



MANUAL DE TÉCNICAS
PARA A PREPARAÇÃO DE
COLEÇÕES ZOOLOGICAS

30. SIPUNCULA

A.S.F. DITADI
A.E. MIGOTTO

Campinas, SP
1987

MANUAL DE TÉCNICAS PARA A PREPARAÇÃO DE
COLEÇÕES ZOOLOGICAS

Campinas, SP

1987

30. SIPUNCULA

A. S. F. DITADI

A. E. MIGOTTO

LOCAIS E MÉTODOS DE COLETA

Os sipúnculos são invertebrados bentônicos exclusivamente marinhos, que vivem em locais bem protegidos de todos os oceanos. A distribuição batimétrica desses animais é ampla: desde a região entremarés até profundidades ao redor dos 8.500 metros. Em costões rochosos, sujeitos ao impacto das ondas, os sipúnculos encontram-se sob os talos de algas e por entre os filamentos bis-sais de mexilhões (*Perna*). Em praias rochosas e protegidas, encontraremos estes vermes também sob algas, além de sob tunicados solitários (*Ascidia*), sob colônias de briozoários (*Schizoporella*), dentro de esponjas, sob pedras, entre fendas rochosas ou galerias escavadas na rocha pelos próprios vermes.

Em praias de fundo mole, os sipúnculos podem ser coletados entre raízes de fanerógamas e na mistura de cascalho, lama e areia, sempre em galerias semelhantes àquelas construídas pelas minhocas terrestres.

Do limite inferior da maré baixa até profundidades atingíveis por mergulho apnéico, qualquer situação protetora é passível de alojar esses invertebrados. Além das associações já mencionadas, é notória a presença de sipúnculos como inquilinos de tubos de *Cerianthus* e de poliquetos.

Para coletas em profundidades não atingíveis por mergulhos autônomos, a tecnologia torna-se excessivamente dispendiosa, dada a necessidade de embarcação, guinchos, dragas, pegadores de fundo e elemento humano qualificado para executar uma triagem a bordo, e, o presente manual não visa esse segmento do ambiente marinho.

A. Praias de Fundo mole (areia, lodo, cascalho):

Para a coleta de sipúnculos habitantes de substrato não consolidado, dirija-se a praias protegidas, de preferência em forma de baía e com declive suave. A melhor época para esse tipo de coleta é aquela das marés baixas diurnas: no Brasil, esse período estende-se, aproximadamente, de abril a outubro.

Uma praia com as características mencionadas acima pode apresentar uma quantidade muito grande de "perfurações", que correspondem às entradas e/ou saídas das galerias de animais cavadores: as galerias de sipúnculos apresentam um ou dois orifícios para a superfície da praia, sendo de 0,5 centímetros o diâmetro médio desses orifícios. Diferenciam-se das aberturas das galerias de crustáceos e/ou dos orifícios por onde passam os sifões dos moluscos bivalvos, porque os sipúnculos não esguicham água através destes orifícios. Desta forma, ao se localizar na praia orifícios que correspondam a esta descrição geral, cava-se à procura dos animais. É preciso ressaltar, no entanto, que a localização de uma galeria de sipúnculo não é uma fácil tarefa, pois depende muito do treino de observação. Nesse tipo de habitat encontraremos, com relativa frequência, vermes com 15 ou mais centímetros de comprimento. A coleta, nesse ambiente particular, faz-se com o auxílio de uma pá reta.

A pá deve ser introduzida rapidamente na areia, a uns 15 centímetros de distância do "furo" e com a lâmina em posição quase vertical em relação à superfície da praia: imediatamente, faz-se alavanca no cabo da pá a fim de, eventualmente, desenterrar o sipúnculo. Visto que não é possível detectar a direção da galeria a partir da simples observação do orifício de entrada, algumas vezes o animal é cortado durante este procedimento de coleta: outras vezes consegue-se visualizar a galeria por onde o animal está escapando: se assim for, cava-se rapidamente segundo esta pista, e, como resultado, consegue-se geralmente coletar exemplares que não foram apreendidos na primeira "pazada". A profundidade média de localização das galerias dos sipúnculos (*Sipunculus*, *Xenosiphon* e *Siphonosoma*) é de cerca de 40 centímetros, porém não é raro ter-se que cavar até 80 centímetros de profundidade para extrair um exemplar.

