

DESENVOLVIMENTO LARVÁRIO DE BALANÍDEOS EM LABORATÓRIO — *BALANUS AMPHITRITE* (*VAR. AMPHITRITE*) * ¹

DYRCE LACOMBE e WANDA MONTEIRO

Instituto Oswaldo Cruz e Instituto de Pesquisas da Marinha
(com 66 figuras)

SUMÁRIO: É descrita a técnica de criação de *Balanus amphitrite* var. *amphitrite* em laboratório, sob condições controladas, que permitem observações das mudas, do número de estágios e, ainda são apresentadas as características de cada estágio.

Balanus amphitrite amphitrite é criado pela primeira vez em laboratório com sucesso. Dos 200 Nauplii obtidos da eclosão dos ovos das lamelas dos adultos, conseguiu-se a fixação de 120 Cypris e o crescimento de 78 *Balanus* pelo período de tres meses. A alimentação usada foi *Cyclotella nana*, proveniente do New York Aquarium.

A fase larvária de *Balanus amphitrite amphitrite* consiste de seis estágios de Nauplii e um estágio de Cypris. A disposição, forma, tamanho, número de setas, sétulas e espinhos diferem entre os 6 estágios. São apresentados todos os detalhes de microanatomia de cada estágio.

A setação é critério valioso para a identificação dos Nauplii e pode ser usada para separar certos estágios especiais.

A duração dos seis estágios é a seguinte: o primeiro estágio leva, aproximadamente, de 15 a 20 minutos; 2.º estágio de 2 até 4 dias a partir do nascimento dos Nauplii; 3.º estágio vai até ao 6.º dia; 4.º estágio é encontrado a partir do 7.º dia de eclosão; 5.º estágio varia entre o 9.º ao 11.º dia e, finalmente, o 6.º estágio até o aparecimento do Cypris que se faz no 12.º dia de criação.

O tempo necessário para o completo desenvolvimento larvário em laboratório estende-se de 12 até 14 dias, aproximadamente.

O estudo da metamorfose do Cypris, e o crescimento dos Balanídeos foi realizado por um período de tres meses no frasco de criação.

ENCONTRAMOS na literatura muitos trabalhos referentes à criação de Balanídeos em laboratório. Já em 1894, **Groen** obteve Nauplii de *Balanus perforatus* no laboratório até ao 2.º es-

tágio. **Hertz** (1933) conseguiu, após várias tentativas, a criação das oito fases de desenvolvimento larvário de *Balanus crenatus*, partindo de ovos obtidos das lamelas ovígeras. O referido

¹ Recebido para publicação a 13 de abril de 1972.

* Trabalho feito com parcial auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

autor descreve, então, a morfologia dos Nauplii até a fase de Cypris. **Bassindale** (1936) obteve êxito parcial na criação de *Balanus balanoides*, *Verruca stroemia* e *Chthamalus stellatus*. Alimentando os Nauplii com cultura de *Nitzschia*, este autor criou, *Balanus balanoides* até o 5.º estágio de Nauplii, sendo que o 6.º estágio e o Cypris foram apanhados em amostras de plâncton. *Verruca stroemia* foi criada até Cypris e *Chthamalus stellatus* até o 6.º estágio. Entretanto, a maior importância deste trabalho de **Bassindale**, consiste na introdução de um sistema de fórmula para setação, nas formas larvárias de Cirripédios. Esta, vem sendo empregada por todos os pesquisadores que se dedicam à criação ou estudo de formas larvárias.

Treat (1937) conseguiu criar em laboratório até a 3.ª fase larvária, *Balanus balanoides*.

Muitos autores prosseguiram com a criação de Balanídeos, variando o meio de alimentação, temperatura, salinidade, pH, etc...

Hudinaga e Kasahara (1941) obtiveram todos os estágios larvários de *Balanus amphitrite* var. *hawaiiensis*, entretanto, não tiveram êxito na criação de *Tetraclita squamosa*. **Jones e Crisp** (1954) estudaram o desenvolvimento de *Balanus improvisus* coletando, porém, todos os estágios em amostras de plâncton, e não criando em laboratório. Neste mesmo ano, **Sandison** (1954) tentou a criação de larvas de *Balanus algicola*, *Balanus amphitrite denticulata*, *Balanus maxillaris*, *Balanus trigonus*, *Chthamalus dentatus*, *Octomeris angulosa* e *Tetraclita serrata*, chegando ao 3.º estágio.

Costlow e Bookhout (1957), controlando a temperatura e salinidade, e usando *Chlamydomonas* sp., e mais larvas de *Arbacia*, como alimento para as larvas, obtiveram com êxito total, a criação em laboratório de todas as fases larvárias de *Balanus eburneus*. Ainda, estes mesmos autores, no ano seguinte (1958), repetem o mesmo êxito durante a criação larvária de *Balanus amphitrite* var. *denticulata*. **Barnes e Barnes** (1959) conseguiram criar até o 3.º estágio, larvas de *Balanus nubilis*, sendo as restantes fases coletadas, diretamente, de amostragem de plâncton. O Cypris não é descrito pelos autores. Neste mesmo ano, ainda estes autores descrevem, até o 3.º estágio, larvas de *Balanus hesperius*.

O problema da alimentação dos Nauplii em criação no laboratório é de grande importância, e foi alvo de estudos por parte de **Wisely** (1960) durante sua criação de *Elyminius modestus*. **Moyse** (1960 e 1961), embora com alto grau de mortalidade em sua criação, obteve todas as fases de Nauplii de *Elyminius modestus* até a fase de Cypris, repetindo o êxito de **Wisely**. Em 1961, **Moyse** descreve a criação de *Acasta spongites* e *Pyrgoma anglicum*.

Barnes e Costlow (1961), também obtiveram as seis fases larvárias de *Balanus balanus* em laboratório, usando como alimento, a mistura de algas *Skeletonema costatum*, *Biddulphia regia*, *Ditylum brightwellii* e *Phaeodactylum cornutum*. Em 1962, **Crisp** conseguiu criar até a 4.ª fase, Nauplii de *Balanus hameri*, a partir do 1.º estágio obtido no plâncton, e, ainda, até a 3.ª fase de *Balanus balanoides*. Da 4.ª fase até Cypris, o autor fez coletas em plâncton.

Em 1965, Freiburger publica o método de cultura e criação de *Balanus eburneus*, *Balanus amphitrite*, *Balanus trigonus* e *Balanus improvisus*, mostrando, através de excelentes fotografias, as diferentes fases de Nauplii das espécies acima citadas. Além disto, introduz *Cyclotella nana* na alimentação dos Nauplii com grande êxito, alcançando todas as fases larvárias, inclusive Cypris, das espécies estudadas.

MATERIAL E MÉTODOS

A espécie *Balanus amphitrite* var. *amphitrite*, foi selecionada para o início de nossos estudos, sobre o desenvolvimento de Cirripédios da costa brasileira em laboratório, por constituir um dos mais frequentes balanídeos de nossa Baía de Guanabara. No domínio, aproximado, de 70% sobre as demais espécies encontradas, (*Balanus tintinnabulum*, *Balanus eburneus*, *Chthamalus stellatus* etc.) os *Balanus amphitrite*, são os responsáveis pelos imensos prejuízos que causam às pequenas e grandes embarcações, estacas, pilastras, cabos submersos e muitos outros materiais. Por serem de grande resistência às impurezas, à variedade de temperatura e à salinidade, e, com uma proliferação acentuada, vão se incrustando em diferentes substratos e causando corrosão e prejuízos aos lugares onde se cimentam.

O roteiro aplicado no presente estudo foi o seguinte: coletamos *Balanus amphitrite* nas estacas ou nos degraus da Estação Rádio da Marinha, na Ilha do Governador, Guanabara. No laboratório, retiramos suas lamelas ovígeras, colocando-as em placas de Petri, onde foram separadas de acordo com as fases em que os embriões se encontravam (fig. 1).

As lamelas claras são formadas por embriões em formação (fig. 2), enquanto que, as lamelas escuras, possuem embriões bem desenvolvidos (fig. 3, 4, e 5). Após cui-

dadosa lavagem com água do mar autoclavada, as lamelas foram colocadas em *beckers* de 1 ou 2 litros, contendo água do mar filtrada e autoclavada, em um total de 8 lamelas por frasco. A seguir, os *beckers* foram cobertos com sacos plásticos e guardados à temperatura ambiente.

Diariamente foram examinados. Os embriões prestes a eclodirem, mostram todos os seus apêndices (figs. 6 e 7). Por ocasião da eclosão dos embriões, os Nauplii, com seus apêndices livres, dominam todo o recipiente (fig. 8). Seus movimentos aumentam, gradativamente, com a distensão das antênulas, antenas e mandíbulas (fig. 9). Neste período, com auxílio de um foco de luz (fig. 10), concentramos os Nauplii recém-nascidos (fig. 11) e, pipetamo-los em n.º de 200 indivíduos para um novo *becker*, contendo igual quantidade de água do mar, em idênticas condições anteriores e, donde adicionamos 5 ml de cultura da alga *Cyclotella nana*.

Todos os dias, os Nauplii foram observados, desenhados, fotografados e, alguns fixados, para estudos posteriores de histologia e histoquímica.

Os fixadores mais empregados foram: o líquido de Bouin original; Carnoy, Formol-Cálcio, Susa e Flemming. Os desenhos e medidas foram feitos com auxílio de câmara clara do microscópio "Orthoplan" Leitz. Os detalhes foram observados com luz polarizada ou através de simples colorações totais. As fotografias foram feitas no "Orthomat", adaptado ao referido microscópio.

Os seguintes cuidados foram observados, e que acreditamos serem os responsáveis pelo êxito de nossa criação:

- 1) Troca diária dos Nauplii para outro *becker* esterilizado;
- 2) Adição de nova água do mar, autoclavada;
- 3) Adição de cultura de *Cyclotella nana*;
- 4) Controle da cultura pura de *Cyclotella nana*, para não ocasionar contaminação na criação.

