá para os melanóforos como para os xantóforos. Ao amarelo, estas duas variedades de cromatóforos reagem muito pouco, havendo uma ligeira expansão dos melanóforos (de índice IV para III) e contração dos xantóforos (de II para III).

SÉRIE I

Tempo minutos	Ligias			Melanóforos					Xantóforos					Luz	
	Côr	Olhos	ex.	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V		
0	clara	descob.	10				10				10				amarela
5							10			10					
60						10					10				
120						10					10				
720						10					10				
1440						10					10				
0	clara	descob.	10				10				10				verde
5							10				10				
10							10				10				
60							10				10				
120							10				10				
720							10				10				

VIII

MICRODISSECÇÃO DE CROMATÓFOROS

Com o auxílio de uma lupa Greenough pude dissecar vários cromatóforos e diretamente sobre os mesmos fazer actuar algumas substâncias químicas. Para maior certeza da independência dos movimentos destas células pigmentárias, em **L. exotica**, repetí as experiências com o micromanipulador Zeiss. (*) obtendo resultados mais precisos, tendo sido possível trabalhar diversas vezes, com um mesmo melanóforo separadamente.

A presença da quitina e sua fraca aderência á chamada hipoderme, constitue óbice não insignificante para o isolamento dos cromatóforos. Todas as vezes em que as duas camadas tegumentárias foram separadas, os melanóforos apresentaram seu pigmento difundido no liquido da gota pendente. Resolvi contornar esta dificuldade atingindo as referidas células atravez de uma das duas camadas ou mesmo de ambas. Para isso, reduzi uma parte do ísquio a pedaços bastante pequenos, os quais foram imersos em agua do mar artificial e colocados na câmara do micromanipulador. Preferí examinar os cromatóforos desta porção do pereopodo, visto ter sido a mesma utilizada na grande maioria das observações anteriores. Como é sabido, a quitina de **L. exotica** é relativamente delgada mas suficientemente resistente aos micro-estiletos e ás micro-pipetas. Depois de algumas tentativas, com golpes rápidos e successivos consegui fazer perfurações nesta camada tegumentária, e atravez delas levar diretamente ao melanóforo a substância desejada. As operações sobre a hipoderme foram menos trabalhosas bastando mantê-la aderente á quitina para evitar a evasão do pigmento pelas perfurações. Com o auxílio das micro-pipetas ou mesmo com os micro-estiletos, consegui levar aos melanóforos uma pequena quantidade, seja de cloreto de sódio, seja de cloreto de potássio.

Como sóe acontecer com os melanóforos dos Anfíbios e dos Crustaceos em geral, os de **L. exotica** se expandem rapidamente sob a acção de

(*) Agradeço muito especialmente á Excelentissima Senhora D. EVELINE DU BOIS-REYMOND MARCUS o auxílio prestado nesta parte do trabalho, e ao Professor Doutor A. DREYFUS o obsequio de ter cedido, por algum tempo, o micromanipulador do Dep. de Biologia

uma solução 0,7 N de NaCl. Estabelecido o contáto entre o melanóforo e a solução salina, imediatamente os prolongamentos celulares se tornam visíveis, passando em 5 minutos do índice V ao IV para atingir o III e o II em cerca de 20 minutos.

Sob a influência do KCl, na mesma diluição, o pigmento melanofórico passou a contrair-se, mas lentamente. Dez minutos depois de recebida a solução deste sal, deu-se uma concentração do pigmento, mas não seguida de retração dos prolongamentos celulares. Estes continuaram a ser muito bem percebidos, graças ao colorido acastanhado de que se achavam providos. Tal aspecto lembra muito aquele que se vê comumente nos melanóforos de *L. exotica* mortas, tendo sido mesmo assinalado por varios AA. como fenômeno post-mortal das células pigmentárias. Aqui, porém, foi possível verificar que as células pigmentárias se achavam com vitalidade suficiente para expandir o pigmento, porquanto, fazendo actuar novamente, sobre o mesmo melanóforo, a solução sódica, os grânulos pretos imediatamente iniciaram sua expansão, atingindo em cerca de quinze minutos os pontos mais extremos dos prolongamentos celulares.

Livres de quaisquer ligações com o organismo animal, os melanóforos de *L. exotica* guardam, portanto, ainda a propriedade de expansão e concentração dos pigmentos sob a influência, respectivamente, do NaCl e do KCl. Tal propriedade já assinalada nas células correspondentes dos Anfíbios, dos Peixes e de outros Crustaceos, aqui nas de *L. exotica* também se verifica, principalmente com o sal de sódio. As respostas dadas aos sais de potássio são mais fracas, mas pode-se afirmar que, pelo menos, o pigmento é concentrado sob a acção dos mesmos.

Esta capacidade de agrupar os pigmentos no interior da célula sob a influência do KCL permitiu verificar que os prolongamentos dos melanóforos são tubiformes e, pelo que pude observar durante a micromanipulação, já se acham preformados no tecido conjuntivo existente entre a camada quitínica e a hipodérmica. Tais prolongamentos tubiformes dão a impressão de que uma delgada membrana os delimita. Não posso porém, afirmar com segurança se se trata na realidade de uma verdadeira membrana celular tal como foi identificada por Matthews (l.c.) em melanóforos de *Rã*, em suas experiências realizadas também com o uso do micromanipulador.

Empregando o mesmo método fiz agir sobre os melanóforos uma pequena gota de clorofórmio. Em todas as vezes em que esta substância foi utilizada sobre um ou vários melanóforos, neste último caso, sempre separadamente, houve uma rapidíssima expansão. As células passavam do índice V ao I em menos de 5 minutos. Cessada a acção do anestésico, gradativa-

mente se processa a concentração do pigmento e mesmo, algumas vezes, seguida de retração dos prolongamentos celulares.

A solução milesimal de adrenalina também foi experimentada. Levada aos melanóforos isolados em completa contração, provocou esta substância uma expansão oito minutos depois. O melanóforo passou do índice V ao III. A seguir houve um estacionamento que durou cerca de quinze minutos, para iniciar-se uma retração dos prolongamentos, chegando o melanóforo ao índice IV.

Não obstante ter utilizado esta técnica em um número relativamente pequeno (6) de casos, chegando mesmo a servir-me de um mesmo cromatóforo em mais de uma experiência, os resultados obtidos são bastante animadores para ser a mesma empregada mais frequentemente. A não ser o trabalho de Matthews já várias vezes citado, não encontrei menção, na literatura disponível, do uso do micromanipulador no estudo dos cromatóforos dos Crustaceos ou dos Vertebrados poiquilótermos. Nestes últimos, talvez seja menos complicado este método, porquanto nos Crustaceos as relações que as células pigmentárias mantêm com a quitina, tornam um tanto difíceis as manobras delicadas.

Os resultados que obtive submetendo os melanóforos de **Ligia exotica**, por esta via, á influência das substâncias químicas (NaCl, KCl, CHCl_3 e Adrenalina) não diferem daqueles conseguidos por outros pesquisadores tanto nas células correspondentes dos Crustaceos, como nas dos Peixes e dos Anfíbios.

O NaCl e o clorofórmio são melanóforo-expansores e actuam muito rapidamente. Cessada a acção de ambas estas substâncias, o pigmento, geralmente, volta a concentrar-se, retomando, quasi sempre, a posição primitiva do início da experiência.

O KCl é pigmento-contrator enérgico. Agindo sobre os melanóforos expandidos, provoca a concentração do pigmento, deixando perceber nitidamente os prolongamentos tubiformes celulares. Pigmento-expansora é também a adrenalina, sendo porém a sua actividade de curta duração, dando-se logo depois uma contração.

Todas estas experiências foram realizadas á temperatura ambiente (ca. 20°C). Sendo meu intuito apenas o de ensaiar uma técnica delicada e precisa para o estudo das propriedades fundamentais dos cromatóforos de **Ligia exotica**, prescindí, naturalmente, dos demais fatores que influem nos mesmos (temperatura, pressão, concentração das soluções, etc.) os quais procurei manter constantes, na medida do possível, durante todas as operações.

IX

SOBRE O "ORGÃO X" DE *ERIPHIA GONAGRA*

Muitíssimos Crustáceos, entre **Decapoda** e **Schizopoda**, são providos de um órgão descoberto em 1931 por Hanström (p. 200) no pedúnculo ocular de **Squilla** como já várias vezes referi. Este A. em um dos seus últimos trabalhos (1937) a pp. 7 e 8 traz uma lista bem extensa de todos os **Decapoda** em que encontrou o "órgão X" e na qual não incluiu ainda **Eriphia gonagra**. Das **Xantidae** apenas menciona **Panopaeus sayi**.

Tendo verificado que os macerados de pedúnculos oculares de **E. gonagra** por mim recolhidas na Ilha das Palmas, actuam positivamente, indicando assim possuírem uma substância pigmento-activadora, tanto nos melanóforos como os xantóforos de **L. exotica** e de **Leptodactylus ocellatus**, procurei investigar a possível existência de tal órgão naquele Decapodo.

Recolhi do local supra indicado, uma grande quantidade de **Eriphia**, e usando vários fixadores (Bouin, Zenker, sublimado-alcool, formol) e métodos de coloração usuais (hematoxilina-eosina, hematoxilina-ferrica, hematoxilina-verde brilhante) obtive boas preparações dos pedúnculos oculares, com o auxílio do diafanol.

Dentre os órgãos que se localizam no pedúnculo ocular de **Eriphia**, nota-se, numa região situada ventralmente á **medulla terminalis**, um conjunto de células que se distinguem das da camada ganglionar por diversos caracteres. São grandes, medindo 10 μ de diâmetro máximo, com protoplasma homogêneo. O núcleo é geralmente central (Fig. 23, Est. IV), tendo seu aspecto concordante com o das células ganglionares referidas. Nos preparados em que foi usada a eosina são evidentes granulações vermelhas incluídas no núcleo. Tais células assim constituídas, formam um aglomerado bem distinto, situado entre a medula externa e a interna dorso-rostralmente e a **medulla terminalis** dorso-caudalmente. Numerosos vasos sanguíneos podem ser distinguidos por entre as referidas células, resultando de tal disposição um aspecto lobulado de pequenos grupos celulares, que se apõem em forma de cacho a um forte nervo destacado da **medulla terminalis**. Os caracteres agora mencionados concordam em grande parte com aqueles descritos por Hanström em **Squilla** (1931, p. 200), em vários Decapodos como **Leander**, **Crangon**, **Pandalus**, **Spirontocaris**, etc. (l. c., p. 217), e **Acanthece-**

phyra (1934, p. 138). Nas células por mim encontradas em **Eriphia**, apenas não se nota a vacuolização do citoplasma indicada por Hanström nas que constituem o órgão dos referidos Crustáceos, pois exceto este pormenor, os caracteres das células por mim observadas ajustam-se perfeitamente aos mencionados por este A. principalmente em **Squilla** e em **Palaemon squilla**. Aliás, devo notar que o próprio Hanström assinala não ser frequente a vacuolização, pelo menos nas células menores. Presumo, pois, que o agregado celular a que acabo de me referir corresponda realmente ao "órgão X" aludido. Hanström trabalhou com material muito abundante tendo encontrado o "órgão X" na maioria dos Crustáceos estudados. Assevêra, porém, (1937, p. 90) que tal órgão não é indispensável para a produção da substância pigmento-activadora característica dos pedúnculos dos Decapoda. Nas experiências que realizou com extractos destes pedúnculos, verificou que tal substância se caracteriza por concentrar os pigmentos vermelhos e amarelos de **Palaemonetes vulgaris** e expandir os pretos e vermelhos de **Uca pugnator**. Procurou vêr se outros órgãos contidos nos pedúnculos oculares também são pigmento-activadores, como sejam, músculos motores dos olhos, células de Leydig de 1.ª ordem, glândulas, cutâneas, ganglios do pedúnculo, calóta dos olhos, mas foram completamente negativos os resultados. Não pode porém afirmar ser o "órgão X" o único responsável pela produção dos hormónios cromatoforotrópicos, visto como em alguns Decapodos, como por exemplo **Astacus fluviatilis**, **Sesarma cinereum**, **Aratus pisoni**, existem tais hormónios nos pedúnculos oculares mas o "órgão X" é ausente.