B. Substrato consolidado (coralo, recifes arenosos):

A mesma pá reta ou uma espátula metálica reforçada podem ser empregadas para raspar uma "cobertura de mexilhões" (*Perna*). A seguir, separe com cuidado os mexilhões e colete os sipúnculos (*Golfingia*, *Phascolosoma* e *Themiste*) entre os filamentos bigais dos bivalvos. Este substrato fornece animais com um tamanho médio de 1 centímetro de comprimento.

Para extrair exemplares de recifes de areia (colônias de poliquetos do gênero *Phragmatopoma*), colete alguns blocos de tubos arenosos e vá desagregando-os com o auxílio de uma espátula. Nesse habitat consegue-se coletar espécies pequenas (2-3 centímetros de comprimento) de *Golfingia* e *Phascolosoma*.

Os recifes coralinos são locais apropriados para o encontro de vermes dos gêneros *Aspidosiphon*, *Lithacrosiphon*, *Golfingia*, *Phascolion* e *Themiste*. A extração dos sipúnculos desse substrato biogênico faz-se com o auxílio de martelo e talhadeira. As espécies que constroem galerias no coralo são geralmente pequenas (1-2 centímetros de comprimento) e mais raramente médias (5 centímetros de comprimento). Localize um bloco de coral morto (não destrua os corais vivos) com rica fauna incrustante. Quanto mais antigo e povoado (externamente) mais variada será a fauna de sipúnculos que se poderá encontrar no seu interior.

Os sipúnculos que vivem em galerias permanentes (*Aspidosiphon*, *Lithacrosiphon*) não se restringem a rochas calcárias biogênicas: eles já foram encontrados em rochas sedimentares argilosas e até mesmo em galerias escavadas em basalto.

As larvas de sipúnculos (pelagosferas) são muito comuns tanto em mares costeiros quanto em oceano aberto, desde a superfície da água até algumas centenas de metros de profundidade. A ocorrência no plâncton dessa fase do desenvolvimento dos sipúnculos é

notória de dezembro a março, nas águas costeiras superficiais do sul do Brasil. Para a coleta destas larvas, utilize uma rede de plâncton com cerca de 250 micrômetros de malha. Neste tipo de coleta, arraste lentamente a rede durante 10-15 minutos. Se a profundidade local estiver entre 3 e 10 metros, puxe a rede entre 1-3 metros da superfície. Essa observação é especialmente válida para mares costeiros cujas praias sejam costões rochosos: a finalidade desse alerta é prevenir danos na rede de plâncton. Se a coleta for feita em mar aberto e com o auxílio de barco equipado com motor de popa (ou de centro), utilize a mais baixa velocidade de deslocamento do barco: no caso de coleta motorizada é bem provável que seja necessário colocar um peso na boca da rede a fim de que ela não sobressaia da água.

TRANSPORTE E MANUTENÇÃO

Espécies grandes de sipúnculos são muito difíceis de manter por períodos superiores a 20 dias, em aquários não equipados com sistema de água do mar corrente. Se os espécimens se destinarem a experimentos agudos de fisiologia, podem ser mantidos satisfatoriamente por 1-2 dias em recipientes com água do mar e na geladeira (gaveta dos vegetais). Por outro lado, animais de pequeno porte (até 3 centímetros de comprimento) suportam bem o confinamento em aquários. O método de manutenção descrito a seguir é baseado em experimentos com animais de 0,5 a 3,0 centímetros de comprimento.

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

- a. deixar os animais em jejum, pelo menos 24 horas, antes de acondicioná-los para viagem.
- b. colocar cada grupo de 2-3 animais em vidros ou frascos plásticos (não usar sacos plásticos) cuja cubagem seja igual ou maior do que 20 vezes o volume dos sipúnculos.
- c. adicionar água do mar filtrada e recentemente coletada, até completar o volume remanescente dos frascos.
- d. embrulhar os vidros em papel e acondicioná-los numa caixa de isopor.
- e. adicionar alguns cubos de gelo, para manter a temperatura no interior da caixa a uns 5-8°C abaixo da temperatura ambiente. Este detalhe é muito importante quando se trabalha nos meses de verão; entretanto, tenha cuidado para não baixar demais a temperatura no interior da caixa, pois o choque térmico pode induzir à liberação de óvulos ou espermatozóides nesses animais. Se isso ocorrer durante a viagem corre-se o risco de perder todo o material.

Se não houver possibilidade de submeter os animais ao jejum prescrito, coloque então apenas um animal em cada vidro. Com estes cuidados os animais deverão estar vivos mesmo após uma viagem de dois dias.