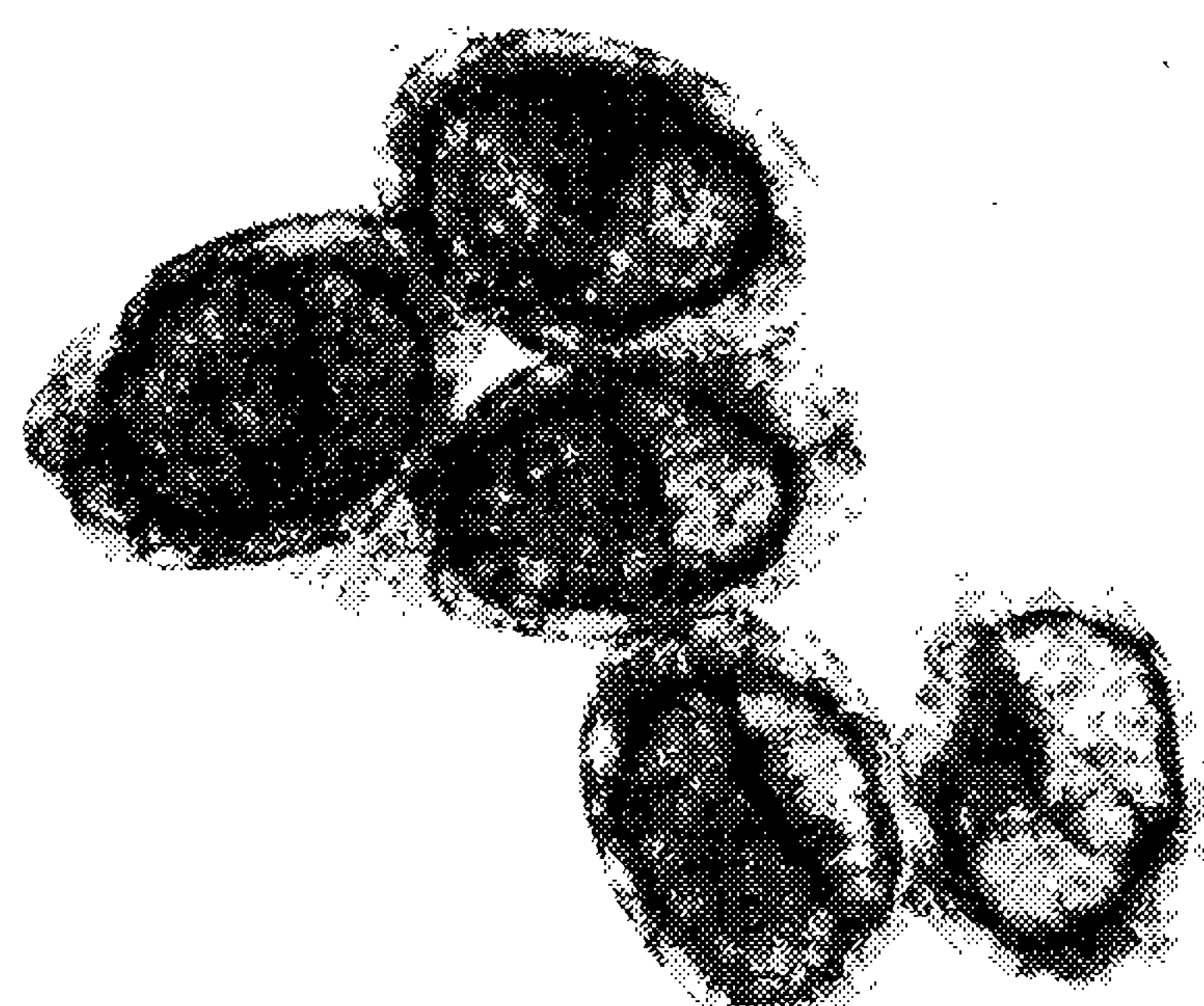
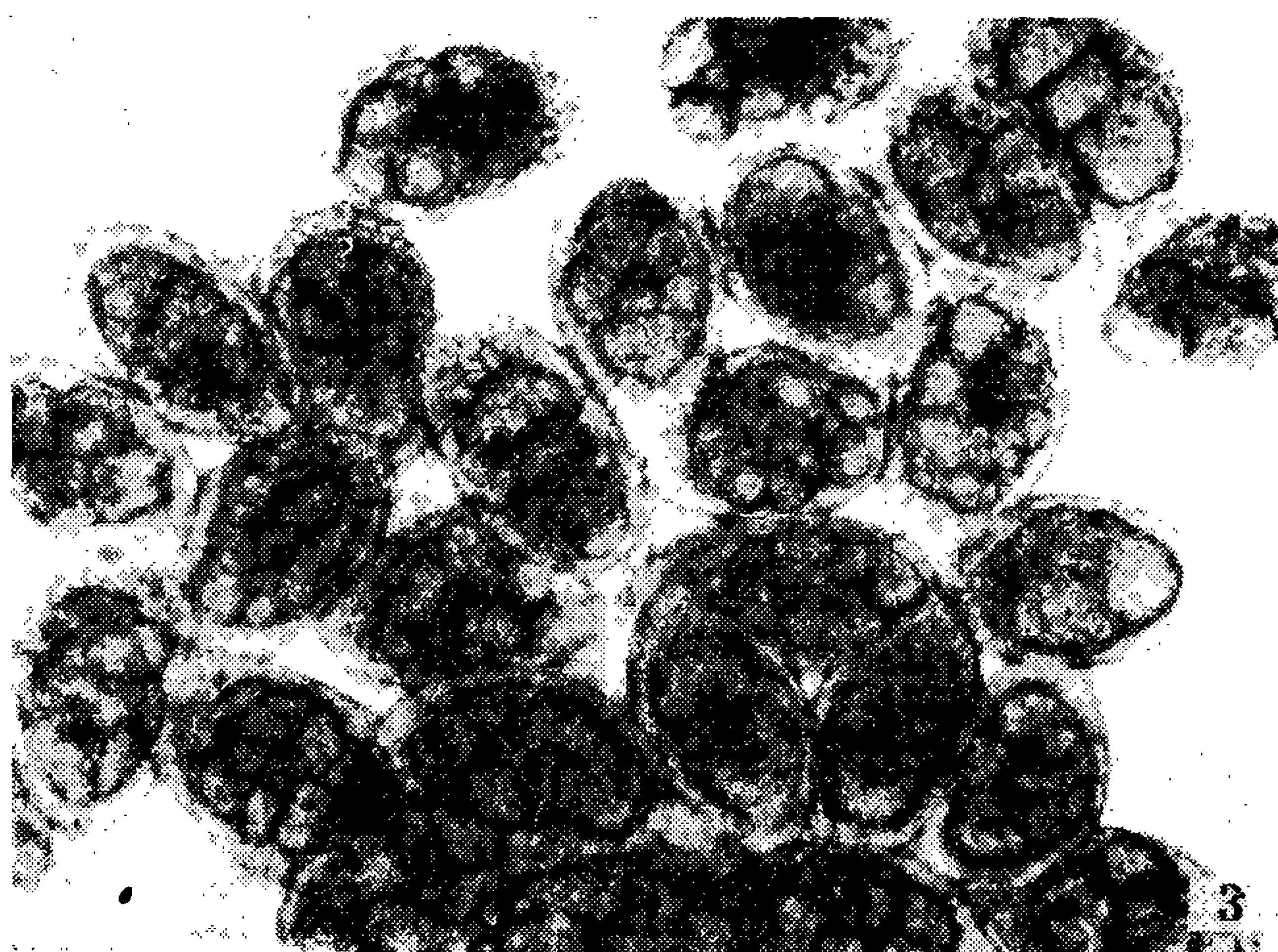
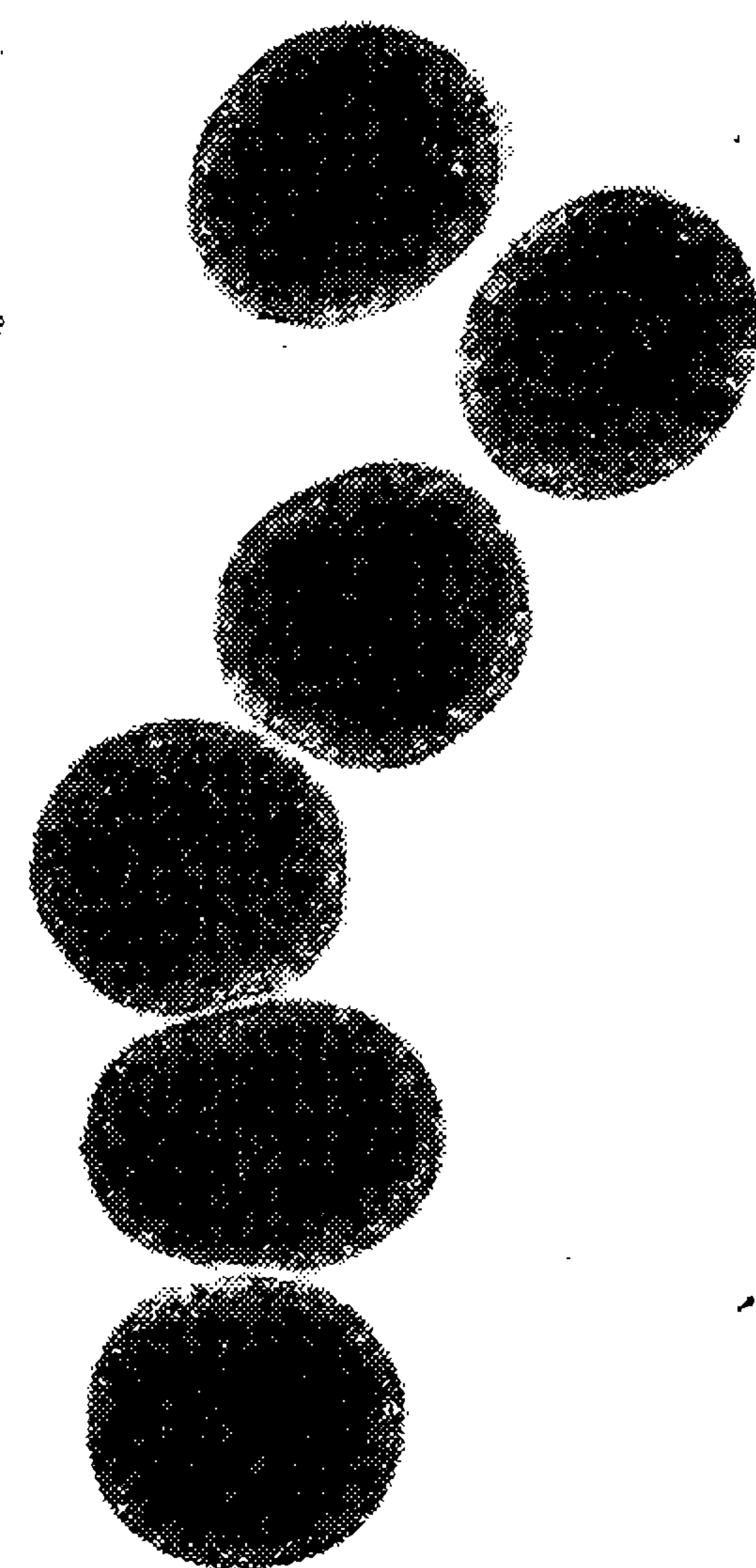


Fig. 1 — Lamelas ovígeras em placa de Petri.

Fig. 2 — Embriões em formação.

Fig. 3 — Blastômeros em diferentes fases de divisão.

Fig. 4 — Blastômeros em diferentes fases de divisão.

Fig. 5 — Embriões já formados.

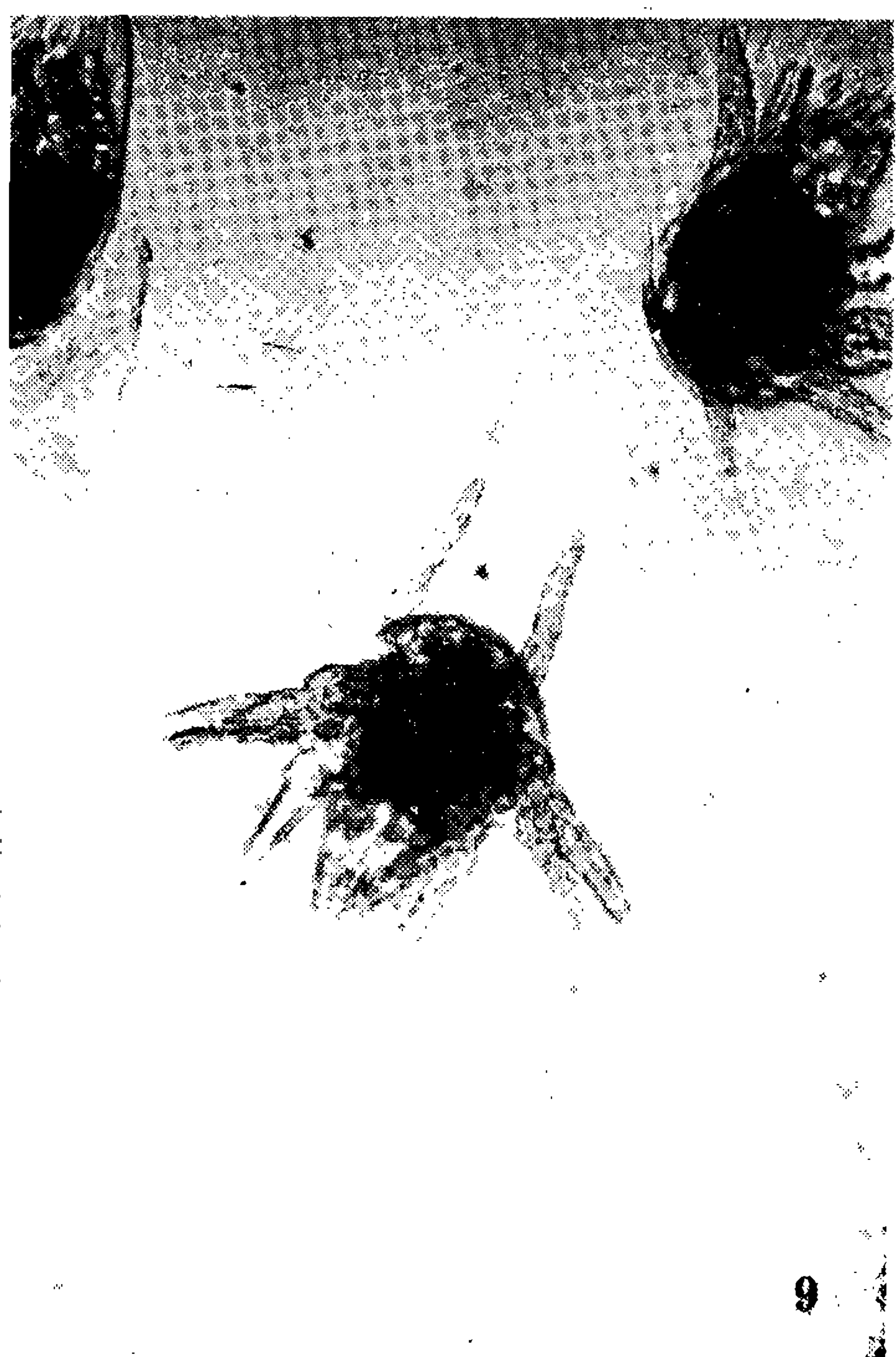
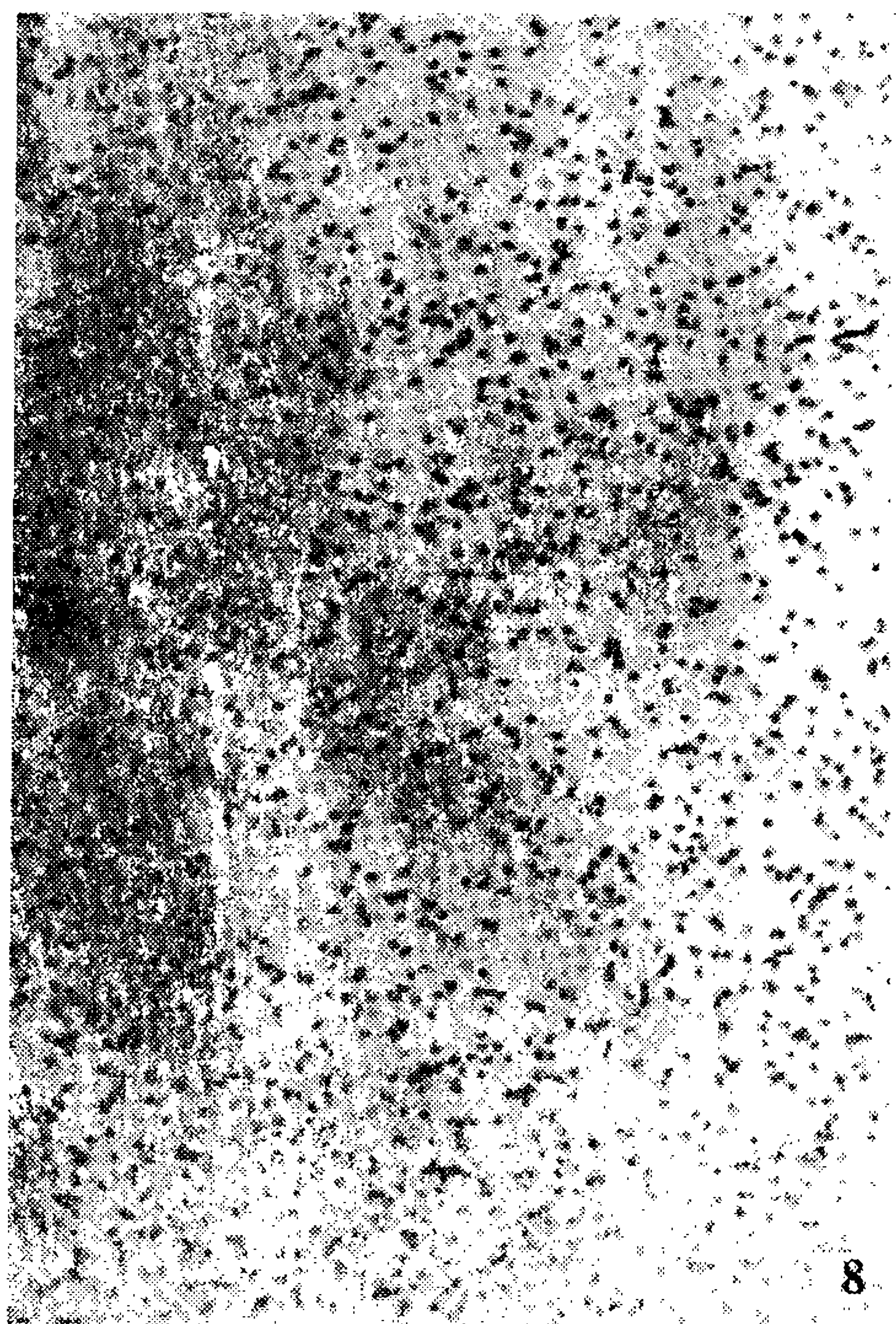
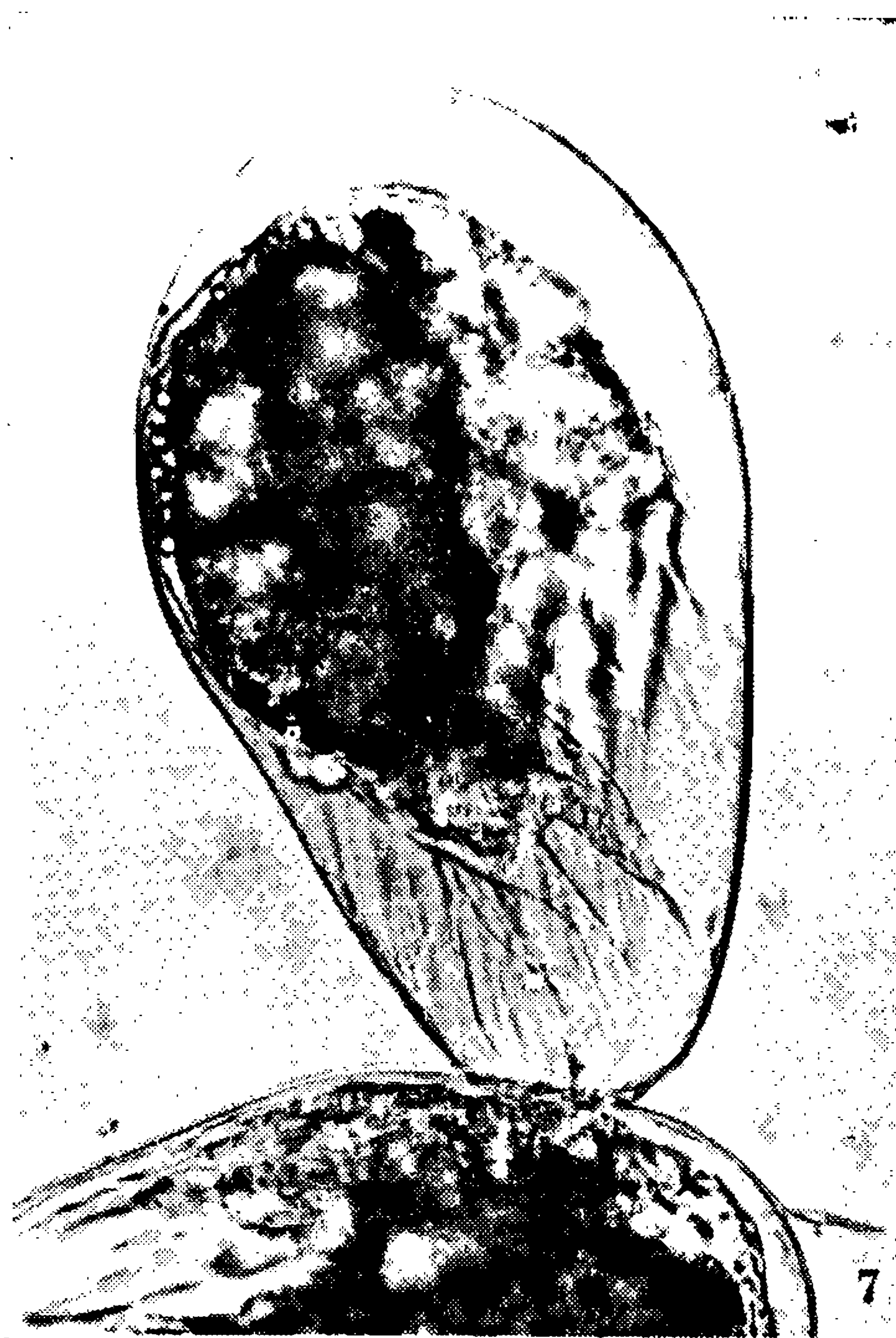