Como disse, o exame dos meus preparados me leva a presumir estar presente no pedúnculo ocular de **Eriphia gonagra** o "órgão X" de Hanström. Tenho porém, tais resultados ainda como provisórios visto como a meu vêr, ainda não é suficientemente abundante a série de preparações de que disponho para uma afirmativa segura. Todos quantos têm trabalhado com a histologia dos Crustáceos bem sabem avaliar as dificuldades de técnica para a obtenção de material demonstrativo. Deixo também de parte a discussão sobre as variedades do "órgão X" nos pedúnculos oculares dos Decapoda, o que será feito em outra ocasião.

X

DISCUSSÃO

Na classe dos **Crustacea**, sob o ponto de vista das células pigmentárias, os **Isopoda** podem ser considerados como material bastante apropriado para as pesquisas, tanto da morfologia como da fisiologia. Dentre os **Isopoda**, o genero **Ligia**, na realidade, se presta excepcionalmente para as experiências não sómente por ser animal bastante resistente no aquário, facilmente manejavel, como por possuir cromatóforos relativamente simples, constituídos predominantemente por melanóforos e também por xantóforos. Na contração máxima mediram estas células ca. de 10 μ de diâmetro máximo; na máxima expansão é impossível qualquer dado dimensional, visto como, com a predominância absoluta dos melanóforos não se distinguem limites celulares, como bem se pôde notar Fig. 23, Est. IV. Não é aqui o lugar e nem é minha pretensão tratar da histologia dos cromatóforos dos Isopodos e nem mesmo de **Ligia**, mas, a julgar pelo que me foi dado vêr na literatura disponível, faltam ainda informes seguros sobre a estrutura da continuidade ou discontinuidade dos cromatóforos já suscitada por diversos AA.; anóto apenas, que o exame sob a lupa, de uma **Ligia** adaptada ao ambiente perfeitamente escuro durante algumas horas, mostra uma difusão total dos pigmentos por todo o corpo do animal. As Ligias apresentam-se assim realmente negras.

O exame dos melanóforos durante o movimento de contração como se pode vêr na microfotografia da Fig. 25, Est. IV não deixa dúvida quanto á constituição tubiforme dos prolongamentos celulares, como já foi descrito por **Gamble & Keeble** (l. c.) em **H. varians**. Um ou dois núcleos são bem visíveis nos melanóforos.

Durante as minhas pesquisas que tiveram o objetivo quasi exclusivamente fisiológico, pude distinguir além dos melanóforos e dos xantóforos tambem um conjunto de massas esbranquiçadas que permaneceram inertes durante as experiências. Estas massas são constituídas por aglomerados de grânulos dispostos junto dos xantóforos. Como é sabido estes se encontram menos abundantemente que os melanóforos e se acham colocados ao longo da linha sagital acompanhando o vaso dorsal. Esta disposição corresponde, até certo ponto, á indicada em **Idothea** por **Remane** (l. c., p. 109). Sobre a natureza, estrutura e outras particularidades destas massas esbranquiçadas,

nada posso afirmar além das ligeiras notas acima, não tendo encontrado na bibliografia ao meu dispôr informes sobre as mesmas.

Da literatura que obtive sobre **Isopoda** e especialmente sobre **Ligia**, verifica-se que estes animais se comportam, quanto ás mudanças de côr, até certo ponto, do mesmo módo que os Decapodos. Não obstante, a afirmativa em contrario de Tait **Ligia exotica** como a correspondente de Wood's Hole (**L. baudiniana**) e a das práias européas (**L. oceanica**) é capaz da alteração da côr sob a influência de luz. Neste particular, as minhas experiências confirmam em **L. exotica** o quanto foi asseverado por Kleinholz Smith e outros em **L. baudiniana** e **L. oceanica**. Os meus animais de experiência apresentam tambem, como todos do gênero **Ligia** até agora pesquisados, o chamado ritmo diurno descrito por Kleinholz, i.é, de conformidade com as observações que realizei na série B, **L. exotica** cega, mantida no escuro, torna-se negra durante o dia e clara á noite. Contrariamente ao que relata Piéron não me foi possível observar em **L. exotica** a chamada côr noturna determinada, segundo este A. como foi dito, em **Idothea**, por pigmento verde. **L. exotica** tendo já naturalmente uma côr esverdeada, á noite torna-se bastante clara com uma tonalidade que vai do amarelo ao esverdeado pálido. E' possível que apresente tambem tal côr noturna verde por disseminação de pigmento desta côr como acontece em **Idothea** (nesta o pigmento é azul) em **Hippolyte**. Creio que tal se poderá dar. Examinando vários exemplares sacrificados á noite, notei entre os cromatóforos uma substância que se difunde no exoesqueleto, como se vê na Fig. 26, Est. IV. Não posso assegurar, porém, que este fenômeno corresponda ao descrito por Piéron em **Idothea**. Tal afirmativa depende, ao meu vêr de investigações histo-fisiológicas, com métodos de técnica apropriados, actualmente ainda não ao meu alcance.

As minhas pesquisas por meio de injeções de macerados de cabeças de **L. exotica** vieram confirmar aquelas de Kleinholz para **L. baudiniana**, as de Smith para **L. oceanica** e as dos muitissimos AA. para os Decapodos, i.é, pelos resultados por mim obtidos, é de se presumir a existência na cabeça de **L. exotica**, de uma orgão que secreta substância ou substâncias cromatoforotrópicas. Por analogia com os resultados a que chegaram Koller Perkins e Hanström e ainda em consideração dos trabalhos mencionados de Scharrer é possível que tal orgão esteja em relação bastante íntima com os demais do sistema nervoso. Sabido como é, a dificuldade de pesquisa da histologia dos orgãos nervosos nos Isópodos, como o proprio Hanström, que é na realidade uma das autoridades mais competentes, o confessa (1924, p. 74) não me foi possível, pelas razões já expendidas e ainda mais por ultrapassar os limites deste trabalho,

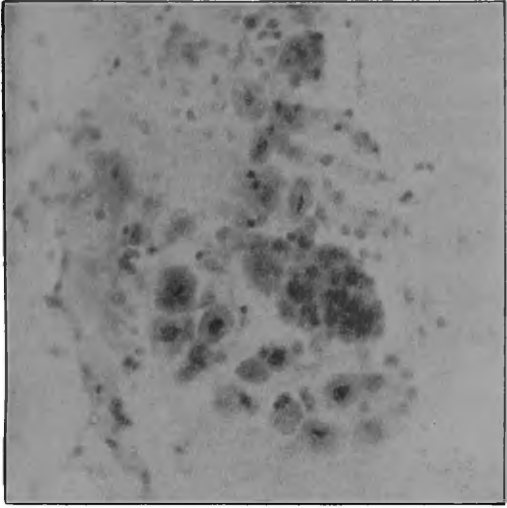


Fig. 23

Células do órgão X" de *Eriphia gonagra*, com núcleos grandes providos de granulações eosinófilas (Microfoto Leitz oc. 10 \times ob. 6 hematox. eosina).

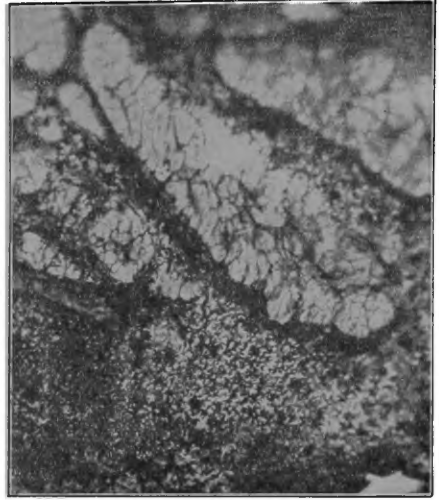


Fig. 24

Tegumento de *Ligia exotica* mantida 6 horas na obscuridade (Prep. total, microfoto Zeiss oc. 7 \times ob. 8).

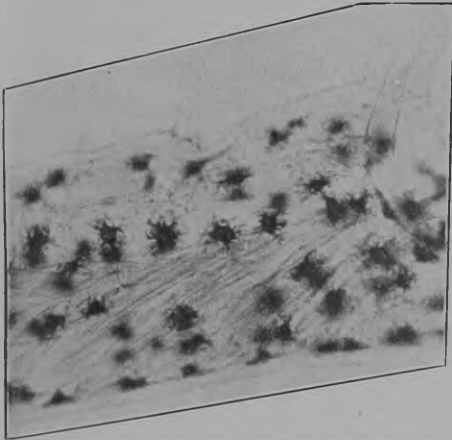


Fig. 25

Parte do isquio do I Pereiopodo de *L. exotica* durante a contração e respectivos prolongamentos tubiformes (Prep. total, microfoto Zeiss oc. 7 \times ob. 20).

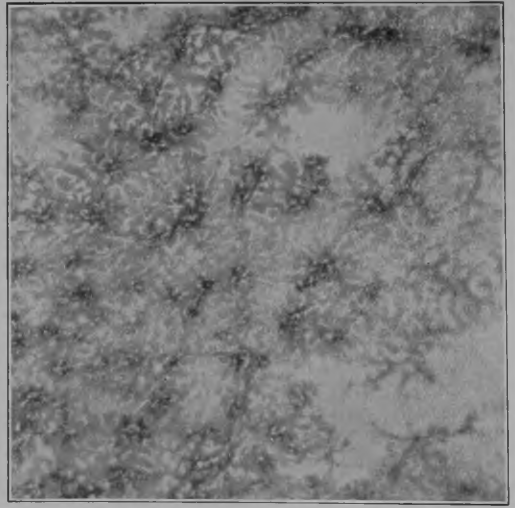


Fig. 26

Tegumento de um tergite de *L. exotica* sacrificada à noite. Notam-se a difusão do pigmento e os melanóforos. (Prep. total, microfoto Zeiss oc. 7 \times ob. 8).

a realização de tais investigações. Aliás, como muito bem aponta este ultimo A. mencionado (1937) p. 89) nos pedúnculos oculares dos Decapodos em que não foi identificada a existencia dos órgãos incretórios, ha secreção de substância cromatoforotrópica, o que indica não serem aqueles órgãos ("orgão X" e "glândula sanguínea") indispensaveis para que tal secreção se dê. E' possível que **L. exotica** esteja neste caso. Somente pesquisas cuidadosas de ordem histológica poderão dar uma resposta segura.