Um aquário de 15-20 litros de cubagem é suficiente para alojar uns 50 animais pequenos. O fundo do aquário deve conter uma camada de cerca de 3 centímetros de espessura de uma mistura de areia grossa e pedaços de conchas de moluscos (pedaços não maiores do que 0,5 centímetros de diâmetro). Lave inúmeras vezes, com água doce, a areia grossa e o cascalho de conchas. Depois dessa etapa, adicione uma porção de lodo fino do local de coleta dos animais: essa camada de lodo não deve ser superior a 1/10 do volume da mis-

tura de areia e conchas. Cuidar, na seleção dos animais, para que nenhum deles apresente o menor ferimento, pois um sipúnculo morto determinará a rápida contaminação do aquário e a morte dos demais vermes. A água do mar não precisa ser trocada, sendo as perdas por evaporação compensadas com adição de igual volume de água destilada. Com este tratamento consegue-se manter os animais por muitos meses. O aquário deve permanecer em local de fraca iluminação e o arejamento far-se-á com o auxílio de uma pequena bomba de ar, própria para aquários caseiros, podendo ser desligada à noite.

Quando se deseja manter várias espécies ao mesmo tempo, é possível construir vários pequenos aquários nos moldes desse descrito acima, separando as diferentes espécies em recipientes diferentes. Uma vez prontos, submergem-se os pequenos aquários (de cerca de 300 ml de cubagem, cada) no aquário maior. A espessura da camada de areia e cacos de conchas, nos pequenos aquários, pode ser igual a 1/3 ou 1/4 daquela sugerida para o aquário maior. Uma vez a cada dois meses adicionar ao aquário uma amostra de cerca de 50 ml de plâncton.

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

ANESTESIA

Os sipúnculos são vermes muito contráteis; daí a necessidade de anestesiá-los muito bem antes do processo de fixação. Os espécimens grandes são muito resistentes a anestésicos e portanto os resultados nem sempre são ideais. Uma profunda narcose pode ser conseguida pelo emprego simultâneo de dois ou mais anestésicos. Não há necessidade de se manter o sipúnculo em ambiente escurecido antes e/ou durante a anestesia. Os tempos de anestesia variam de 3-5 minutos a mais de 36 horas e dependem, entre outras variáveis, do próprio anestésico, do tamanho dos animais e do estado fisiológico dos mesmos: os tempos variam, também, de indivíduo para indivíduo de uma mesma espécie. Indicamos a seguir alguns anestésicos, cujos efeitos narcotizantes sobre os sipúnculos são positivos.

- Colocar o animal numa solução de 7-10% de álcool etílico em água do mar. Em resposta a este tratamento o animal distende-se bem e a musculatura relaxa. Os órgãos internos, inclusive os cílios, permanecem em atividade por várias horas. Recomendado para animais grandes. Uma variação deste anestésico, indicada para espécimens pequenos, é gotejar álcool 70-95% pouco a pouco na água que contém o animal. Goteje o álcool até obter uma concentração final de cerca de 10%.

- Adicione, pouco a pouco, no recipiente que contém o animal, uma solução saturada de clorofórmio em água do mar. O clorofórmio pode ser gotejado puro: nesse caso, mantenha a ponta da pipeta mergulhada na água que cobre o animal.

- Imergir o animal na seguinte solução:

Solução aquosa 7,5% de cloreto de magnésio ou de sulfato de magnésio

..... 1 parte

Água do mar

..... 1 parte

- Espalhar cristais de mentol sobre a água que cobre o animal. Para agilizar o processo pode-se triturar (em almofariz) o mentol. Excelente para espécimens pequenos, porém, não deixe o exemplar permanecer aí por muito tempo depois de anestesiado, pois o mentol tende a macerar os espécimens.

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

- Solução saturada de cloretana em água do mar. Excelente para larvas e pequenos espécimens.

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

- Óleo de cravo: depositar algumas gotas de óleo de cravo no recipiente que contém o animal: este anestésico age com bastante rapidez, mas às vezes pode induzir contrações localizadas no verme. Outras vezes o óleo de cravo deixa o animal aparentemente narcotizado, porém quando o espécimen é levado ao líquido fixador, contrai-se violentamente. Sugere-se o uso simultâneo de óleo de cravo e gotejamento com álcool.

- Benzocaína: adicione diretamente à água que contém o verme.

- Nicotina: deixe alguns cigarros em água ou álcool durante uma noite. Use o líquido escuro obtido como anestésico. Utilize a técnica do gotejamento.