Fig. 6 — Aspecto dorsal dos Nauplii no interior do ovo.

Fig. 7 — Aspecto lateral dos Nauplii.

Fig. 8 — Vista geral dos Nauplii durante a eclosão dos ovos.

Fig. 9 — Nauplius do estágio I — Aspecto geral.

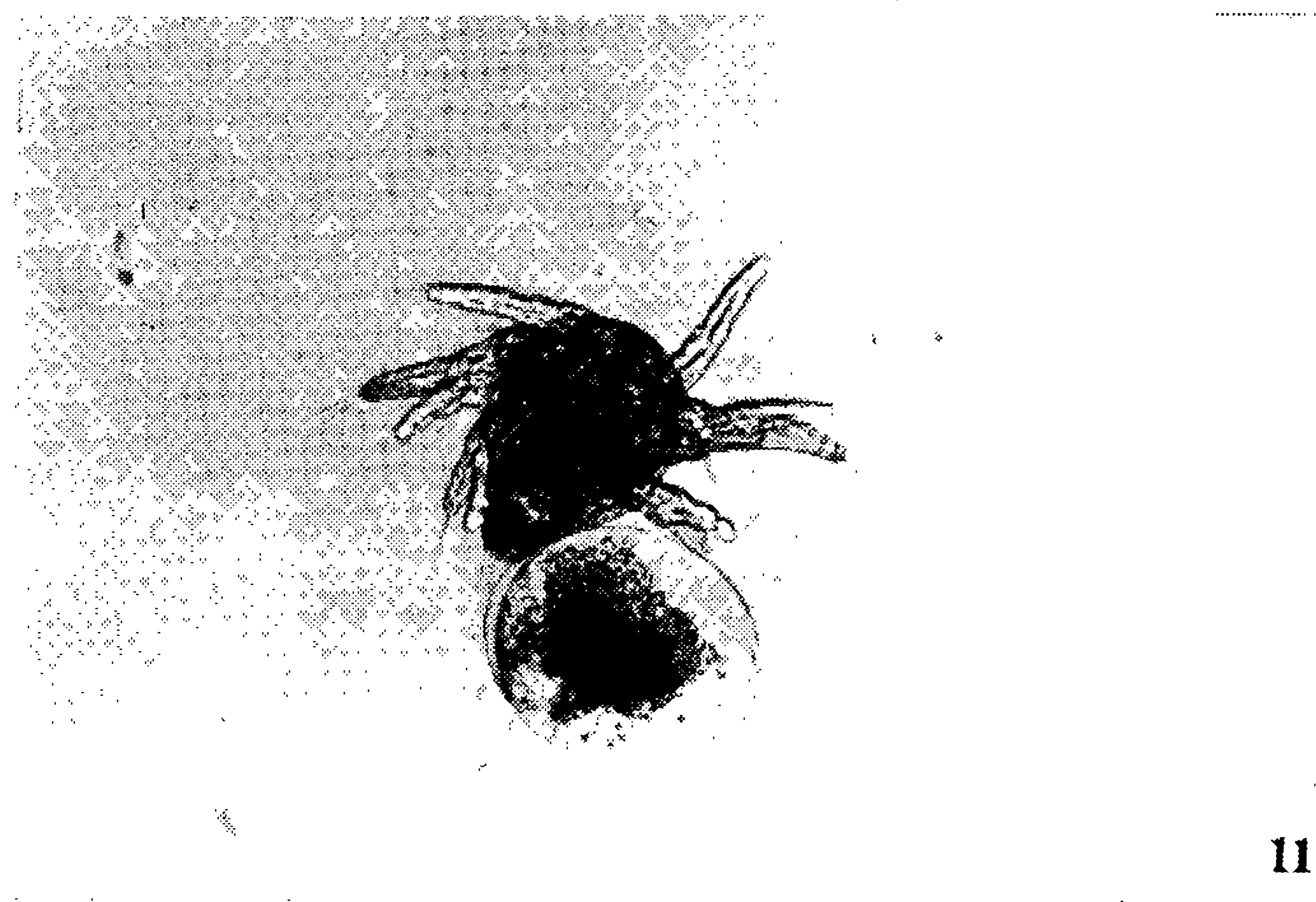
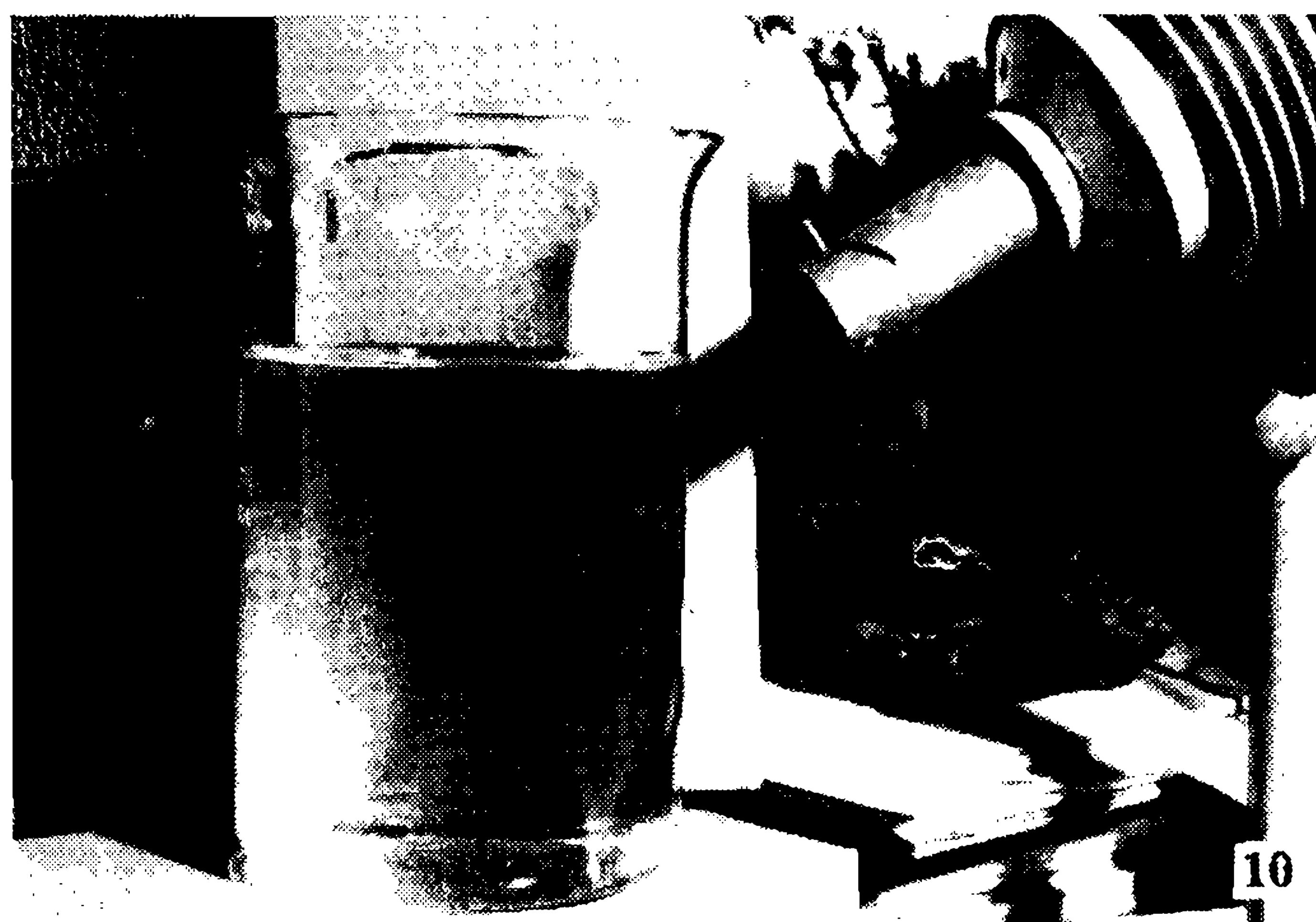


Fig. 10 — Concentração dos Nauplii no foco de luz.

Fig. 11 — Nauplius I, após eclosão do ovo.

Fig. 12 — Detalhes do Nauplius I, com mancha ocular preta bem distinta.

Resultados

DESENVOLVIMENTO LARVÁRIO:

O desenvolvimento de *Balanus amphitrite* var. *amphitrite*, partindo do 1.º Nauplius até a formação do balanídeo jovem de um dia, atinge de 9 a 12 dias.

Os Nauplii de *Balanus amphitrite* passam por seis distintas fases de crescimento, diferenciando-se entre si, principalmente, pela presença ou não de setas, sétulas, espinhos, tamanho do corpo, forma etc.