Com **Eriphia gonagra** o comportamento foi diferente. Verificado experimentalmente que os pedúnculos oculares deste Decapodo actúam sobre os cromatóforos de **L. exótica**, presumí lógico a existência em tais pedúnculos do órgão incretório. Como já foi referido, na **Eriphia**, encontra-se um grupo de celulas localisadas na região ventral, junto da lamina medular externa e ventralmente á **medulla terminalis** as quais pela topografia, pelo aspecto morfológico e pelo comportamento deante dos corantes, poderão, a meu vêr, ser identificadas como o "orgão X" de Hanström Este órgão já encontrado em muitos Decapodos, mesmo em **Xantidae**, ainda não foi mencionado em **Eriphia gonagra**.

Parece-me pois, que tal identificação do "orgão X" aqui se faz pela primeira vez.

No capítulo referente á acção dos macerados de hipófise, tanto de Peixes como de Anfíbios, verifiquei que **L. exotica** tanto quanto **L. baudi-niana** e **L. oceanica** e tambem varios Decapodos respondem favoravelmente aos principios hipofisários que actua sobre os cromatóforos. As minhas experiências com hipófise de **Felichthys** mostram que neste órgão encontra-se um princípio cromatoforotrópico que actua mais acentuadamente na expansão dos melanóforos e na contração dos xantóforos das **L. exotica** que foram mantidas em fundo claro. Sobre estes animais, quando conservados em fundo escuro, a acção da hipófise do referido Peixe praticamente foi nula. Outros pesquisadores, em Decapodos mantidos na obscuridade, obtiveram uma reacção positiva á acção da hipófise de Peixe (contração dos melanóforos e expansão dos xantóforos pelo menos). Tendo experimentado sómente em três secções, o que corresponde a 3 hipófises inteiras maceradas, não é possível tomar como definitivos os resultados de minhas experiências neste particular. E' possível que, com o emprego de maior numero de hipófises de Felichthys os cromatóforos de Ligia adaptada á obscuridade ofereçam a mesma reacção.

O mesmo, porém, não aconteceu com a hipófise de **Bufo marinus**. Os efeitos que verifiquei sobre **L. exotica** tanto claras como escuras, cegas ou não, correspondem perfeitamente aos observados por outros AA. em

L. baudiniana, **Palaemonetes**, **Crangon**, etc. Tais efeitos constituíram de uma expansão dos xantóforos e contracção dos melanóforos nas **L. escuras** e o inverso nas **L. claras**. Estes resultados indicam, a meu vêr, uma confirmação da presença na hipófise de um hormónio cromatoforotrópico bastante activo, a julgar pela velocidade das respostas á contracção e á expansão, como se vê no gráfico da fig. 18.

Quanto ás provas inversas, já foram mencionados os resultados das injecções de mácerado de cabeças de **L.** e de pedunculos oculares de **Eriphia gonagra** em **Leptodactylus ocellatus** á p. 81. Estes resultados aliás confirmam as experiências anteriores sobre a acção de hormónios de Invertebrados actuando sobre Vertebrados.

Sobre as experiências relativas á luz monocromática (amarelo e verde) apenas posso dizer que tanto os melanóforos como os xantóforos reagem fracamente ao amarelo, apresentando-se inactivos ao verde. Smith (l.c., p. 259) experimentou em **L. oceanica** tal influência, a exemplo do que fizeram **Hogben** e **Slome** (1936, p. 146) em **Xenopus**. Estes AA. iluminando **Xenopus** em fundo preto e branco com raios de diferentes comprimentos de onda verificaram ser este animal capaz de mostrar que os foto-receptores respectivamente para as respostas aos mencionados substratos, são sensíveis a diferentes regiões do espectro. Smith por meio de filtros e lampadas apropriadas conseguiu determinar que a listra azul do espectro é a mais efetiva para evocar em **L. oceanica** a resposta visual cu secundária, na terminologia do A. Os meus resultados não são comparáveis aos de Smith visto como as minhas **Líguas** foram empregadas com olhos descobertos ao passo que o contrario se deu com as deste A.

Finalizando, podem-se reunir em três grandes grupos os representantes de várias classes de animais em que foram estudados profundamente os cromatóforos, a saber: a) nos Vertebrados poiquiloterms, b) nos **Cephalopoda**, c) nos **Crustacea**. Se bem que as células pigmentárias possuam caracteres comuns, como sejam reacção á luz, ao substrato, aos extractos de hipófise e ás substâncias químicas, podemos distingui-los sucintamente em cada um dos três grupos mencionados pelos seus caracteres particulares. Nos cromatóforos dos Vertebrados poiquilotemos admite-se a dupla inervação, cérebro-espinhal e simpática, tendo sido a primeira demonstrada histologicamente; os dos **Cephalopoda** são providos de fibras musculares lisas; e os cromatóforos dos **Crustacea**, embóra não se tenha demonstrado a inervação, não obstante os trabalhos de **Retzius** (1890, p. 45 t. 13 fig. 13), que ficaram únicos na literatura, reagem como os do primeiro grupo já tendo sido considerados tambem como os do segundo.

Fisiologicamente, nos Vertebrados aludidos admite-se no lobo intermedio da hipófise a existência de um hormônio pigmento-activador; nos Invertebrados (Cefalópodos e Crustaceos) ligados ao sistema nervoso central e órgãos dos sentidos, foram identificados grupos celulares cuja natureza incretória é geralmente aceita por varios AA. Tais células secretam o hormônio cromatoforotrópico correspondente á intermedina de Zondek e Krohn. Sobre este ponto da existência dos hormônios pigmento-activadores são porém inúmeras as divergencias entre os AA. Particularmente nos Invertebrados, em algumas publicações acham-se sistematizados os resultados até agora obtidos de investigações em quasi todos os filos, cada uma com novas contribuições para a hormônio-fisiologia nos Invertebrados. Assim, além dos trabalhos de Hanström já citados, Lerma (1936) e Koller (1938) resumem de modo satisfatório, o estado actual destas pesquisas. Muito recentemente v.d. Wense (1938) reúne, em uma publicação, vários filos dos Invertebrados onde tem sido estudada a actividade endocrínica. Não resta dúvida que o assunto, a julgar pelo que foi dito, se acha na ordem do dia suscitando uma quantidade enorme de trabalhos em animais desde os Protozoarios até os Moluscos.

Como se vê, as experiências por mim realizadas em **L. exotica**, espécie ao que me parece, até agora não pesquisada neste sentido, confirmam a maior parte dos resultados de outros AA. No curso destas investigações, nas quais procurei verificar tão sómente as reacções qualitativas apresentadas para **L. exotica**, deixei de parte a questão de "quantidade" ou melhor da intensidade das mesmas. E' óbvio, seja este fatôr de grande importância, mas a sua indagação é função do primeiro. Agora que se conhecem quais as respostas que **L. exótica** dá a determinados excitantes, poder-se-á procurar o limiar máximo e o minimo dos mesmos. Pelas razões acima mencionadas, o meu material de pesquisas, tanto de **L. exotica** como **E. gonagra**, se prestam muito bem para tais estudos.

XI

CONCLUSÕES

Pelas experiências realizadas em **Ligia exotica** e com **Eriphia gonagra**, os resultados permitem as seguintes conclusões:

1. A mudança de cor nos Crustaceos dá-se pelos movimentos dos cromatóforos, os quais, em **L. exotica** são predominantemente melanóforos e xantóforos.
2. Os cromatóforos dos Crustaceos reagem aos estímulos extrínsecos (luz, substrato, agentes químicos, etc.) e também aos estímulos intrínsecos principalmente de natureza hormonal.
3. **Ligia exotica** apresenta duas respostas na reação à mudança de cor: uma primária por efeito da luz diretamente sobre os cromatóforos e uma secundária indireta, tendo como via os olhos e o sistema nervoso.
4. Pelo efeito dos macerados de cabeça de **L. exotica** sobre animais da mesma espécie, em diferentes condições, é de presumir a existência de um órgão de natureza incretória que provavelmente corresponde ao denominado "órgão X" descoberto por Hansström.
5. **L. exotica** reage favoravelmente, por movimentos dos melanóforos e dos xantóforos aos macerados de pedúnculo ocular de **Eriphia gonagra**.
6. A conclusão anterior se confirma plenamente pela descoberta, pela primeira vez, no pedúnculo ocular desta **Xantidae (E. gonagra)** de um órgão que pela sua sede e estrutura corresponde ao "órgão X"
7. A luz monocromática amarela e a verde, **L. exotica** responde positivamente somente à primeira.

8. A substância de natureza hormónica existente nos macerados de cabeças de *L. exotica* actua positivamente nos melanóforos e nos xantóforos de *Leptodactylus ocellatus*, por uma contração e por uma expansão.
9. *L. exotica* apresenta como *L. baudiniana* o chamado ritmo diurno.
10. A côr noturna de *Hippolyte varians* e de *Idothea tricuspidata* não foi observada em *L. exotica*, mas não se póde negar a sua possível ocorrência.
11. O NaCl e KCl agindo sobre um melanóforo isolado provocam respectivamente expansão e concentração dos pigmentos. O clorofórmio é melanóforo-expansor, e a adrenalina age a princípio como excitante da expansão e depois como elemento contrator.

XII

SUMMARY

Among the Crustacea the **Isopoda** may be considered a good object for research of the color changes. The genus **Ligia** is really a favorable material for experiments. The animals live very well in the aquarium, are easy to treat and are provided with simple chromatophores. In maximal contraction these cells have ca. $10\ \mu$ in diameter. Specimens were collected on the ilha das Palmas, where the Isopod is found in great numbers feeding upon the plant material on the large stones. Three groups of experiments were made, one on the ilha das Palmas in summer and two in the physiological laboratory of the zoological department in winter. The A. observed the responses to changes in color of the background, a large porcelain plate, the bottom of which was covered with a little sea water. For adaptation to darkness was used a tin box painted with black varnish on the inside. During the course of these experiments the reactions of blinded **Ligia** were also observed. The blinding was accomplished by covering the eyes with an opaque white enamel. The enamel was applied over the head so that the eyes were completely covered and, after being allowed to dry, the animals were placed in the porcelain plate or the black box.

The chief and most obvious component of the chromatophore system in **Ligia exotica** consists — like Kleinholtz (1937 p. 26) mentioned for **L. baudiniana** — of cells containing a black pigment: so called melanophores. Yellow pigment cells — xanthophores — were studied together with the melanophores. The black pigment cells are distributed over the entire surface of the animal. They are heaped near the lateral margins of the tergites (t. 1 f. 1). The yellow pigment cells occur in all the individuals in rather large clusters on the posterior dorsal surface and in the middle line following the dorsal vessel. These yellow cells are less active than the melanophores. White pigment is also present in small masses on the dorsal side, especially on the lateral rims of the tergites. The results of the changes of the background color are shown in table Series A and Figs. 7-8.

The **Ligia**, blinded by covering the eyes with enamel, show the melanophores maximally dispersed within ca. one hour. The specimens shut up in the black box partly became light, others remained dark. With several

experiments was determined, that **Ligia exotica** presents the same daily rhythm as **L. baudiniana** (Kleinholtz) and **Idothea** (Piéron).