- Na ausência total de substâncias químicas que possam ser usadas como anestésicos, pode-se lançar mão de água do mar de provida de oxigênio (fervida e resfriada). Para aumentar a eficiência do processo, coloque no recipiente que contém o animal alguns pedaços do tubo digestivo de holotúria. A putrefação da água exaure rapidamente o oxigênio nela dissolvido, levando o animal a um estado comatoso devido à anóxia.

FIXAÇÃO

Depois de bem narcotizado, fixar o sipúnculo em um dos seguintes líquidos.

- Álcool 80%, trocado anualmente.

- Formol 5-10% em água do mar ou de torneira.

- Água do mar formolizada:

água do mar filtrada 450 ml

água destilada (ou de torneira) 400 ml

formol puro (comercial) 150 ml

Este fixador tem a propriedade de preservar muito bem os animais, com a vantagem de não endurecê-los, o que é muito desejável quando se coletam espécimens para futuras disseções.

- FAA (formol - álcool - ácido acético):

formol puro (comercial) 100 ml

álcool 95% 500 ml

ácido acético 20 ml

água destilada (ou de torneira) 400 ml

Qualquer que seja o fixador escolhido, injete alguns milímetros do mesmo na cavidade celomática do sipúnculo (escolher uma agulha adequada ao tamanho do animal), mantendo uma certa pressão no êmbolo da seringa. A quantidade injetada deverá ser suficiente para produzir uma considerável turgescência no animal, incluindo a expansão dos tentáculos. Se o líquido fixador estiver aquecido (cerca de 60°C), a fixação será mais rápida e os resultados geralmente bem melhores. Manter a pressão no êmbolo constante durante uns 5 minutos. Indivíduos pequenos demais para sofrer este processo devem ser anestesiados e lançados diretamente ao fixador.

Na etiqueta, contendo o nome científico do material, ano

te também os dados de coleta dos animais, tais como: data, localidade, tipo de substrato, nome do coletor e demais observações que puder fazer, tais como: nível de maré no momento da coleta, temperatura da água, salinidade, método de coleta, cor do exemplar, dimensões, estado de maturação das gônadas, reações particulares dos animais, presença de parasitas e/ou epibiontes, etc.

REFERÊNCIAS

- Ditadi, A. S. F. & Migotto, A. E. 1982. *O filo Sipuncula: guia para coleta, identificação e manutenção em laboratório*. Brasília, CNPq. CED. 44p. ilustr.
- Knudsen, J. W. 1966. *Biological Techniques*. Harper & Row Publs. Nova Iorque. 525p.
- Mahoney, R. 1973. *Laboratory Techniques in Zoology*. Butter worth & Co. Publs. Ltd. Londres. 518p.
- Pantin, C. F. A. 1964. *Notes on Microscopical Techniques for Zoologists*. Cambridge Univ. Press. Londres. 76p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOLOGIA

MANUAL DE TÉCNICAS PARA A PREPARAÇÃO DE COLEÇÕES ZOOLOGICAS

LISTA DE FASCÍCULOS

1. Generalidades*
2. Esponjas marinhas*
3. Esponjas de água doce*
4. Cnidaria
5. Ctenophora*
6. Gnathostomulida*
7. Plathelminthes (Turbellaria)*
8. Platelmintos (Temnocefálidos, Trematódeos, Cestóides, Cestodários) e Acantocéfalos*
9. Nemertinea (Rhynchocoela)*
10. Rotifera*
11. Gastrotricha*
12. Cephalorhyncha (Priapulida, Nematomorpha e Kinorhyncha)
13. Nematoda
14. Entoprocta e Ectoprocta (Bryozoa)
15. Annelida (Polychaeta)*
16. Annelida (Oligochaeta)
17. Annelida (Hirudinea)
18. Tardigrada*
19. Echiura*
20. Onychophora
21. Pentastomida (Linguatulida)
22. Pantopoda*
23. Arachnida (Scorpionida, Solifugae, Pseudoscorpiones, Ricinulei, Opiliones, Palpigradi, Uropygi, Amblypygi, Araneae)
24. Acari
25. Crustacea
26. Myriapoda (Chilopoda, Symphyla, Pauropoda, Diplopoda)
27. Insetos imaturos*
28. Insetos
29. Mollusca
30. Sipuncula*
31. Phoronida*
32. Brachiopoda
33. Chaetognatha
34. Echinodermata*
35. Hemichordata, Urochordata e Cephalochordata*
36. Peixes*
37. Anfíbios
38. Répteis*
39. Aves
40. Mamíferos

* Já publicados.