Estágio I (figs. 12 e 13). A carapaça (CP) é arredondada na região

Fig. 13

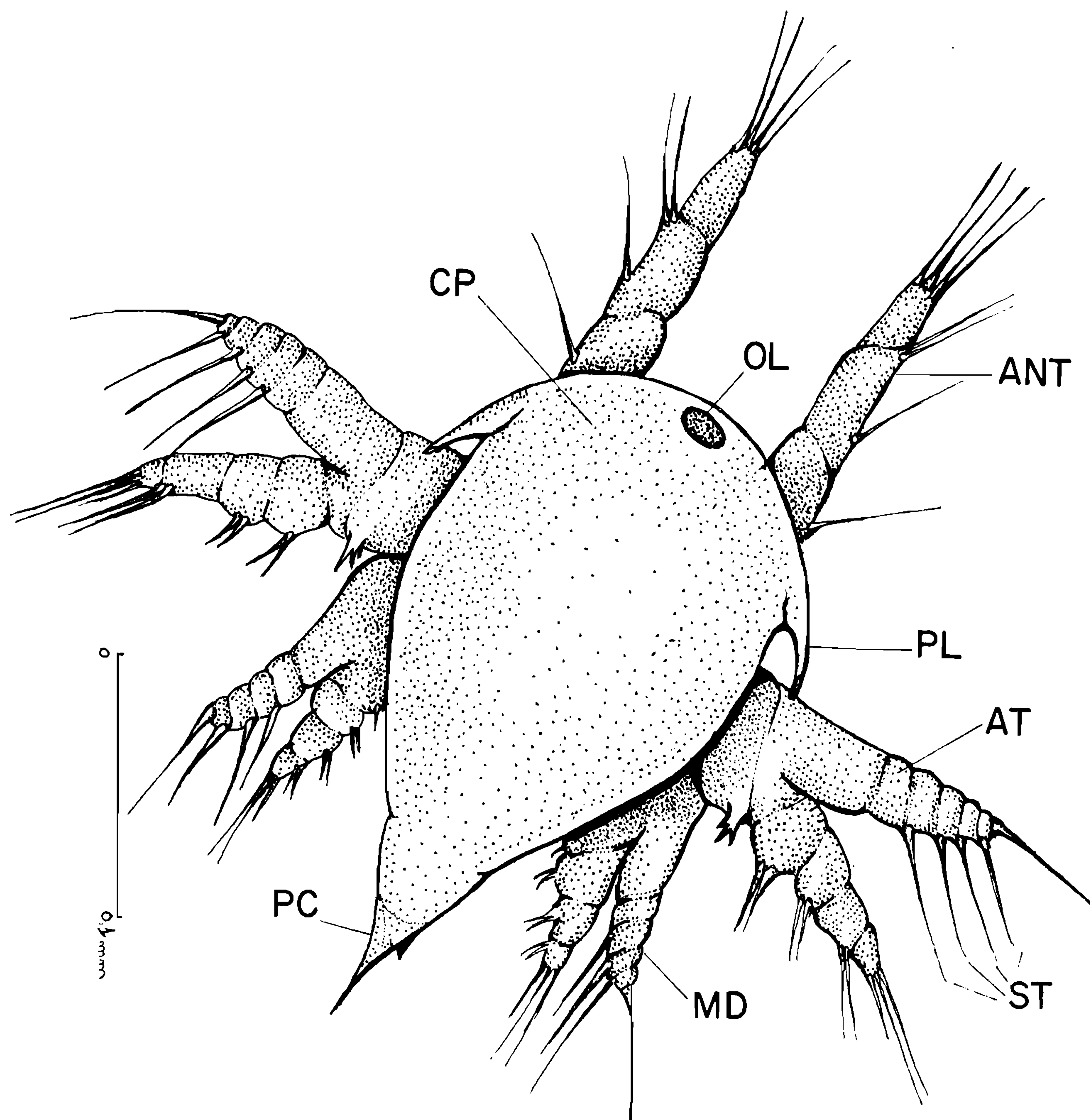


Fig. 13 — Nauplius do estágio I. ANT - antênula; AT - antena; CP - carapaça; MD - mandíbula; OL - olho; PC - processo caudal; PL - processo lateral; ST - setas.

anterior, e estreitando-se na zona posterior. Os prolongamentos laterais (PL) são curtos e voltados no sentido caudal. Nesta fase há ausência dos filamentos anteriores.

As antênulas (ANT), antenas (AT) e mandíbulas (MD) apresentam setas (ST) nos diversos segmentos. As antênulas (fig. 14) mostram uma disposição das setas que corresponde à fórmula 0:4:2:1:1, encontrada também, nas variedades *Balanus amphitrite* var. *denticulata* e *Balanus amphitrite* var. *hawaiensis*. Estas possuem 3 segmentos nítidos, e mais a base de inserção. O segmento apical termina com 4 longas e finas setas. O 2.º segmento apresenta 2 finas setas na zona interseg-

mental e uma outra na zona mediana. O 3.º segmento tem uma fina cerda na zona basal. Todas estas setas são desprovidas de sétulas.

As antenas (fig. 15), são sempre birremes, isto é, apresentam exopodito (EX) e endopodito (END). A fórmula da setação é 0:2:3 - 0:3:2:2:2:G. O processo espinhoso (G) tem dois acen- tuados espinhos (SP) curvos e mais uma fina e curta cerda (CD). O exopodito apresenta 2 longas setas (ST) no segmento terminal e ainda 3 outras em cada segmento abaixo, a seguir. Todas as setas têm, aproximadamente, o mesmo comprimento e espesura. O endopodito (END) tem 3 longas e finas setas apicais e ainda

Fig. 14

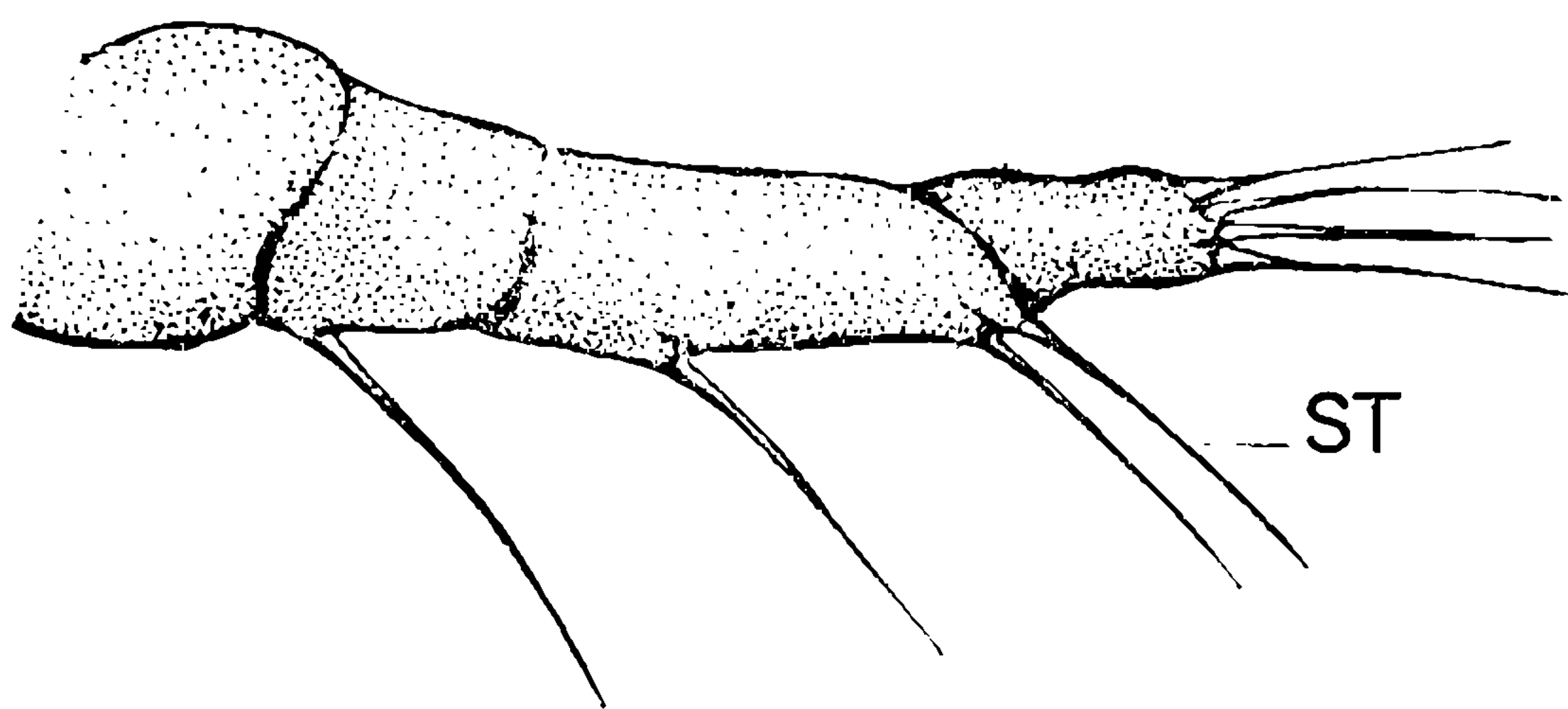


Fig. 16

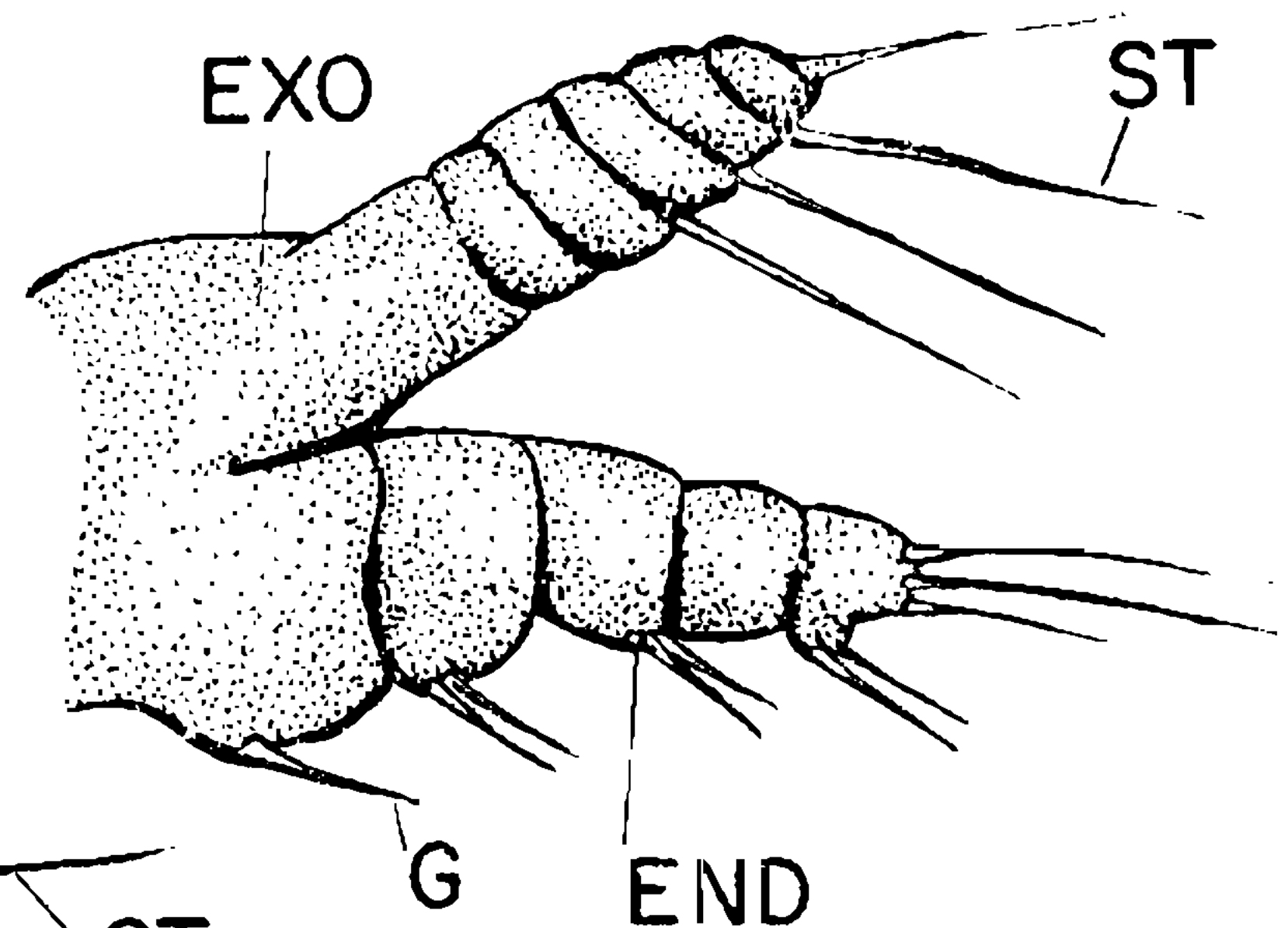


Fig. 15

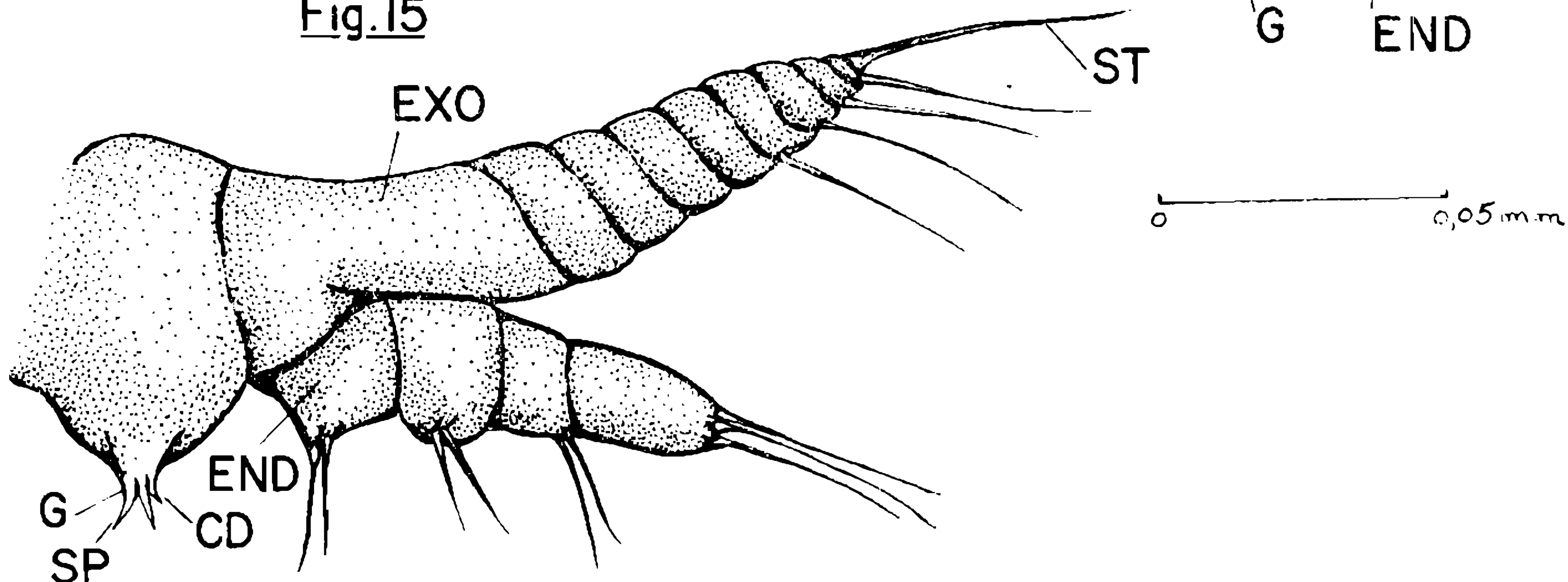


Fig. 14 — Antênula.