Hanström showed that the activity of crustacean eye-stalk extracts in concentrating the dispersed melanophores is correlated with the presence of the blood-gland and the X-organ in the eye-stalk of Decapods.

Macerate of heads of **Ligia** prepared with sea water was injected into other **Ligias** adapted to white or black background. For the injections into the small Isopods two syringes of glass were made (Fig. 2, 3). The first is a modification of the known apparatus of Knowler (1908, p. 209) for injection of small embryos.

Ligias in several conditions (white and dark adapted; blinded or not) received each cm 0,1 of the macerate of **Ligia** heads adapted to white or black background. The results of these experiments are shown in the Table Series B and C (p. 67) and Figs. 9-12.

The macerates of the eye-stalk of the Xantid **Eriphia gonagra** are effective in concentrating dispersed melanophores and expanding concentrated xanthophores of **Ligia exotica** (Table Series D and Figs. 13, 14). The microscopic analysis of eye-stalks of **Eriphia gonagra** shows a cell group with the histological characteristics of the X-organ of Hanström (t. IV fig. 23). This is perhaps the first time, this organ is found in the eye-stalk of this Xantid.

The behavior of the black and yellow pigment of **L. exotica** following the injection of extract of hypophysis of **Felichthys bagre** has shown that the existence of the chromatophorotropic hormone is admissible in the pituitary of this catfish (Table Series E and Fig. 15). The behavior of chromatophores after the injection of the extracts of hypophysis of **Bufo marinus** into **Ligia** is striking for the dispersed concentrated melanophores and xanthophores respectively. These pigment cells immediately present the opposite movement (Table Series F and Figs. 16-18).

The inverse experiments, injection of **Ligia** head extracts and extracts of **Eriphia** eye-stalk in **Leptodactylus ocellatus**, give expansion of melanophores and contraction of xanthophores, that lead to admit the presence of pigment activating hormones (Tables Series G and H t. III Figs. 21, 22).

Melanophores and xanthophores answer slightly to yellow and not at all to green monochromatic light (Table Series I).

The Vertebrate chromatophores have double innervation; those of the Cephalopoda have muscle-fibres; those of the Crustacea, in which innervation, was not yet shown, work like the first but have also been considered equal to the second.

In Invertebrates cell groups near the central nervous system and the sense organs are supposed to be incretory. Their chromatophoretropic hormone seems to correspond to Zondek & Krohns intermedine.

My experiences in **L. ex.**, a species, that was not yet examined from this point of view, confirm most of the results of other authors. I only made qualitative experiments and set aside the intensity of reactions. Now the answers of **L. ex.** to certain stimulants are known, their maximal and minimal limits may be researched with **L. ex.** and **Er. gon.** that are both well fit for such studies.

My results allow the following **conclusions**:

1) The change of color in Crustacea is due to movements of the chromatophores, that in **L. e.** are chiefly melanophores and xanthophores.

2) The crustacean chromatophores answer to exterior stimulants (light, background, chemical agents etc.) and to internal ones, chiefly of hormonal nature.

3) **L. ex.** shows two responses in color change: a primary one due to the direct influence of light on the chromatophores and a secondary one, working indirectly over the eyes and the nervous system.

4) The action of head macerates of **L. e.** on animals of the same species under different conditions suggests the existence of an incretory organ, probably corresponding to Hanström's "X-Organ"

5) **L. ex.** easily answers to eye-stalk macerate of **Er. go.** with movements of melanophores and xanthophores.

6) The latter conclusion is fully confirmed by the discovery of an organ situated and built like the "X-Organ" in the eye-stalk of **E. g.**

7) Of yellow and green monochromatic light **L. ex.** only responds to yellow.

8) The substance of hormone character in the head macerates of **L. ex.** effects contraction of melanophores and dilatation of xanthophores in **Leptod. ocellatus.**

9) **L. ex.** shows the so-called daily rhythm known from **L. baudiniana.**

10) The night color of **Hip. var.** and **Id. tric.** was not seen in **L. ex.**, but its occurrence cannot be denied.

11) NaCl acting upon melanophores insulated with help of the micro-manipulator produces dilatation, KCl concentration of the pigment. Chloroform expands melanophores, and Adrenaline first expands and later contracts them.

XIII

LITERATURA

- ABRAMOWITZ, A. A. 1935. Color changes in Cancroid Crabs of Bermuda. Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A., v. 21, pp. 677-681 Washington.
- 1937a. The comparative physiology of pigmentary responses in the Crustacea. Journ. exp. Zool., v. 76, pp. 407-422 Philadelphia, Pa.
- 1937b. The chromatophrotropic hormone of the Crustacea: standardization, properties and physiology of the eyestalks glands. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole, v. 72, n. 3, pp. 344-365, 1 t. Lancaster, Pa.
- ABRAMOWITZ, A. A. e ABRAMOWITZ, R. K. 1938. On the specificity and related properties of the Crustacean chromatophrotropic hormone. Ibid., v. 74, n. 2, pp. 278-296 Jena.
- ADACHI, B. 1902. Hautpigment beim Menschen u. bei den Affen. Anat. Anz. v. 21, f. 1, pp. 16-18 Jena.
- AGASSIZ, A. 1892. Preliminary note on some modifications of the Chromatophores of Fishes and Crustaceans. Bull. Mus. Compar. Zoology Harvard, v. 23, n. 4, pp. 189-193, 1 t. Cambridge, Mass.
- ALEXANDROWICZ, J. S. 1909. Zur Kenntnis des sympathischen Nervensystem der Crustaceen. Jena. Zeitschr. f. Naturwiss., v. 45, pp. 395-427, Jena.
- ALLEN, B. M. 1917. Effects of the Extirpation of the Anterior Lobe of the Hypophysis of *Rana pipiens*. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole, v. 32, n.3, pp. 117-130 Lancaster, Pa.
- ANDRÉ, M. 1935. Sur la coloration noire de certaines Écrevisses. Bul. Soc. Zool. France, v. 40, pp. 40-43 Paris.
- ATZLER, M. 1930. Untersuchungen über den morphologischen und physiologischen Farbwechsel von *Dixippus (Carausius) morosus* Zeit. vergl. Physiol., v. 13, f. 3, pp. 505-533 Berlin.
- BABÁK, E. 1913. Über den Einfluss des Lichtes auf die Vermehrung der Hautchromatophoren. Pflüger's Archiv. f. d. gesam. Physiol., v. 149, f. 10 11, pp. 462-470 Bonn.
- BACQ, Z. M. 1933. The Action of Ergotamine on the Chromatophores of the Catfish (*Ameiurus nebulosus*). Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole, v. 65, n. 3, pp. 387-388 Lancaster, Pa.
- BALLOWITZ, E. 1893a. Die Nervenendigungen der Pigmentzellen, ein Beitrag zur Kenntnis des Zusammenhanges der Endverzweigungen der Nerven mit dem Protoplasma der Zellen. Zeit. f. wiss. Zool., v. 56, f. 4, pp. 673-706, f. 35-39 Leipzig.
- 1893b. Die Innervation der Chromatophoren, mit Demonstration von Zeichnungen und Präparaten. Verh. Anat. Gesell., Anat. Anz. v. 8, pp. 71-96 Jena.

- BALLOWITZ, E. 1913a. Über schwarz-rote Doppelzellen und andere eigenartige Vereinigung heterochromer Farbstoffzellen bei Knochenfischen. *Anat. Anz.*, v. 44, n. 5, pp. 81-91 Jena.
- 1913b. Die chromatischen Organe in der Haut von *Trachinus vipera* Cuv. Ein Beitrag zur Kenntnis der Chromatophoren-Vereinigungen bei Knochenfischen. *Zeit. f. wiss. Zool.*, v. 104, f. 3, pp. 471-529, t. 14-18 Leipzig.
 - 1913c. Ueber chromatische Organe, schwarz-rote Doppelzellen und andere eigenartige Chromatophorenvereinigungen, ueber Chromatophorenfragmentation und über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen. *Verh. Anat. Gesell., Anat. Anz.*, v. 44, pp. 108-113 Jena.
 - 1914. Über die Pigmentströmung in den Farbstoffzellen und die Kanälchenstruktur des Chromatophoren-Protoplasmas. *Pflüger's Archiv. f. d. gesam. Physiol.*, v. 157, pp. 165-210, t. 3-6 Bonn.
 - 1931. Die Pigmentzellen, Chromatophoren. BOLK, GÖPPERT etc.: *Hand. d. vergl. Anat. d. Wirbeltiere.*, v. I pp. 505-520 Berlin e Wien.
- BALSS, H. 1927. Decapoda. KÜKENTHAL: *Hand. d. Zool.* v. 3, part. I, f. 7-9, pp. 840-1158 Berlin e Leipzig.
- BARBOUR, H. G. e SPAETH, R. A. 1917. Responses of Fish Melanophores to Sympathetic and Parasympathetic Stimulants and Depressants. *Journ. Pharm. ex. Therap* v. 9, pp. 356-357 Baltimore.
- BARNES, T. C. 1932. Salt Requirements and Space Orientation of the littoral Isopod *Ligia* in Bermuda. *Biol. Bull. mar. labor. Wood's Hole*, v. 63, n. 3, pp. 496-504 Lancaster, Pa.
- 1934. Further observations on the Salt requirements of *Ligia* in Bermuda. *Ibid.*, v. 66, n. 2, pp. 124-132.
 - 1935. Salt. requirements and Orientation of *Ligia* in Bermuda. III. *Ibid.*, v. 69, n. 2, pp. 259-268.
 - 1936. Experiments on *Ligia* in Bermuda. IV *Ibid.*, v. 70, n. 1, pp. 109-117.
 - 1938. Experiments on *Ligia* in Bermuda. V. *Ibid.*, v. 76, n. 1 pp. 108-116.
- BEAUVALLET, M. e VEIL, C. 1934. Chromatophores de Poisson (*Carassius vulgaris*) et Chromatophores de Crustacés (*Palaemon squilla*). *C. R. Soc. Biol. Paris*, v. 117, pp. 688-690 Paris.
- BECHER, H. 1929. Über die Entwicklung der Farbstoffzellen in der Haut der Knochenfische. *Verhandl. d. anat. Gesell., Anat. Anz.* v. 67, pp. 164-181 Jena.
- BETHE, A. 1896. Ein Beitrag zur Kenntnis des peripheren Nervensystems von *Astacus Fluviatilis*. *Anat. Anz.*, v. 72, n. 1, pp. 31-34 Jena.
- 1897. Das Centralnervensystem von *Carcinus maenas*, I. Theil. II *Mitt. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickl.*, v. 50, pp. 589-639, t. 33 Bonn.
- BETHE, A. HOLST, E. v. e HUF, E. 1935. Die Bedeutung des mechanischen Innendrucks für die Anpassung gepanzierter Seetiere an Änderungen des osmotischen Aussen-drucks. *Pflüger's. Archv. f. d. gesam. Physiol.*, v. 235, pp. 330-344 Berlin.
- BIEDERMANN, W. 1914. Farbe und Zeichnung der Insekten. WINTERSTEIN: *Hand. d. vergl. Physiologie*, v. 3, part. 2, pp. 1657-2041 Jena.
- 1926. Vergleichende Physiologie des Integuments der Wirbelthiere. *Ergb. d. Biol.*, v. 1, p. 1-342 Berlin.
- BIGNEY, A. 1919. The Effect of Adrenalin on the Pigment Migration in the Melanophores of the Skin and in the Pigment Cells of the Retina of the Frog. *Journ. exp. Zool.* v. 27, n. 3, pp. 391-396 Philadelphia, Pa.

- BISSONNETTE, T. H. 1937. Photoperiodicity in Birds. *Wilson Bull.*, v. 49, pp. 241-270. Oberlin-Ohio.
- BLOCH, B. 1921. Nouvelles Recherches sur le problème de la pigmentation de la peau. *Bul. Soc. franç. d. Dermat., A.* 28 (R. Derm. et Syphyllographique de Strassburg), pp. 77-96 Paris.
- BOLK, E. 1908. Über die segmentale Anordnung der Melanoblasten bei jungen Teleosteen. *Verh. Anat. Gesell., Anat. Anz.*, v. 32, pp. 135-138 Jena.
- BÖMIG, L. 1929. Nemertini. KÜKENTHAL: *Hand. d. Zool.*, v. 2, part. I, f. 4, pp. (3) 1-110 Berlin e Leipzig.
- BÖTTGER, C. 1934. Über einen neuen Intermedintest und die Intermedinreaktion der Elritze. *Zeit. vergl. Physiol.*, v. 21, n. 3, pp. 415-428 Berlin.
- BOUVIER, E. L. 1891. Recherches anatomiques sur le Système artériel des Crustacés Décapodes. *Ann. Sci. Nat., Zoologie, Ser. 7*, v. 11, pp. 197-282, t. 8-11 Paris.
- BOZLER, E. 1928a. Über die Tätigkeit der einzelnen glatten Muskelfaser bei der Kontraktion. II Mitt.: Die Chromatophoren-muskeln der Cephalopoden. *Zeit. vergl. Physiol.*, v. 7, n. 3, pp. 379-406 Berlin.
- 1928b. Über die Frage des Tonussubstrates. *Ibid.*, v. 7, n. 3, pp. 407-435.
- 1928c. Weitere Untersuchungen zur Frage des Tonussubstrates. *Ibid.*, v. 8, n. 3-4, pp. 371-390.
- BRAY, A. W. L. 1918. The relations of the Melanophores of *Amiurus* to light and to adrenalin. *Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 4, pp. 58-60 Washington.
- BRODY, M. S. & PERKINS, E. B. 1930. The Arterial System of *Palaemonetes*. *Journ. Morph.* v. 50, n. 1, pp. 127-142 Philadelphia, Pa.
- BROWN, F. A. Jr. 1934. The chemical nature of the pigments and the transformations responsible for color changes in *Palaemonetes*. *Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole*, v. 67, n. 3, pp. 365-380 Lancaster, Pa.
- 1935a. Color Changes in *Palaemonetes*. — *Journ. Morph.*, v. 57, pp. 317-333 Philadelphia, Pa.
- 1935b. Control of Pigment Migration within the Chromatophores of *Palaemonetes vulgaris*. *Journ. exp. Zool.*, v. 71, pp. 1-35 Philadelphia, Pa.
- 1938. An Internal Secretion affecting viability in Crustacea. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 24, n. 12, pp. 551-555 Washington.
- v. BUDDENBROCK, W. 1926. *Grundriss d. vergleichenden Physiologie*. IV † 830 pp., 2 t. Berlin.
- BÜRGER, O. 1897. Nemertini. BRONN'S *Klassen u. Ord. d. Tierreichs*, v. 4, f. 1-4, 64 pp. t. 1-4 Leipzig.
- CAJAL, S. R. y. 1913. *Estudios sobre la Degeneración y Regeneración del Sistema Nervioso*. v. 1, XII † 414 pp. Madrid.
- CHILTON, C. 1911. The Crustacean of the Kermadec Islands. *Ligia novae-zealandia* Dana. *Trans. New Zeal. Inst.*, v. 43, pp. 544-573 Wellington.
- CHUN, C. 1902. Über die Natur die Entwicklung der Chromatophoren bei den Cephalopoden. *Verhand. Deutsch. Zool. Gesell.*, pp. 162-182 Leipzig.
- COLE, W. H. & DEAN, C. F. 1917. The Photokinetic Reactions of Frog Tadpoles. *Journ. exp. Zool.*, v. 23, pp. 361-370 Philadelphia, Pa.
- CUÉNOT, L. 1927. Valeur protective de l'Homocromie chez quelques animaux aquatiques. *Ann. Sci. Nat., s. Bot. et. Zool.*, v. 10, pp. 123-150 Paris.

- DAHLGREN, U. & KEPNER, W. 1930. Principles of Animal Histology. XIII + 515 pp. New York.
- DEDERER, P. H. 1921. The behavior of Cells in tissue cultures of *Fundulus heteroclitus* with special reference to the ectoderm. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole, v. 41, n. 4, pp. 221-240, Lancaster, Pa.
- DEGENER, E. 1912a. Über Bau und Funktion der Krustercromatophoren, eine histologisch-biologische Untersuchung. Zeit. f. wiss. Zool., v. 102, f. 1, pp. 1-78, t. 1-3 Leipzig.
- 1912b. Weitere Beiträge zur Kenntnis der Crustaceen Chromatophoren. Ibid., v. 102 f. 3-4, pp. 701-710.
- DOFLEIN, F. 1910. Lebensgewohnheiten und Anpassungen bei decapoden Krebsen. Festschr. R. HERTWIGS, v. 3, pp. 217-290, t. 17-20 Jena.
- DONS, C. 1913. Norges strandfauna III. Isopodera Det Kung. Norske Vidensk. Selsk. Forh. v. 6, n. 24, pp. 94-96 Trondheim.
- EBERTH C. J. 1893. Die Nerven der Chromatophoren. Verh. Anat. Gesell., Anat. Anz., v. 8, pp. 71-72 Jena.
- EBERTH, C. J. EBERTH, & BUNGE, R. 1895. Die Nerven der Chromatophoren. Archv. f. mikr. Anat. v. 36, pp. 370-378 Bonn.
- EDMONDSON, C. H. 1931. New Crustaceans from Kauai, Ohau and Maui. Bernice P. Bishop Mus., Occ. Papers, v. 9, n. 17, pp. 1-17, pp. 1-18 Honolulu.
- ERHARD, H. 1929. Farbwechsel und ihre Bedeutung. BETHE: Handb. d. Normalen u. Pathol. Physiol. v. 13, X + 893 pp. Berlin.
- ETERNOD, A. C. F. & ROBERT, A. E. 1908. Les Chromatocytes. Anatomie, Physiologie, Verhand. deut. Anat. Gesell., Anat. Anz., v. 32, pp. 121-131 Jena.
- FRIES, E. F. B. 1927. Nervous control of xanthophore Changes in *Fundulus*. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., v. 13, pp. 567-569 Washington.
- 1931. Color Changes in *Fundulus*, with Special Consideration of the Xanthophores. Journ. exp. Zool., v. 60, pp. 389-426 Philadelphia, Pa.
- v. FRISCH, K. 1910. Über die Beziehungen der Pigmentzellen in der Fischhaut zum sympathischen Nervensystem. Festschr. R. HERTWIGS, v. pp. 15-28 Jena.
- 1911. Beiträge zur Physiologie der Pigmentzellen in der Fischhaut. Pflüger's Arch. f. d. gesam. Physiol., v. 138, f. 6-9, pp. 319-387 t. 1-5 Bonn.
- 1912. Über farbige Anpassung bei Fischen. Zool. Jahr. Abt. allg. Zool. u. Physiol., v. 32, pp. 171-230 Jena.
- FRÖLICH 1910. Farbwechselreaktion bei *Palaemon*. Zentralbl. f. Physiol., v. 22, n. 9, p. 1 Leipzig u. Wien.
- FUCHS, R. F. 1914. Der Farbenwechsel und die chromatische Hautfunktion der Tiere. WINTERSTEIN: Hand. vergl. Physiol., v. 3, pp. 1189-1656 Jena.
- GAMBLE, F. W. 1910. The relation between light and pigment formation in *Crenolabrus* and *Hippolyte*. Quart. Journ. micr. Sci., v. 55, pp. 541-583, t. 23 London.
- GAMBLE, F. W & KEEBLE, F. W. 1900. *Hippolyte* varians, a study in colour change. Ibid., v. 43, pp. 582-689, t. 32-36.
- GEGENBAUR, C., KOELLIKER, A. & MÜLLER, H. 1853. Berichte über einige im Herbste 1852 in Messin angestellte vergleichend -anatomische Untersuchungen. Zeit. f. wiss. Zool., v. 4, pp. 299-370 Leipzig.

- GEILLING, E. M. K. & LEWIS, M. R. 1935. Further information regarding the Melanophore of the Hypophysis cerebri. *Amer. Journ. Physiol.*, v. 113, n. 3, pp. 534-537 Baltimore.
- GIEBERSBERG, H. 1930a. Der Farbwechsel der Fische. *Zeit. vergl. Physiol.*, v. 13, n. 2, pp. 258-279 Berlin.
- 1930b. Über Farbwechsel der Tiere. *Jber. Schles. Ges. vaterl. Kultur.*, v. 103 Breslau.
- 1931. Über den Zusammenhang von morphologischen und physiologischen Farbwechsel. Nach Untersuchungen an Insekten und Fischen. *Arch. Zool. Ital.*, v. 16, XI Congr. Intern. Zool, pp. 363-370 Padova.
- GILSON, A. S., Jr. 1922. The diverse effects of Adrenalin upon the migration of scale pigment and the retinal pigment in the Fish *Fundulus heteroclitus* Linn. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 8, pp. 130-133 Washington.
- 1926. Melanophores in developing and adult *Fundulus*. *Journ. exp. Zool.*, v. 45, n. 2, pp. 415-455 Philadelphia, Pa.
- GOLOVINE, E. 1907. Étude sur les, cellules pigmentaires des Vertébrés. *Ann. Inst. Pasteur*, v. 21, pp. 858-881, t. 21 Paris.
- GRAF, A. 1895. Über den Ursprung des Pigments und der Zeichnung bei den Hirudineen. *Zool. Anz.*, v. 18, n. 468, pp. 65-70 Leipzig.
- GRIECO, V. 1931. O pigmento cutaneo. Tese inaug. Fac. Med., 95 pp. S. Paulo.
- HACHLOV, L. 1910. Die Körperwand von *Hirudo medicinalis* nebst einigen Bemerkungen ueber die Bayerschen Organe von *Clepsine sexoculata*. *Zool. Jahrb. Abt. Anat. u. Ontog. d. Tiere*, v. 29, pp. 449-484, t. 36-38 Jena.
- HAMAKER, J. I. 1898. The nervous system of *Nereis virens* Sars. *Bull. Mus. comp. Zool. Harvard*, v. 32, pp. 89-124 Cambridge, Mass.
- HANSTRÖM, B. 1924. Untersuchungen über das Gehirn, insbesondere die Sehganglien der Crustaceen. *Arkiv f. Zool.*, v. 16, n. 10, pp. 1-119 Stokholm.
- 1925. The olfactory centres in Crustaceans. *Journ. Comp. Neurol.*, v. 38, n. 3, pp. 221-250 Philadelphia, Pa.
- 1928. Vergleichenden Anatomie des Nervensystems der wirbellosen Tiere. XI + 628 pp. Berlin.
- 1929. Der Einfluss der Blendung auf die Sehzentren der Crustaceen. *Wilhelm Roux Arch. Entw. d. Organismen*, v. 115, f. 1-2, pp. 154-183 Berlin.
- 1931. Neue Untersuchungen über Sinnesorgane und Nervensystem der Crustaceen. I. *Zeit. Morph. u. Ökol. Tiere*, v. 23, f. 1-2, pp. 80-236 Berlin.
- 1933. Neue Untersuchungen über Sinnesorgane und Nervensystem der Crustaceen. II. *Zool. Jahrb., Abt. Anat.*, v. 56, pp. 387-520 Jena.
- 1934a. Neue Untersuchungen über Sinnesorgane und Nervensystem der Crustaceen. III. *Ibid.*, v. 58, f. 1, pp. 101-144.
- 1934b. Neue Untersuchungen über Sinnesorgane und Nervensystem der Crustaceen. IV. *Arkiv f. Zool.*, v. 26A., n. 24, pp. 1-66 Stokholm.
- 1934c. Über das Organ X., eine inkretorische Gehirndrüse der Crustaceen. *Psych. e. Neurol. Bladen*, n. 3-4, pp. 1-14.
- 1935a. Neue Untersuchungen über Sinnesorgane und Nervensystem der Crustaceen. V. *Kungl. Fys. Saellsk. I Lund Foerh.*, v. 5, n. 16.
- 1935b. Preliminary report on the probable connection between the blood Gland and the Chromatophore Activator in Decapod Crustaceans. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 21, pp. 584-585 Washington.
- 1937a. Die Sinusdrüse und der hormonal bedingte Farbwechsel der Crustaceen. *Kungl. Svenska Vetensk. Handl.*, ser. 3, v. 16, pp. 1-99 Stockholm.