Fig. 15 — Detalhes da antena. CD - cerda; END - endopodito; EX - exopodito; G - processo basal; SP - espinho; ST - setas.

Fig. 16 — Detalhes da mandíbula.

um par em cada segmento restante. Estas últimas são mais curtas e grossas que as apicais.

As mandíbulas (fig. 16) são menores e mais robustas que as antenas. A setação corresponde a 0:1:3 — 0:3:2:2:2:G. O G é representado por um curto espinho na base do endopodito. Todas as setas das antênulas, antenas e mandíbulas são desprovidas de sétulas, nesta 1.^a fase larvária de Nauplius.

O processo terminal do abdômen (fig. 17, PT) apresenta dois curtos e fortes espinhos, voltados para a região dorsal (PTF). o prolongamento da cauda (PC) é fino e simples, apenas, com um reforço quitinoso na sua extremidade.

Observando o Nauplius pela região ventral, verificamos que, nesta fase, o labrum (fig. 18, LB) é isento de cerdas ou espinhos. Possui bordos lisos com ligeira proeminência na extremidade mediana.

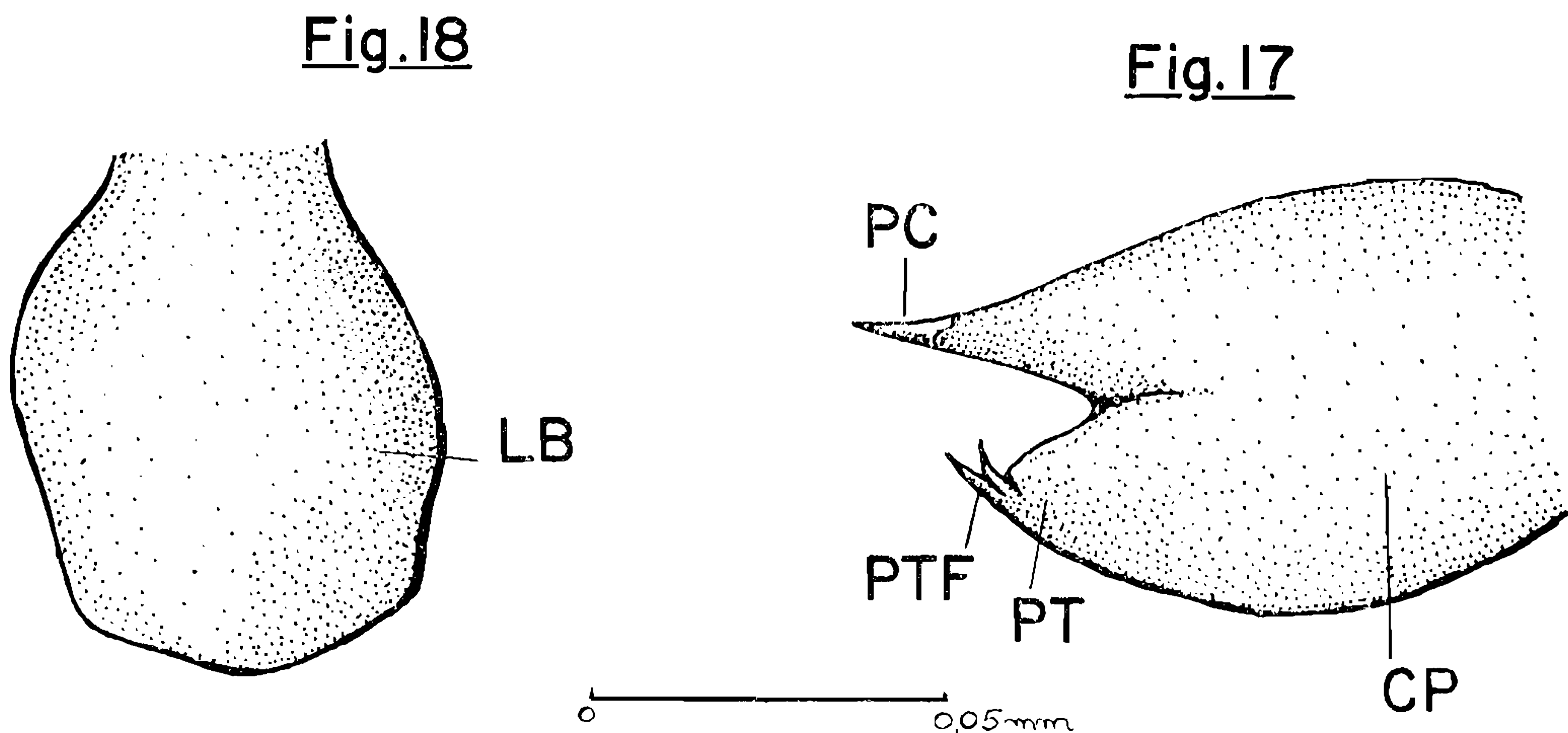


Fig. 17 — Carapaça vista lateral. PC - processo caudal; PT - processo terminal; PTF - filamentos do processo terminal.

Fig. 18 — Vista dorsal do labrum. LB - labrum.

Este 1.^o estágio de Nauplii mede, aproximadamente 0,22 mm de comprimento total. Sua carapaça apresenta 0,18 mm de comprimento por 0,14 mm de largura. A duração deste estágio varia de 15' a 30', quando o animal faz sua primeira muda para atingir o 2.^o estágio.

Estágio II (figs. 19-20-21). Carapaça mais larga, com dois nítidos dentes laterais (fig. 19, AL) e a partir dos quais o corpo se alonga e afina,

apresentando-se serrilhado na porção final da carapaça. O processo caudal (PC), nesta fase, apresenta grossos e finos espinhos, recobrendo, principalmente, sua porção final. As figs. 20 e 21 mostram o aspecto geral desta fase de Nauplii em posição dorsal e ventral. Os prolongamentos laterais (PL) encontram-se mais levantados que no 1.^o estágio, além de terem suas bases alargadas. Nesta 2.^a fase, há o aparecimento dos filamentos frontais.

Fig. 19

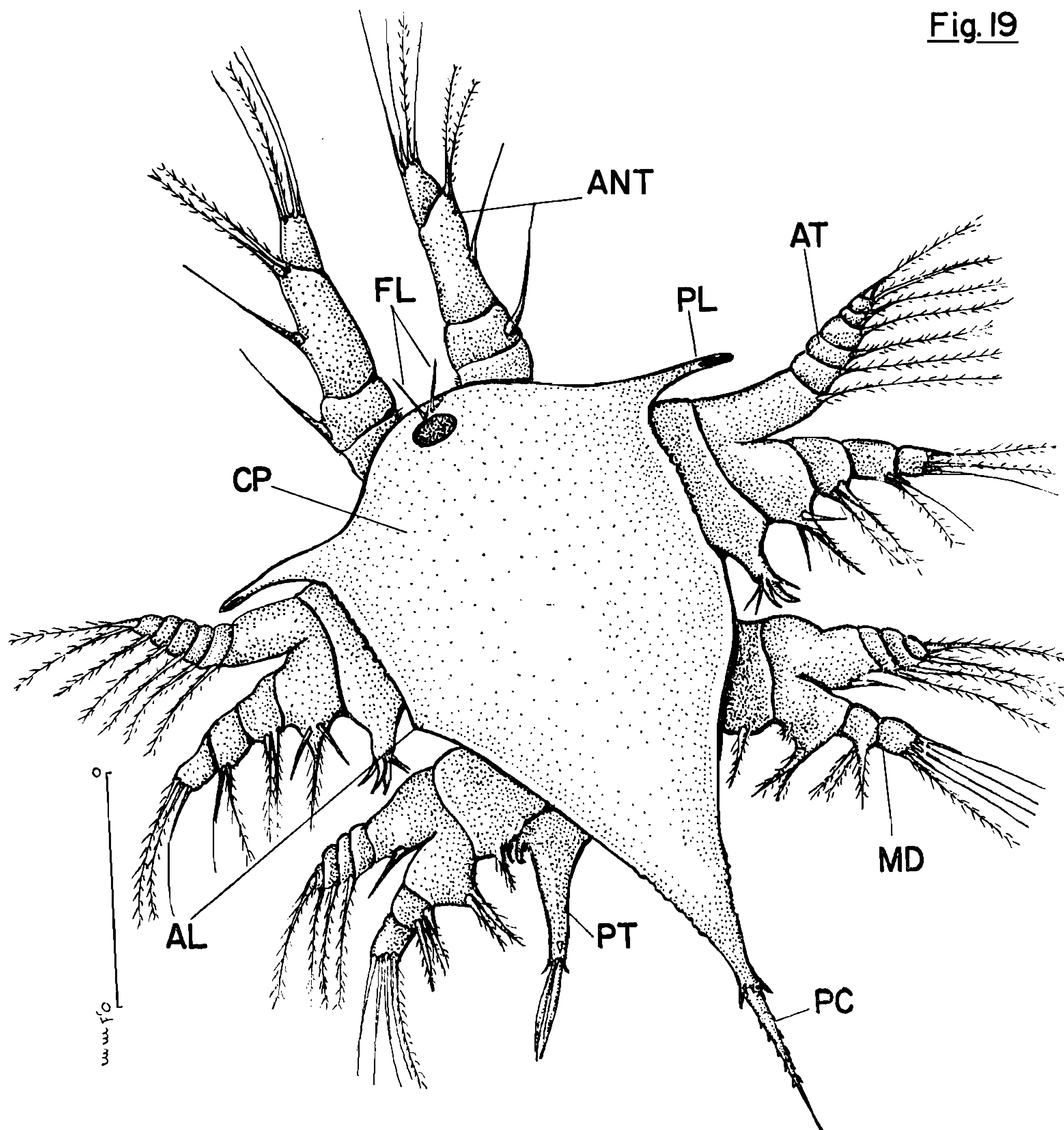


Fig. 19 — Nauplius do estágio II. AL - alongamento espinhoso lateral; ANT - antênula; AT - antena; CP - carapaça; FL - filamentos frontais; MD - mandíbula; PC - processo caudal; PL - processo lateral; PT - processo terminal.

(FL) situados logo acima do olho ímpar, e o início de formação de sétulas em algumas setas das antênulas, antenas e mandíbulas.

As antênulas (fig. 22) apresentam 4 cerdas apicais, sendo que após estas vêm as post-apicais, representadas por 2 setas com sétulas, uma sem sétulas e, finalmente, uma 3.^a sem sétulas e pertencente ao 3.^o segmento antenular. Na base antenular, ao lado

oposto às cerdas post-apicais, encontra-se um tufo formado por 5 pequenas cerdas (TF). A fórmula de setação das antênulas é igual a do 1.^o estágio, isto é, 0:4:2:1:1.