- HANSTRÖM, B. 1937b. Inkretorische Organe und Hormonfunktionen bei den Wirbellosen. Ergb. d. Biol., v. 14, pp. 143-224 Berlin.
- 1937c. Vermischte Beobachtungen über die chromatophor-aktivierenden Substanzen der Augenstiele der Crustaceen und des Kopfes der Insekten. Kungl. Fysiogr. Saell. Hadl. N. F., v. 47, n. 8, pp. 1-11 Lund.
- 1938a. Zwei probleme betreffs der hormonalen Lokalisation im Insektenkopf. Kungl. Fys. Saells. Handll N. F., v. 49, v. 16, pp. 1-17 Lund.
- 1938b. Der Einfluss der Lackierung der Augen die Expansion der Chromatophoren bei *Leander adpersus*. Ibid., n. 11, pp. 1-10.
- HARLESS, E. 1846. Untersuchungen der Chromatophoren bei *Loligo*. WIEGMANN Arch. f. Naturgesch., Jahrg. 12, v. 1, f. 1, pp. 34-44 Berlin.
- 1854. Über die Chromatophoren des Frosches. Zeit. f. wiss. Zool., v. 5, pp. 372-379 Leipzig.
- HERBST, C. & ASCHER, F. 1927. Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Färbung und Zeichnung der Tiere. Arch. Entwck.-mechan. v. 112, pp. 1-59, t. 1-3 Berlin.
- HOGBEN, L. 1936. The Pigmentary Effector System. VII. The Chromatic Function in Elasmobranch Fishes. Proc. Roy. Soc. B, 817, v. 120, pp. 142-158 London.
- HOGBEN, L. & SLOME, O. 1931. The Pigmentary Effector System. VI. The Dual Character of Endocrine Co-ordination in Amphibian Colour Change. Ibid., B. 755, v. 108, pp. 10-53, t. 3-4.
- 1936. The Pigmentary Effector System. VIII. The Dual Receptive Mechanism of the Amphibian Background Response. Ibid., B. 817, v. 120, pp. 158-173.
- HOLMGREN, E. 1898. Zum Aufsatz W. SCHREIBER's "Noch ein Wort ueber das peripherische sensible Nervensystem bei den Crustaceen". Anat. Anz., v. 14, n. 16, pp. 409-418 Jena.
- HOOCKER, D. 1914. Ameboid movement in the corial Melanophores of *Rana*. Amer. Journ. Anat., v. 16, pp. 237-250 Philadelphia, Pa.
- JANDA, V. 1936. Über den Farbwechsel transplanierter Hautstücke und kunstlich verbundener Körperfragmente bei *Dixippus morosus* (Br. et Redt.). Zool. Anz., v. 115, n. 7-8, pp. 177-185 Leipzig.
- JANZEN, R. 1932. Der Farbwechsel von *Psicola geometra* L. I. Beschreibung des Farbwechsels und seiner Elemente. Zeit. Morph. u. Ökol. d. Tiere, v. 24, f. 2., pp. 327-341 Berlin.
- JORDAN, H. J. 1929. Allgemeine vergleichenden Physiologie d. Tiere. XXVII + 761 pp. Berlin e Leipzig.
- KALMUS, H. 1938. Über einen latenten physiologischen Farbwechsel beim Flusskrebs *Potamobius astacus*, sowie seine hormonale Beeinflussung. Zeit. vergl. Physiol., v. 25, n. 5, pp. 784-797 Berlin.
- KLEINHOLTZ, L. H. 1937a. Color Changes and Diurnal Rhythm in *Ligia baudiniana*. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole, v. 72, n. 1, pp. 24-36 Lancaster, Pa.
- 1937b. Studies in the Pigmentary System of Crustacea II. Diurnal Movements of the Retinal Pigments of Bermudan Decapods. Ibid., v. 72, n. 2, pp. 176-189.
- 1938a. Studies in Reptilian Colour Changes. III. Pituitary and Adrenal Glands in the Melanophores of *Anolis Carolinensis*. Journ. Exp. Biol., v. 15, n. 4, pp. 474-491, t. 1-4 Cambridge.
- 1938b. Studies in the Pigmentary of Crustacea. IV. The unitary versus the multiple hormone hypothesis of Control. Biol Bull. mar. biol Lab. Wood's Hole, v. 75, pp. 510-532 Lancaster, Pa.

- KLEINHOLTZ, L. H. & WELSH, J. H. 1937. Colour Changes in *Hippolyte* varians. *Nature*, v. 140, n. 3550, pp. 851-852 London.
- KNAUTHE, K. 1891. Zur Biologie der Fische. *Zool. Anz.*, v. 14, n. 357, pp. 73-76 Leipzig.
- KNOWER, H. Mc. E. 1908. A new sensitive Method of injecting the Vessels of small Embryos, etc. under the Microscope. *Anat. Rec.*, v. 2, pp. 207-214 London.
- KOLLER, G. 1925. Farbwechsel bei *Crangon vulgaris*. *Verh. deut. zool. Gesell.*, v. 30, pp. 128-132 Leipzig.
- 1927. Über Chromatophoresystem, Farbensinn und Farbwechsel bei *Crangon vulgaris*. *Zeit. vergl. Physiol.* v. 5, n. 2, pp. 191-146 Berlin.
- 1928. Versuche über die inkretorischen Vorgänge beim Garneelenfarbwechsel. *ibid.*, v. 8, n. 1-2, pp. 601-612 Berlin.
- 1929. Die innere Sekretion bei wirbellosen Tieren. *Biol. Reviews*, v. 4, n. 3, pp. 269-306 Cambridge.
- 1930. Weitere Untersuchungen über Farbwechsel und Farbwechsellormone bei *Crangon vulgaris*. *Zeit. vergl. Physiol.*, v. 12, n. 3-4, pp. 632-667 Berlin.
- 1938. Hormone bei wirbellosen Tieren. 143 pp. Leipzig.
- KOLLER, G. & MEYER, E. 1930. Versuche über den Wirkungsbereich von Farbwechsellormonen. *Biol. Zentrbl.*, v. 50, f. 12, pp. 759-768 Leipzig.
- KOLLER, G. & RODEWALD, W. 1933. Über den Einfluss des Lichtes auf die Hypophysentätigkeit des Froches. *Pflüger's Arch. f. d. gesam. Physiol.*, v. 232, f. 5, pp. 637-642 Berlin.
- KROPP, B. 1927. The Control of the Melanophores in the Frog. *Journ. exp. Zool.*, v. 49, pp. 289-318 Philadelphia, Pa.
- 1932. The Crustacean Chromatophore Activator and the Gonads of the Rat. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 18, p. 690 Washington.
- KROPP, B. & PERKINS, E. B. 1933. The occurrence of the Humoral Chromatophore Activator among Marine Crustaceans. *Bioll. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole*, v. 64, n. 1, pp. 28-32 Lancaster, Pa.
- KRÜGER, P. 1926. *Tierphysiologische Übungen*. XXXV + 518 pp. Berlin.
- LAUBER, H. 1936. Die Lederhaut, die Aderhaut, die Regenbogenhaut. *MÖLLENDORFF: Hand. d. mikr. Anat. d. Menschen.*, v. 3 — Haut u. Sinnesorgane, part. 2, VIII + 782 pp. Berlin.
- LAURENS, H. 1917. The reactions of the Melanophores of *Amblystoma tigrinum* Larvae to Light and Darkness. *Journ. exp. Zool.*, v. 23, pp. 195-205 Philadelphia, Pa.
- LAURENS, H & WILLIAMS, J. W. 1917. Photochemical Changes in the Retina of Normal and Transplanted Eyes of *Amblystoma*. Larvae. *Ibid.*, v. 23, n. 1, pp. 71-82, 1 t.
- de LERMA, B. 1936. L'attività endocrina negli Invertebrati. *Attual. Zool.*, v. 2, *Arch. Zool. Ital.*, supp. v. 23, pp. 83-136. Torino.
- LOWE, J. N. 1917. The Action of various pharmacological another chemical agents on the Chromatophores of the Brook Trout *Salvelinus fontinalis* Mitchill. *Journ. exp. Zool.*, v. 23, pp. 147-193, 1 t. Philadelphia, Pa.
- LUNDSTROM, H. M. & BARD P. 1932. Hypophysial Control of Cutaneous Pigmentation in an Elasmobranch Fish. *Bioll. Bull. mar. biol. Lab. Wod's Hole*, v. 62, n. 1, pp. 1-9 Lancaster, Pa.

- LEYDIG, F. 1849. Zur Anatomie von *Psicola geometrica* mit theilweiser Vergleichung anderer einheimischer Hirudineen. Zeit. wiss. Zool., v. 1, f. 2-3, pp. 103-134, t. 8-10 Leipzig.
- LUTZ, F. E. 1931. Light as a factor in controlling the start day of daily of a wren a Stingless Bees. Amer. Mus. Novit., n. 468, pp. 1-9 New York.
- MALARD, A. E. 1893. The Influence of Light on the Coloration of Crustaceans. Ann. Mag. Nat. Hist., v. 11, ser. 6, pp. 142-149 London.
- MAST, S. O. 1933. "Expansion and Contraction" of Chromatophores. Science, n. s., v. 78, n. 2028, pp. 435-436 New York.
- 1934. Movement of Pigment Granules in Chromatophores. Ibid., v. 79, n. 2046, p. 249.
- MATTHEWS, S. A. 1931. Observation on Pigment Migration within the Fish Melanophore. Journ. exp. Zool., v. 58, n. 4, pp. 471-486 Philadelphia, Pa.
- 1933. Color changes in *Fundulus* after Hypophysectomy. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole, v. 64, n. 3, pp. 315-320 Lancaster, Pa.
- MATZDORFF, C. 1883. Über die Färbung von *Idotea tricuspidata*. Jena Zeit. Naturw., v. 16, pp. 1-58, ap. PERKINS, E. B. & SNOOK, T. 1932.
- MAYER, P. 1879. Carcinologische Mittheilungen. VIII. Über Farbenwechsel bei Isopoden. Mittlg. Zool. Station Neapel, v. 1, pp. 515-522 Napolis.
- McCORD, C. P. & ALLEN, F. P. 1917. Evidences associating Pineal Gland Function with Alterations in Pigmentation. Journ. exp. Zool., v. 23, pp. 207-224 Philadelphia, Pa.
- MENKE, H. 1911. Periodische Bewegungen und ihr Zusammenhang mit Licht und Stoffwechsel. Pflüger's Arch. f. gesam. Physiol., v. 140, f. 1-4, pp. 37-91 Bonn.
- MEGUSAR, F. 1912. Experimente über den Farbwechsel der Crustaceen. I. *Gelasimus*; II. *Potamobius*; III. *Palaemonetes*; IV. *Palaemon*. Arch. Entw.-mechan., v. 33, pp. 462-665, Berlin.
- MEYER, E. 1931. Versuche über den Farbwechsel von *Gobius* und *Pleuronectes*. Zool. Jahrb., Abt. Allg. Zool. u. Physiol., v. 49, pp. 231-270 Jena.
- MILLOT, J. 1923. Influence de l'alimentation sur la pigmentation des Vertébrés inférieurs. C. R. Assoc. Anatom. 18 Réunion, pp. 361-365 Paris.
- 1929. Le pigment purique chez les Vertébrés inférieurs. Titres et Travaux scientifiques, 75 pp. Paris.
- MILLS, S. M. 1932a. The Double Innervation of Fish Melanophores. Journ. exp. Zool., v. 64, n. 1, pp. 231-244 Philadelphia, Pa.
- 1932b. Evidence for a Neurohumoral control of Fish Melanophores. Ibid., v. 64, n. 1, pp. 231-245.
- MILNE-EDWARDS, H. 1834. Note sur les changements de couleurs du Caméléon. Ann. Sci. Nat., sér. 2, Zool., v. 1, pp. 46-54 Paris.
- MINKIEWICZ, R. 1908. Étude expérimentale du synchromatisme de *Hippolyte varians*. Bull. Acad. Sci., pp. 918-929 Cracovia.

- MÜLLER, F. 1880/81. Farbenwechsel bei Krabben und Garneelen. Kosmos, v. 8, pp. 472-473. MÖLLER, A.: FRITZ MÜLLER Werke, Briefe u. Leben, v. 1, part. 2, pp. 860-861, 1915 Jena.
- 1892. O camarão miudo de Itajahy, *Atyoida potimirim*. Arch. Museu Nac., v. 8, pp. 155-178, t. 9-10, Rio de Janeiro. MÖLLER, A. Ibid. pp. 1186-1224, t. 71-72.
- MYERS, R. J. 1935. Behaviour and Morphological Changes in the Leech, *Placobdella parasitica*, during Hypodermic Insemination. Journ. Morph., v. 57, n. 2, pp. 617-648, t. 1-3 Philadelphia, Pa.
- NAVEZ, A. E. & KROPP, B. 1934. The Growth-Promoting Action of Crustacean Eye-Stalk Extract. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole, v. 67, n. 2, pp. 250-258 Lancaster, Pa.
- NOWIKOFF, M. 1934. Zur Frage des morphologischen Beziehung zwischen Sehorgan und Drüsen. Zeit. Morph. u. Ökol. Tiere, v. 29, f. 2, pp. 374-380 Berlin.
- PARKER, G. H. 1922. The Relations of the Retinal Image to Animal Reactions. Proc. Amer. Philos. Soc., v. 61, n. 2, pp. 107-116 Cambridge.
- 1930a. The color changes of the Tree Toad in Relation to Nervous and Humoral Control. Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. A., v. 16, n. 6, pp. 395-396 Washington.
- 1930b. The chromatophores. Biol. Reviews, v. 5, n. 1, pp. 59-90, Cambridge.
- 1931. Effects of Acetyl-choline on Chromatophores. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., v. 17, n. 11, pp. 596-597 Washington.
- 1932. The Movements of the Retinal Pigment. Ergeb. d. biol., v. 9, pp. 239-291 Berlin.
- 1933a. The color Changes of Elasmobranch Fishes. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., v. 19, n. 12, pp. 1038-1039 Washington.
- 1933b. Transmission of Neurohumors in Animals by others means than Blood and Lymph. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., v. 30, pp. 555-558.
- 1933c. The Cellular Transmission of Neurohumoral Substances in Melanophore Reactions. Proc. Nat. Acad. Sci., v. 19, n. 1, pp. 175-177 Washington.
- 1934a. Neurohumors as activating Agents for Fish Melanophores. Proc. Amer. Philos. Soc., v. 74, n. 3, pp. 177-184, 7 t. Cambridge.
- 1934b. Cellular transfer of substances, especially Neurohumors. Journ. Exp. Biol., v. 11, n. 1, pp. 81-88 London.
- 1934c. The Expansion and Contraction of Chromatophores. Science, N. S., v. 79, pp. 428-429 New York.
- PARKER, G. H. & LANCHNER, A. J. 1922. The Responses of *Fundulus* of white, black and Darkness. Amer. Journ. Physiol., v. 61, n. 3, pp. 548-550 Baltimore.
- PARKER, G. H. & PORTER, H. 1933. Regeneration of Chromatophore Nerves. Journ. exp. Zool., v. 66, n. 2, pp. 303-308, 1 t. Philadelphia, Pa.
- 1934. The Control of the Dermal Melanophores in the Elasmobranch Fishes. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole, v. 66, n. 1, pp. 30-37 Lancaster, Pa.
- PATANÉ, L. 1926. Ricerche sul sistema tegumentale degli Isopodi. Arch. Ital. Zool., v. 23, pp. 209-240, t. 4 Torino.
- PAULI, W. F. 1926. Versuche den physiologischen Farbenwechsel der Salamanderlarve und der Pfrille. Zeit. f. wiss. Zool., v. 128, f. 4-5, pp. 421-508 Leipzig.
- PERKINS, E. B. 1928. Color Changes in Crustaceans, especially in *Palæmonetes*. Journ. Exp. Zool., v. 50, n. 1, pp. 71-105 Philadelphia, Pa.

- PERKINS, E. B. & KROPP, B. 1932. The Crustacean Eye Hormone as a Vertebrate Melanophore Activator. *Biol. Bull. mar biol. Lab. Wood's Hole*, v. 63, n. 1, pp. 108-112 Lancaster, Pa.
- PERKINS, E. B. & SNOOK, T. 1932. The Movement of Pigment within the Chromatophores of Palæmonetes. *Journ. Exp. Zool.*, v. 61, n. 1, pp. 115-128 Philadelphia, Pa.
- PÉTERFI, T. 1928. *Methodik der Wissenschaftlichen Biologie*, v. 2, Allg. Physiol. X + 1219 pp. Berlin.
- PLATE, L. 1922. *Allgemeine Zoologie u. Abstammungslehre*. part. 1, VI + 629 pp. Jena.
- PIÉRON, H. 1913. Le mécanisme de l'adaptation chromatique et la livrée nocturne de l'*Idotea tricuspidata* Desn. *C. R. Acad. Sci. Paris*, v. 157, pp. 915-953 Paris.
- 1914. Recherches sur le comportement chromatique des Invertébrés et en particulier des Isopodes. *Bull. Sci. France et Belgique*, v. 48, pp. 30-79, t. 3 Paris.
- POUCHET, G. 1872. Sur les rapides changements de coloration provoqués expérimentalement chez les crustacés et sur les colorations bleues des poissons. *Journ. Anat. Phys.*, v. 8, pp. 401-407, Paris.
- PRENANT, A., BOUIN, P. & MAILLARD, L. 1904. *Traité d'Histologie*, v. 1, XVI + 976, pp. Paris.
- PRIEBATSCH, I. 1933. Der Einfluss des Lichtes auf Farbwechsel und Phototaxis von *Dixippus (Carausius) morosus*. *Zeit. vergl. Physiol.*, v. 19, n. 3, pp. 453-488 Berlin.
- RATHBUN, M. 1904. Some Changes in Crustacean Nomenclature. *Proc. Biol. Soc. Washington*, v. 17, pp. 169-172 Washington.
- REDFIELD, A. C. 1918. The Physiology of the Melanophores of the Horned Toad *Phrynosoma*. *Journ. exp. Zool.*, v. 26, pp. 275-333, 5 t. Philadelphia, Pa.
- REMANE, A. 1931. Farbwechsel, Farbbrassen, Farbanpassung bei der Meerassel *Idothea tricuspidata*. *Verh. deut. Zool. Gesell., Zool. Anz.* 5 Suppl., pp. 109-114 Leipzig.
- RETZIUS, G. 1890. *Biologische Untersuchungen*. Neue Folge, v. 1, 99 pp. 18 t. Stockholm.
- RICHARDSON, H. 1899. Key to the Isopods of the Pacific Coast of North America, with Description of Twenty-two new species. *Proc. U. S. Nat. Museum*, v. 21, pp. 815-869 Washington.
- 1905. Further Changes in Crustacean Nomenclature, *Proc. Biol. Soc. Washington*, v. 18, pp. 9-10 Washington.
- 1910. Isopods collected in the Northwest Pacific by the U. S. Bureau of Fisheries Steamer "Albatross" in 1906. *Proc. U. S. Nat. Mus.*, v. 37, pp. 75-129 Washington.
- ROWE, L. W. 1928. Studies on Oxytocin and Vasopressin: the Effect on Frog Melanophores, *Endocrinology*, v. 12, pp. 663-670 Los Angeles.
- van RYNBERK, G. 1906. Über den durch Chromatophoren bedingten Farbenwechsel der Tiere (sog. chromatische Hautfunktion). *Ergb. d. Physiol.*, v. 5, part. 1 e 2, *Biophys. u. Psychophys.*, pp. 347-571 Wiesbaden.
- SCHARRER, B. 1936. Über "Drüsenervenzellen" im Gehirn von *Nereis virens* Sars. *Zool. Anz.*, v. 113, n. 11-12, pp. 289-302 Leipzig.