As antenas (fig. 23) possuem todas as cerdas do exopodito com sétulas, além do aparecimento de mais 2 outras setas com sétulas. Duas setas apicais do endopodito mostram sétulas, a 3.^a porém, é sem sétulas. O 2.^o

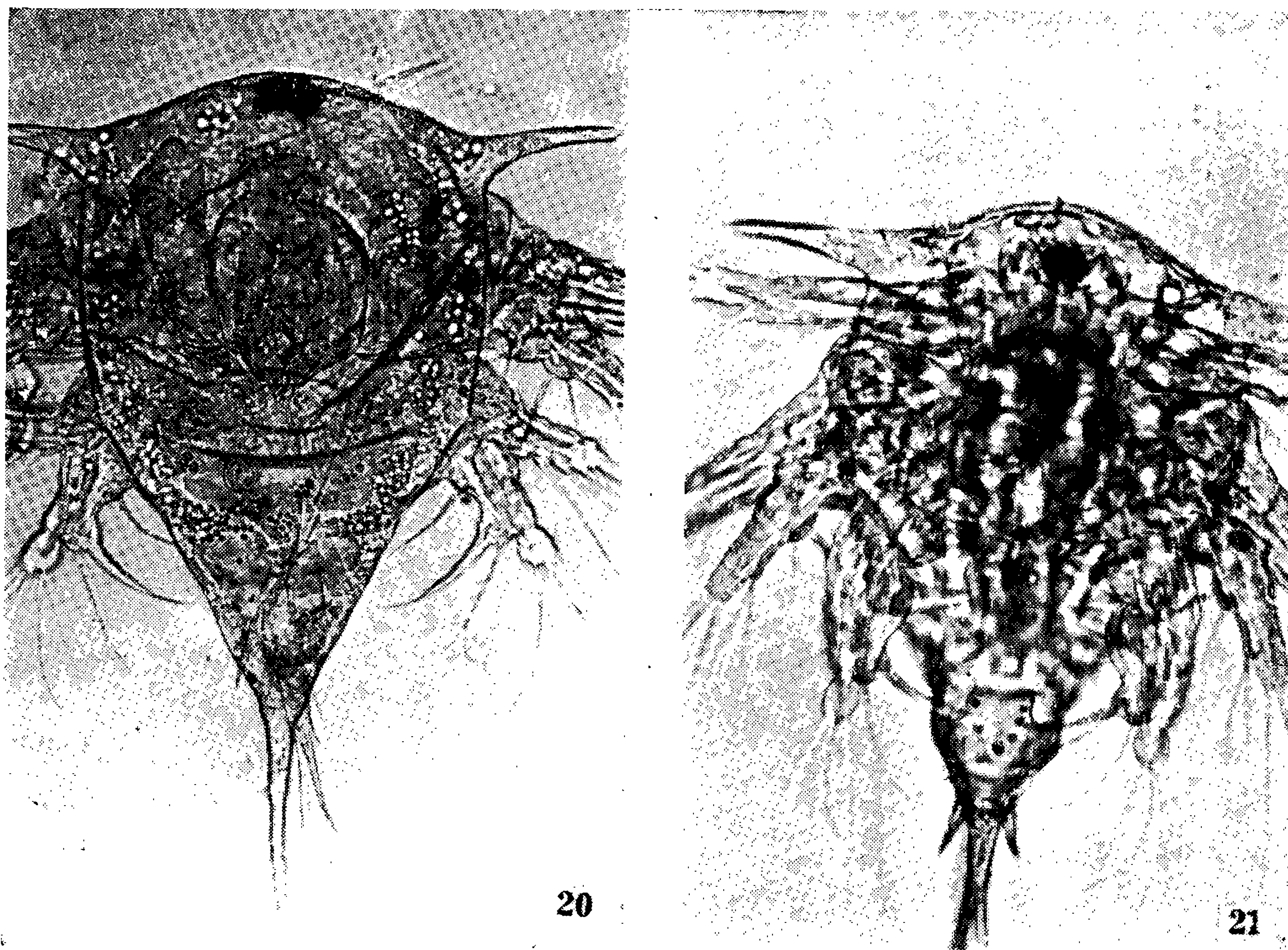


Fig. 20 — Vista dorsal de Nauplius II.
Fig. 21 — Vista ventral de Nauplius II.

Fig. 22

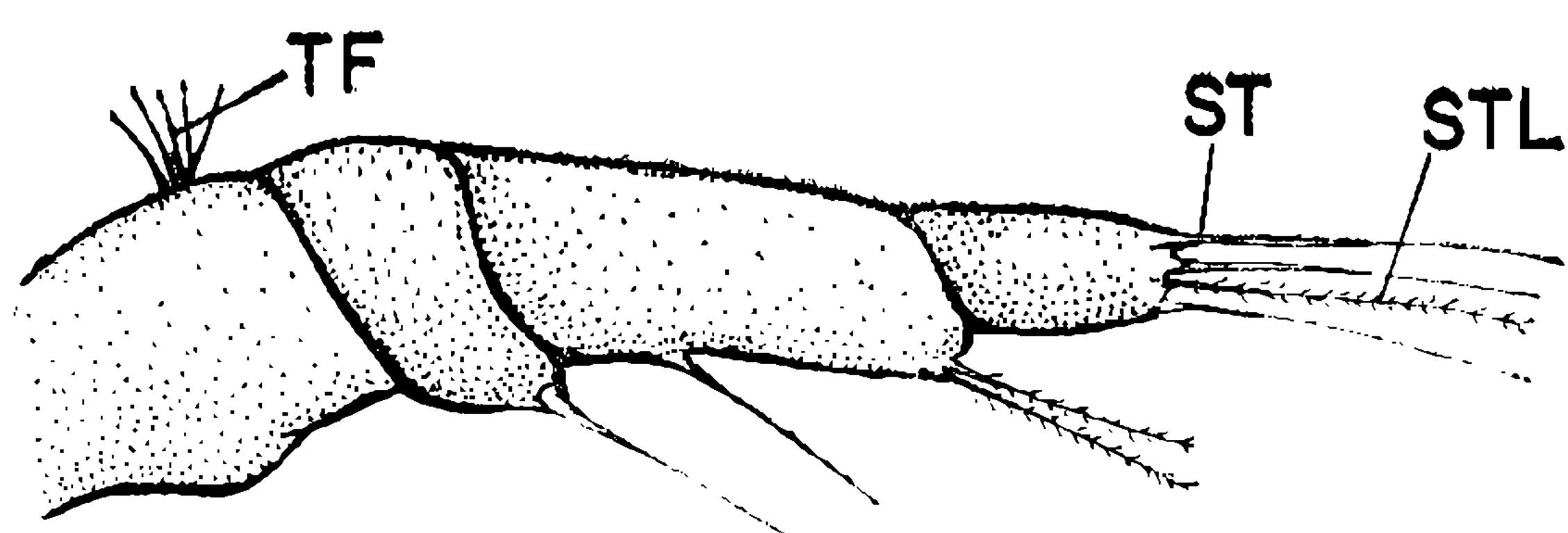


Fig. 24

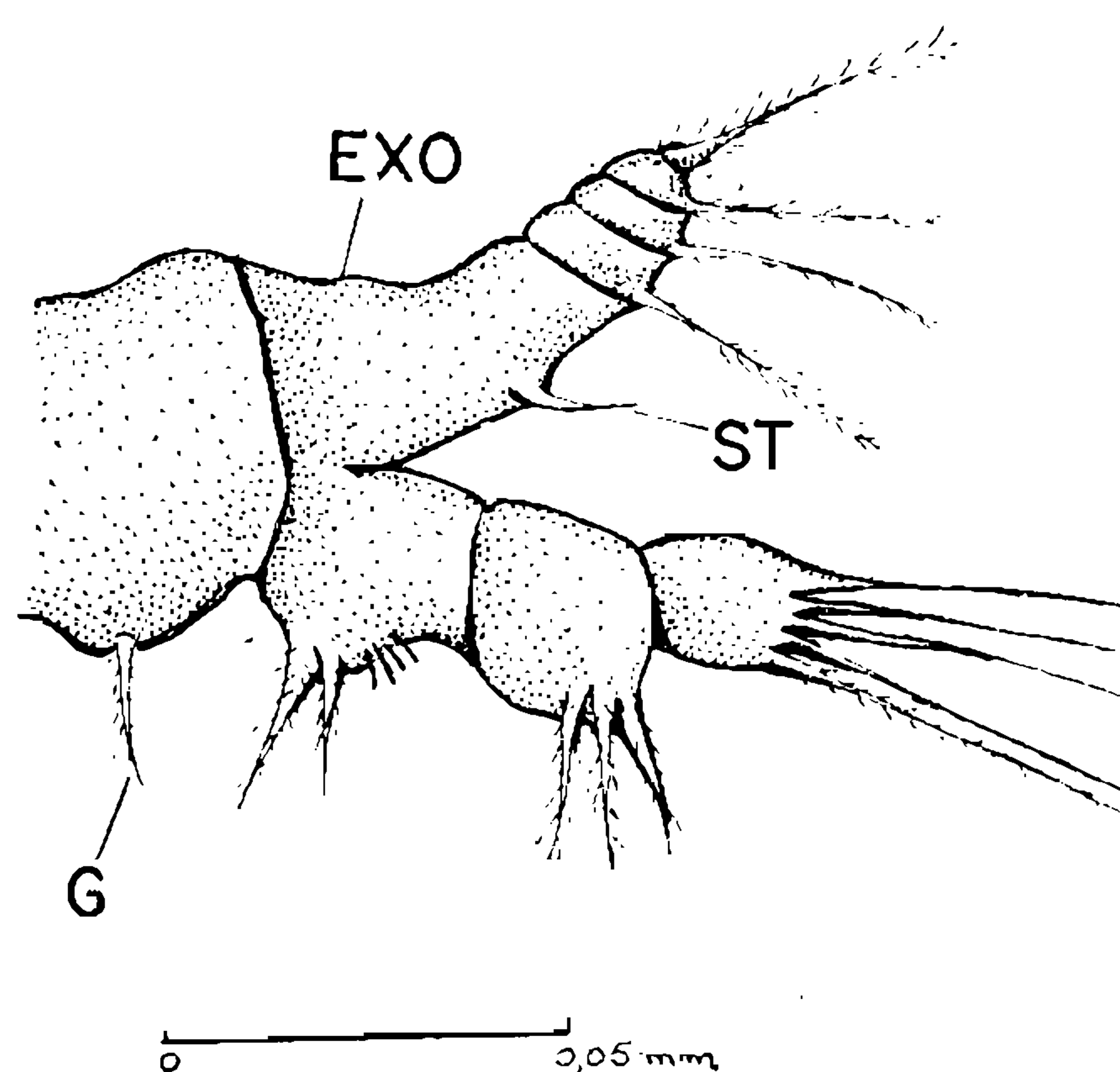


Fig. 23

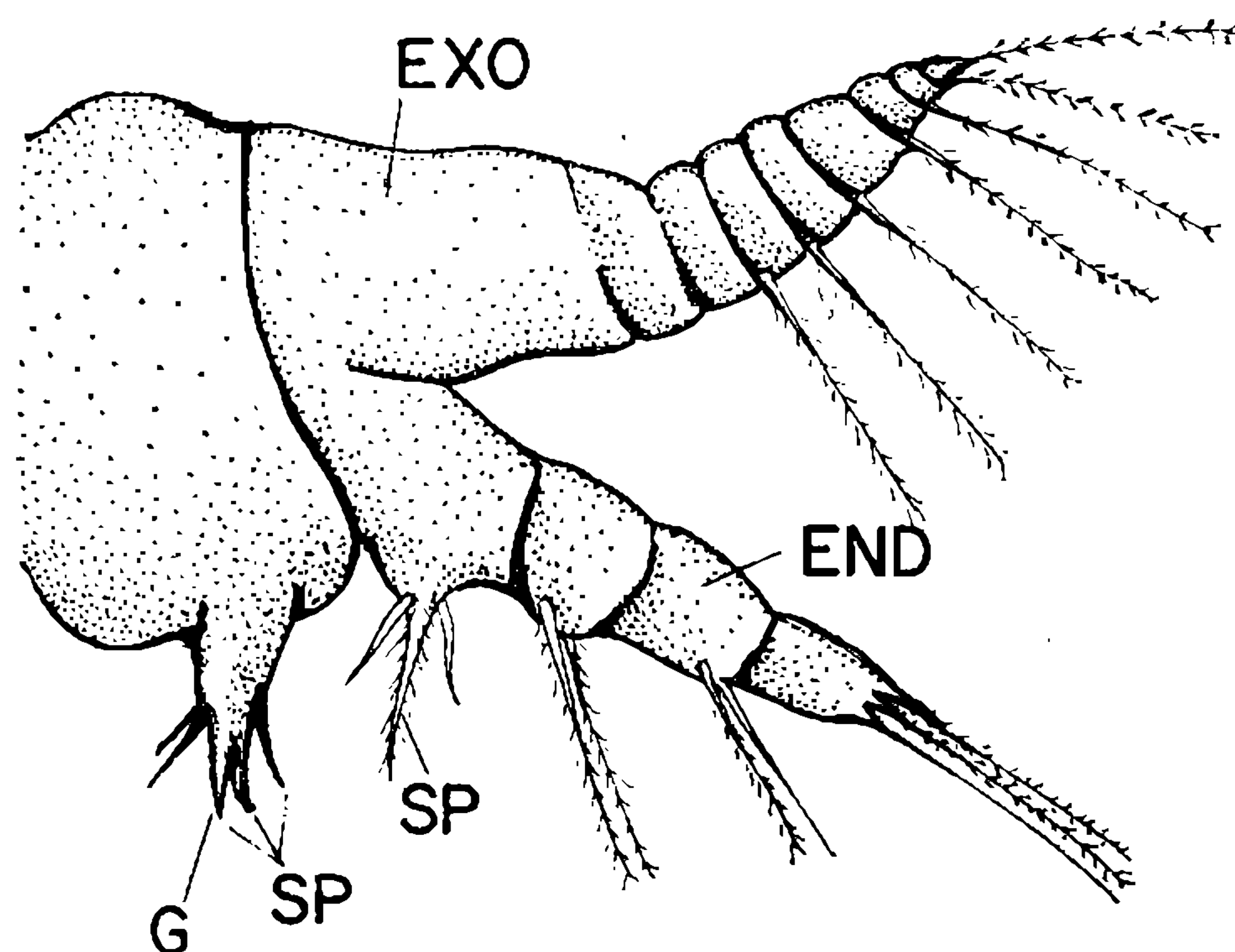


Fig. 22 — Detalhes das antênulas. ST - setas; STL - sétulas; TF - tufos.
Fig. 23 — Detalhes das antenas. G - processo basal; END - endopodito; EXO - exopodito; SP - espinho proeminente.
Fig. 24 — Aspecto geral das mandíbulas.

segmento do endopodito apresenta uma seta com sétulas e a outra sem sétulas. No 3.º segmento ambas as setas têm sétulas. Finalmente, no artigo seguinte do endopodito, notamos a presença de um forte espinho recoberto de sétulas (SP) e lateralmente, duas finas cerdas desprovidas de sétulas. O processo basal (G) apresenta 3 fortes espinhos cuticularizados, e na reentrância lateral, 1 par de finas cerdas simples. A fórmula da setação para as antenas é: 0:2:5 — 0:3:2:2:3:G. Esta fórmula é igual ao *Balanus amphitrite denticulata*, porém, com modificação quanto à disposição das sétulas.