- SCHARRER, E. 1928. Die Lichtempfindlichkeit blinder Elritzen (Untersuchungen über der Zwischenhirn der Fische I). *Zeit. vergl. Physiol.*, v. 7, n. 1, pp. 1-38 Berlin.
- 1929. Über Hell — und Dunkelstellung im Fishauge bei einseitiger Belichtung. *Ibid.*, v. 11, n. 1, pp. 104-106.
- 1930. Über sekretorisch tätige Zellen im Thalamus von *Fundulus heteroclitus* L. Untersuchungen über d. Zwischenhirn d. Fische II. *Ibid.*, v. 11, n. 4, pp. 767-773.
- 1932. Die Sekretproduktion im Zwischenhirn einiger Fische (Untersuchungen über d. Zwischenhirn d. Fische III). *Ibid.* v. 17, n. 3, pp. 491-509.
- 1933a. Ein Inkretorisches Organ im Hypothalamus der Erdkröte, *Bufo vulgaris* Laur. *Zeit. f. wiss. Zool.*, Abt. A., v. 144, f. 1, pp. 1-11, t. 1 Leipzig
- 1933b. Über neurokrine Organe der Wirbeltiere. *Verh. d. deut. Zool. Gesell., Suppl.*, v. 6, pp. 217-220 Leipzig.
- 1934. Zwischenhirndrüse und Häutung bei der Erdkröte *Bufo marinus*. *Ibid. Suppl.* V. 7, pp. 23-27.
- SCHLEIP, W. 1910. Der Farbenwechsel von *Dixippus morosus* (Phasmidae). *Zool. Jahrb. Abt. Allg. Zool. u. Physiol.*, v. 30, f. 1. pp. 45-132, t. 1-3 Jena.
- 1915. Über die Frage nach der Beteiligung des Nervensystems beim Farbenwechsel von *Dixippus*. *Ibid.*, v. 35, pp. 225-232.
- 1921. Über den Einfluss des Lichtes auf die Färbung von *Dixippus* und die Frage der Erblichkeit des erworbenen Farbkleides. *Zool. Anz.*, v. 52, pp. 151-160 Leipzig.
- SCHMIDT, W. J. 1912. Studien am Integument der Reptilien. I. Die Haut der Geckoniden. *Zeit. f. wiss. Zool.*, v. 101, f. 1-2, pp. 139-258 Leipzig.
- 1918a. Über Chromatophorenvereinigungen bei Amphibien, insbesondere bei Froschlarven. *Anat. Anz.*, v. 51, pp. 493-501 Leipzig.
- 1918b. Ueber Chromatophoren bei Insekten. *Arch. mikr. Anat.*, v. 93, Abt. 1, pp. 118-136, 5 t. Bonn.
- 1920. Über pigmentfrei Ausläufer Kerne und Centren der Melanophoren bei den Fischen. *Arch. Zellforsch.*, v. 15, f. 3, pp. 269-282, t. 14 Leipzig.
- SCHNEIDER, K. C. 1902. *Lehrbuch d. Vergleichenden Histologie d. Tiere.* XIV + 988 pp. Jena.
- SCHRÖDER, C. 1928. *Hand. d. Entomologie.*, v. 1, XII + 824 pp. Jena.
- SERRA, J. A. 1939. Estudos sobre a pigmentação melânica. *Rev. Fac. Ciências*, v. 7, n. 2, pp. 236-409 Coimbra.
- SIRENI, E. 1928. Sui cromatofori dei Cefalopodi. I Azione di alcuni veleni in vivo. *Zeit. vergl. Physiol.*, v. 8, n. 2, pp. 488-600 Berlin.
- SJÖGREN, S. 1934. Die Blutdrüse und ihre Ausbildung bei den Decapoden. *Zool., Jahrb., Abt. Anat.*, v. 58, f. 1, pp. 145-170 Jena.
- SMITH, D. C. 1928. The Effect of Temperature on the Melanophores of Fishes. *Journ. exp. Zool.*, v. 52, n. 1, pp. 183-234 Philadelphia, Pa.
- 1930. The Effects of Temperature Changes upon the Chromatophores of Crustaceans. *Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Mole*, v. 58, n. 2, pp. 193-202 Lancaster, Pa.
- 1931. The Influence of Humoral Factors upon the Melanophores of Fishes, especially *Phoxinus*. *Zeit. vergl. Physiol.*, v. 15, n. 4, pp. 613-636 Berlin.
- SMITH, H. G. 1937. The Receptive Mechanism of the Background response in Chromatic Behavior of Crustacea. *Proc. Roy. Soc. B.* 839, v. 125, pp. 250-263, t. 12 London.

- SMITH, P. E. 1916. The Effect of Hypophysectomy in the Early Embryo upon the Growth and Development of the Frog. *Anat. Rec.*, v. 11, n. 3, pp. 57-64 Philadelphia, Pa.
- SPAETH R. A. 1913. The Mechanism of the Contraction in the Melanophores of Fishes. *Anat. Anz.*, v. 44, n. 20-21, pp. 520-524 Jena.
- 1916. The responses of single Melanophores to electrical stimulation. *Amer. Journ. Physiol.*, v. 41, pp. 577-596 Baltimore.
- SPAETH R. A. & BARBOUR, H. G. 1917. The Action of Epinephrin and Ergotoxin upon single, physiological isolated cells. *Journ. Pharm. Exp. Therapeutics*, v. 9, pp. 431-440 Baltimore.
- SPEIDEL, C. G. 1922. Further Comparative Studies in other Fishes of Cells that are Homologous to the large irregular glandular Cells in the Spinal Cord of the Skates. *Journ. Comp. Neurol.*, v. 34, n. 3, pp. 303-312, t. 1-2 Philadelphia, Pa.
- STEPHENSON, E. M. 1932. Colour Changes in Crustacea. *Nature*, v. 130, p. 391 London.
- 1934. Control of Chromatophores in *Leander serratus*. *Ibid.*, v. 133, pp. 912-913.
- STOCKARD, C. R. 1915. A Study of Wandering Mesenchymal Cells on the Living Yolk-Sac and their Developmental Products: Chromatophores, Vascular Endothelium and Blood Cells. *Amer. Journ. Anat.*, v. 18, n. 3, pp. 525-594 Philadelphia, Pa.
- STROUHAL, H. 1938. Oniscoidea Peloponnesi. *Acta Inst. Mus. Zool. Univ. Athen.*, v. 2, f. 1-2, pp. 1-56 Athenas
- SUMNER, F. B. 1933a. Why Do We Persist in Talking about the "Expansion" and "Contraction" of Chromatophores? *Science, N. S.*, v. 78, n. 2022, pp. 283-284 New York.
- 1933b. The Differing Effects of Different Parts of the visual Field upon the Chromatophore Responses of Fishes. *Biol. Bull. mar. biol. Lab. Wood's Hole*, v. 65, n. 2, pp. 266-282 Lancaster, Pa.
- 1934. What are "Expansion" and "Contraction"? *Science, N. S.*, v. 79, n. 2026, p. 11 New York.
- TAIT, J. 1910. Colour change in the Isopoda, *Ligia oceanica*. *Journ. Physiol.*, v. 40, pp. 1-2 Cambridge.
- VANDEL, A. 1939. Sur la Répartition en France de Trois Isopodes Terrestres (Crustacés). *Arch. Zool. expér. et gén.*, v. 80, Notes et Revue, n. 3, pp. 125-135 Paris.
- VEIL, C. 1938. Action simultanée de l'adrénaline et de l'intermédine sur les mélanophores de la Carpe. *C. R. Soc. Biol.*, v. 127, n. 1, pp. 44-46 Paris.
- VERHOEFF, K. W. 1928. Über einige Isopoden der zoologischen Staatssammlung in München. *Zool. Anz.*, v. 76, pp. 113-123 Leipzig.
- VERNE, J. 1921. Sur les différents faciès des Métabolismes pigmentaires dans les téguments des Crustacés Décapodes. — Un procédé de conservation des couleurs dans la carapace des Crustacés Décapodes, déduit de l'étude histochimique des pigments. *Bull. Soc. Zool. d. France*, v. 46, pp. 58-65 Paris.
- 1923. Essai Histochimique sur les Pigments Tégumentaires des Crustacés Décapodes. *Arch. Morph. gén. expér.*, f. 16, VIII + 168 pp., 2 t. Paris.
- 1926. Les pigments dans l'organisme animal. XV + 603 pp. Paris.

- WAGNER, R. 1841. Ueber die merkwürdige Bewegung der Farbenzellen (Chromatophoren) der Cephalopoden und eine muthmasslich neue Reihe von Bewegungs-phanomenen in der organischen Natur. WIEGMANN Arch. f. Naturgesch., Jahrgs. 7, v. 1, pp. 35-38 Berlin.
- WARING H. 1936a. Colour Changes in the Dogfish. (*Scyllium canicula*). Proc. Trans. Liverpool Biol. Soc., v. 49, pp. 17-64, t. 1-4 Liverpool.
- 1936. A preliminary study of the Melanophore expanding Potency of the Pituitary Gland in the Frog and Dogfish. *Ibid.*, v. 49, pp. 65-86.
- 1938. Chromatic behaviour of Elasmobranchs. Proc. Roy. Soc., v. 125, pp. 264-282, t. 13 London.
- WEBER, H. 1935. Lehrbuch d. Entomologie. XII + 726 pp. Jena.
- WEBER, M. 1881. Anatomisches über Trichonisciden, Zugleich ein Beitrag zur Frage nach der Bedeutung der Chromatophoren, Pigmente und verzweigten Zellen der Haut decke. Arch. mikr. Anat., v. 19, pp. 579-648 Bonn, Berlin.
- WEBER, R. 1923. Die Chromatophoren von *Limax agrestis* L. Zool. Jahrb., Abt. Allg. Zool. u. Physiol., v. 40, pp. 240-292 Jena.
- WELSH, J. H. 1930. The Mechanics of Migration of the distal Pigment Cells in the Eyes of Palaemonetes. Journ. exp. Zool., v. 56, n. 4, pp. 459-487, t. 1-3. Philadelphia, Pa.
- v. d. WENSE, T. F. 1938. Wirkungen und Vorkommen von Hormonen bei Wirbellosen Tieren. Zwag. Abh. a. d. Gebiete d. Inn. Sekret., v. 4, VII + 80 pp. Leipzig.
- WILLRICH, U. 1931. Beiträge zur Kenntnis der Lichtkompassbewegungen und der Farbensinnes der Insekten. Zool. Jahrb., Abt. allg. Zool. u. Physiol., v. 49, n.º 2, pp. 157-204 Jena.
- WYMANN, L. C. 1924. The Reactions of the Melanophores of Embryonic and Larval *Fundulus* to certain chemical Substances. Journ. exp. Zool., v. 40, n. 1, pp. 161-180 Philadelphia, Pa.
- YAMAMOTO, T. 1933. Pulsations of Melanophores in the Isolated Scales of *Oryzias latipes* caused by the Increase of the Ion Quocient Cna/Cca. Journ. Fac. Sci. Imper. Univ., Sec. 4., v. 3, part. 2, pp. 119-128 Tokyo.
- ZIMMERMANN, K. W. 1893. Über die Kontraktion der Pigmentzellen der Knochenfische. Verh. d. Anat. Gesell., Anat. Anz. v. 8, pp. 76-78 Jena.
- ZONDEK, B. 1935. Chromatophoretropic principle of the Pars Intermedia of the Pituitary. Journ. Amer. Med. Assoc., v. 104, n. 8, pp. 637-638 Chicago.
- ZONDEK, B. & KROHN, H. 1932a. Hormon des Zwischenlappens der Hypophyse II. Intermedin im Organismus (Hypophyse, Gehirn). Klin. Woch., Jahrg. 11, pp. 849-853 Berlin, Wien, München.
- 1932b. Hormon des Zwischenlappens der Hypophyse. 3. Zur Chemie, Darstellung und Biologie des Intermedins. *Ibid.*, n. 11, pp. 1293-1298.