As mandíbulas (fig. 24) apresentam no exopodito 4 setas com sétulas, além de uma seta menor sem sétulas. Esta última é bem mais curta que as demais (ST). O endopodito possui 3 cerdas apicais e 2 outras abaixo, entretanto, apenas uma delas possui sé-

tulas. O artigo seguinte apresenta 3 setas com sétulas. No 3.º artigo as duas setas são mais fortes e revestidas de sétulas. O processo G, na base da mandíbula é simples, com sétulas. A fórmula da setação é 0:1:4 — 0:3:2:3:2:G.

O processo terminal do abdômen (fig. 25) mostra acentuadas diferenças em relação ao 1.º estágio. Os dois espinhos terminais (PTF) nesta fase são muito longos, dando um aspecto bifurcado ao processo terminal (PT). Na base de implantação destes espinhos longos (PTF), há o aparecimento de uma coroa de 4 curtos espinhos bem esclerosados. Mais para cima, ainda na zona mediana ventral do processo terminal, há o arranjo de 8 curtos espinhos. A cutícula ventral, nesta zona, é serrilhada e mostra dois acentuados e curvos prolongamentos, que são totalmente revestidos por diminutos espinhos. O prolongamento

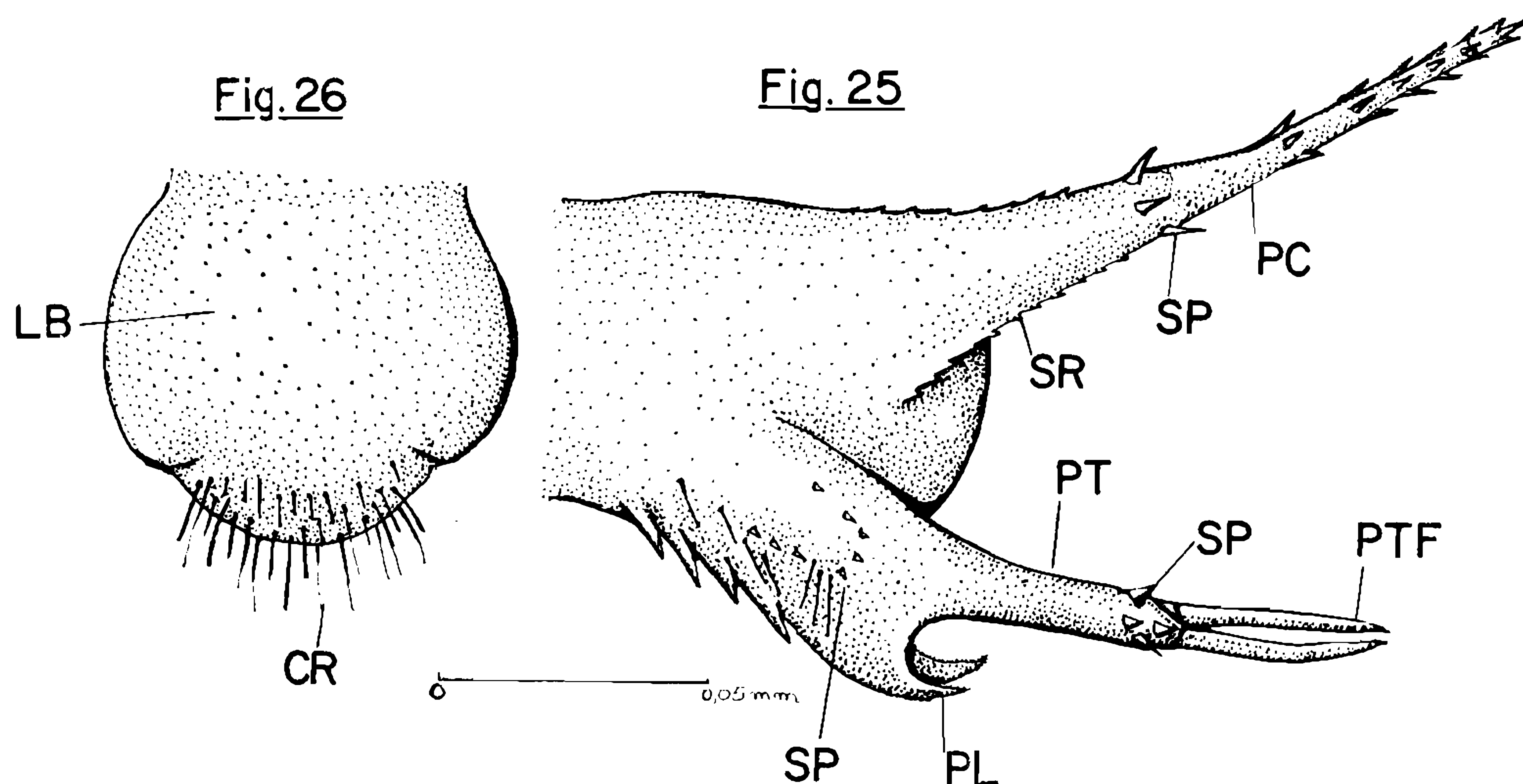


Fig. 25 — Vista lateral da extremidade do Nauplius II. PC - processo caudal; PL - prolongamento final; PT - processo terminal; PTF - filamento do processo terminal; SP - espinhos; SR - cutícula serrilhada.

Fig. 26 — Vista dorsal do labrum. CR - cerdas.

caudal (PC) apresenta 6 marcantes grupos cada um com 3 espinhos. Acima destes grupos, 3 outros fortes e maiores espinhos delimitam esta área.

O labrum (fig. 26), além de mais abaulado e com os bordos laterais proeminentes, apresenta na extremidade da zona mediana um conjunto

de curtas e finas cerdas sensoriais (CR).

O comprimento total do animal nesta fase é de 0,31 mm. A carapaça tem 0,24 mm de comprimento por 0,15 mm de largura. A duração deste estágio varia entre 2 e 4 dias, quando então realiza-se a nova muda, passando ao 3.º estágio.

Fig. 27

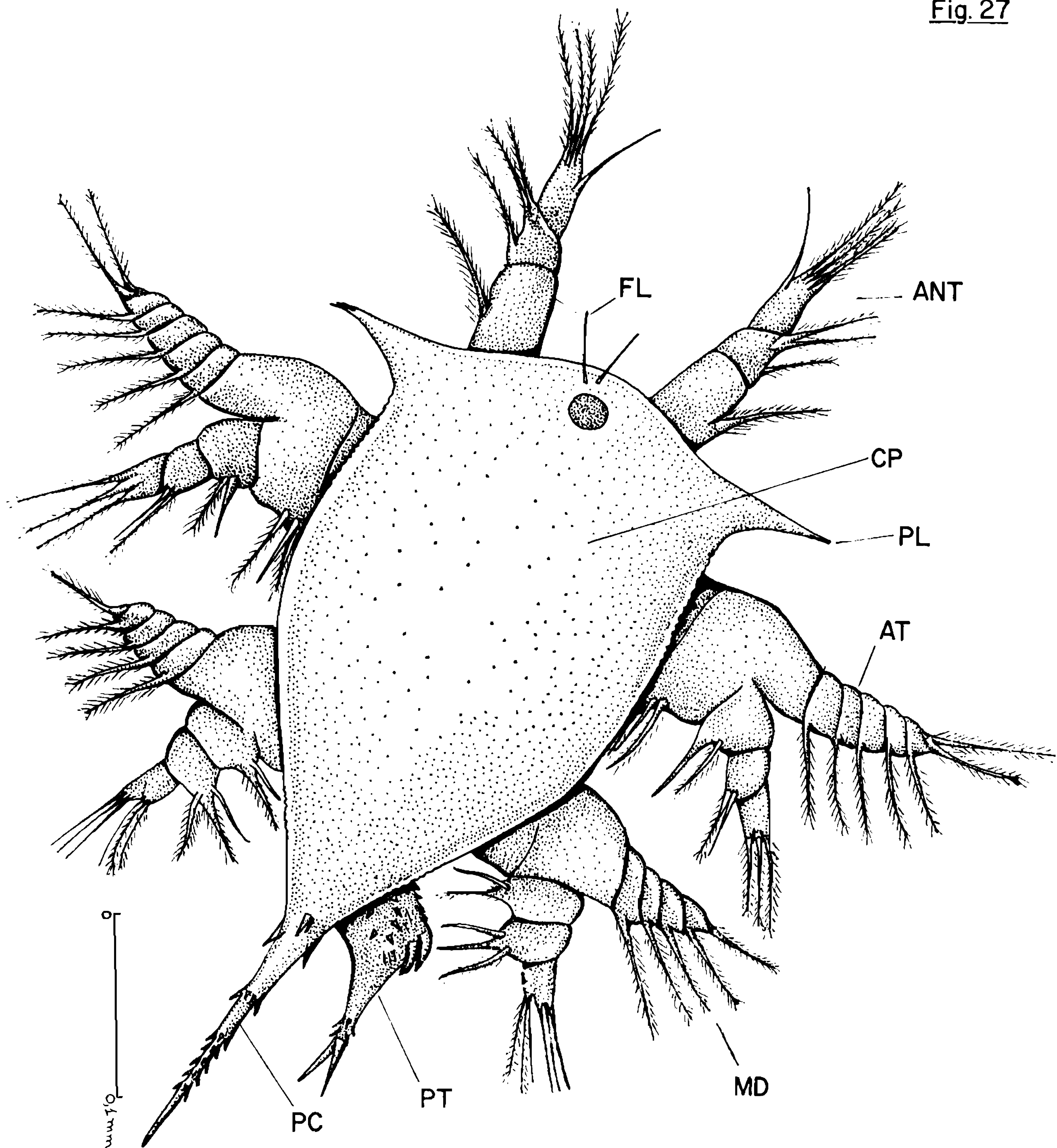


Fig. 27 — Vista geral, mostrando detalhes do Nauplius III. ANT - Autênula; AT - antena; CP - carapaça; FL - filamento frontal; MD - mandíbula; PC - processo caudal; PL - prolongamento lateral; PT - processo terminal.

Estágio III (figs. 27, 28 e 29). O 3.º estágio de Nauplii de *Balanus amphitrite* var. *amphitrite* apresenta poucas diferenças acentuadas, que o diferencia do estágio anterior. A carapaça é mais alargada e longa. Os filamentos frontais são nítidos (FL) e os prolongamentos laterais mais curtos e possuem base mais larga.

Nas antênulas (fig. 30) aparece a primeira cerda pré-apical (SX). Todas as demais setas possuem sétulas. A fórmula da setação é: 1:4:2:1:1.

As antenas (fig. 31) mostram nítida segmentação no exopodito. O seg-

mento, correspondendo ao artículo apical do exopodito, apresenta as duas setas com sétulas. Os demais 5 segmentos apresentam 5 setas, todas com sétulas. No endopodito, as tres setas apicais têm sétulas, e o artículo seguinte com 2 cerdas, uma com sétulas e outra sem sétulas. No 3.º segmento antenal temos uma cerda mais grossa sem sétulas e outra fina com sétulas. O 4.º artículo apresenta 2 cerdas com sétulas e uma sem sétulas. O processo basal (G) apresenta 3 fortes dentes, e nas reentrâncias basais, de um lado, um par, e do outro, apenas uma cerda fina e curta. A fórmula da setação é: 0:2:5 - 0:3:2:2:3:G.

As mandíbulas (fig. 32) apresentam o exopodito com 5 cerdas com sétulas. Na extremidade do endopodito há o aparecimento de mais uma cerda, formando 3 longas e 1 curta seta sem sétulas e mais 2 setas com sétulas, em um total de 6 cerdas no artículo extremo do endopodito. No segmento a seguir vê-se 1 cerda forte e mediana, recoberta de sétulas, e ainda laterais, 2 finas setas, sendo uma com e outra sem sétulas. O artículo depois, tem 2 setas, uma mais grossa com sétulas e outra fina sem sétulas. O processo (G) é mais largo e robusto que no estágio II. A fórmula da setação é: 0:1:4 - 0:3:3:3:2:G.

O processo caudal (fig. 33) é aumentado por mais um par de fortes espinhos, além do aparecimento de outros curtos na zona mediana. O seu prolongamento terminal é mais curto, tendo novos espinhos curtos.

O labrum (fig. 34) possui o bordo extremo mais abaulado e, as cerdas finas são mais largas. Há formação acentuada de três lóbulos com as cerdas.

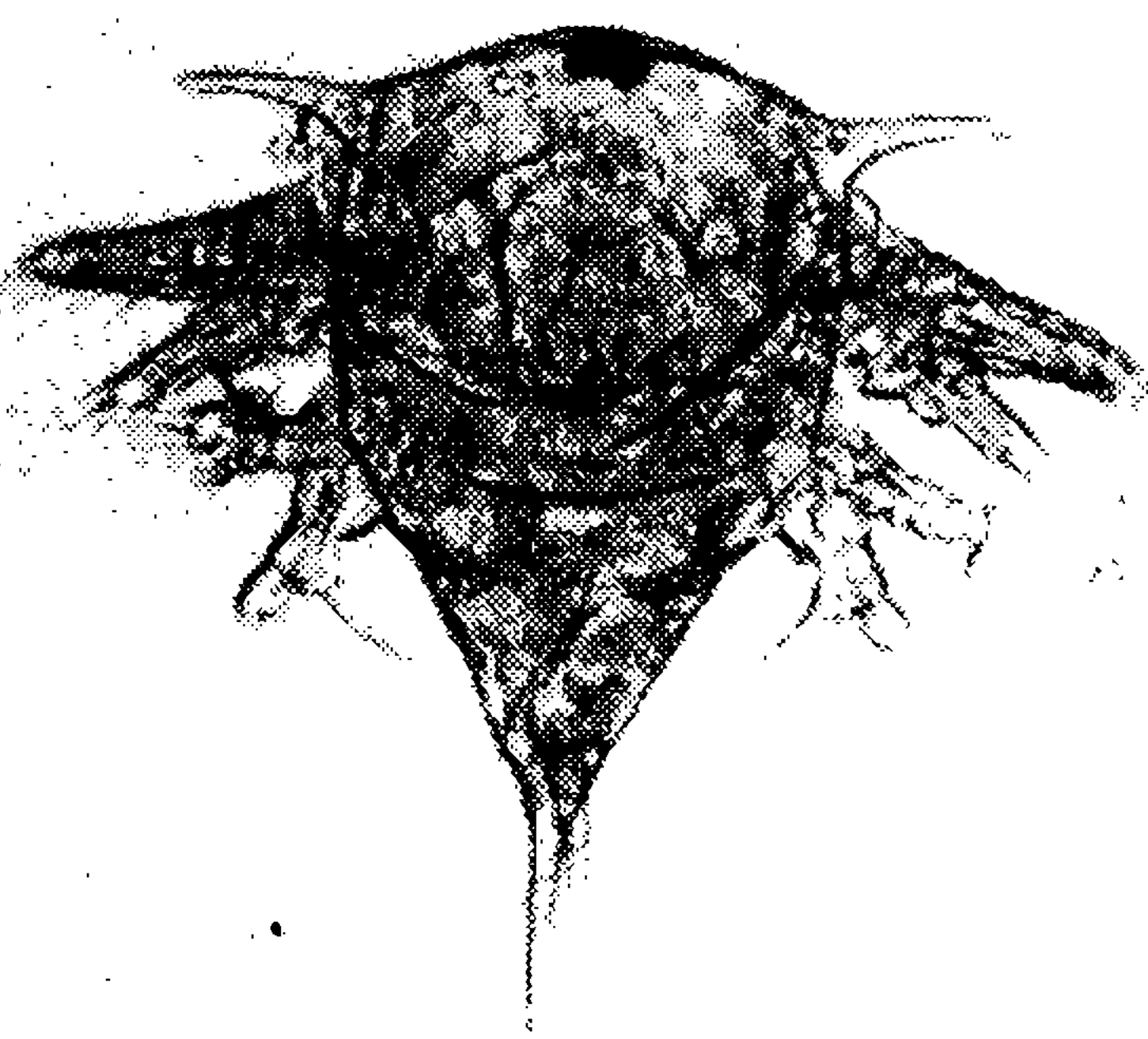


Fig. 28 — Vista ventral de Nauplius III.
Fig. 29 — Vista dorsal de Nauplius III.

Fig. 30

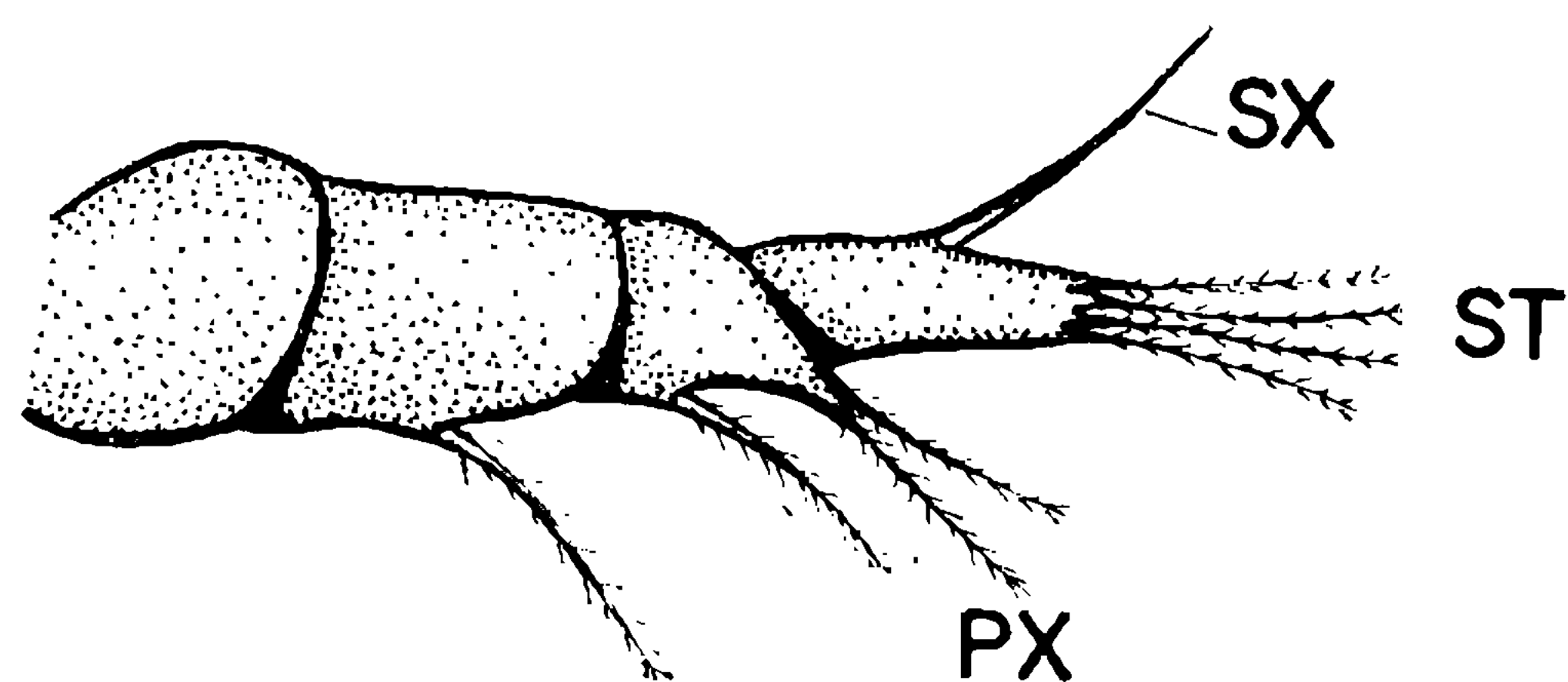


Fig. 32

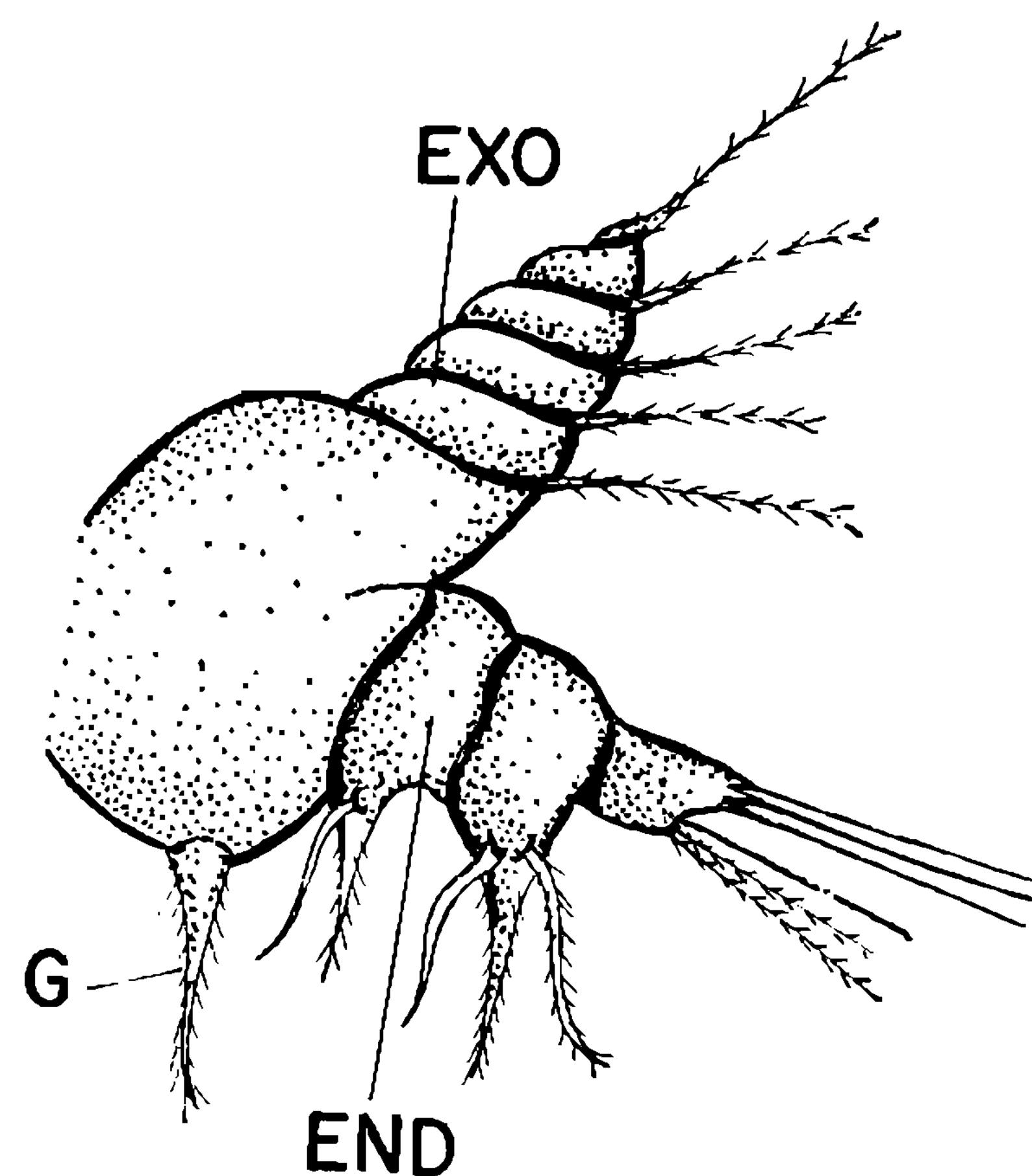


Fig. 31

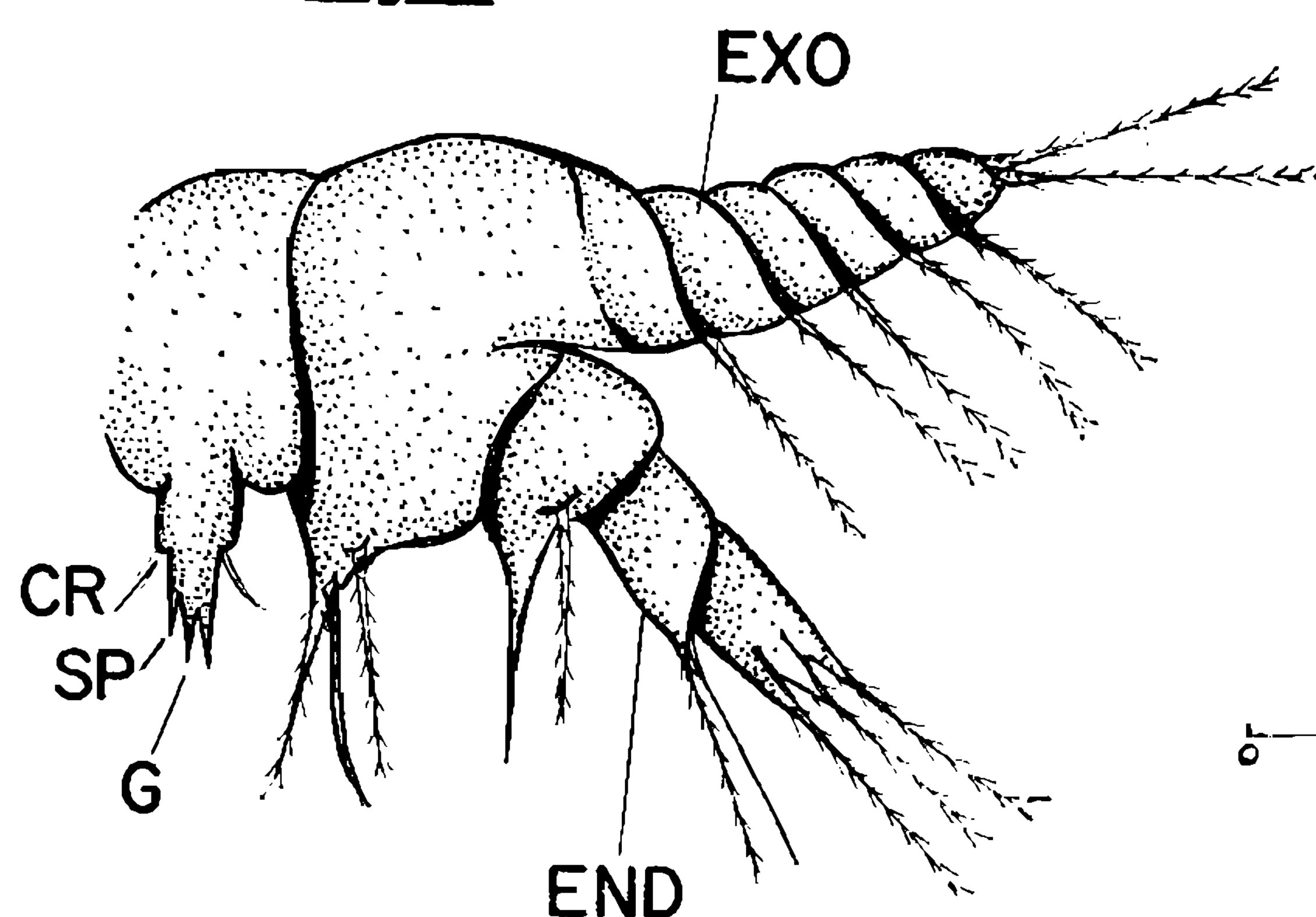


Fig. 30 — Detalhes da antênula.

Fig. 31 — Detalhes da antena.

Fig. 32 — Detalhes da mandíbula.

Fig. 33

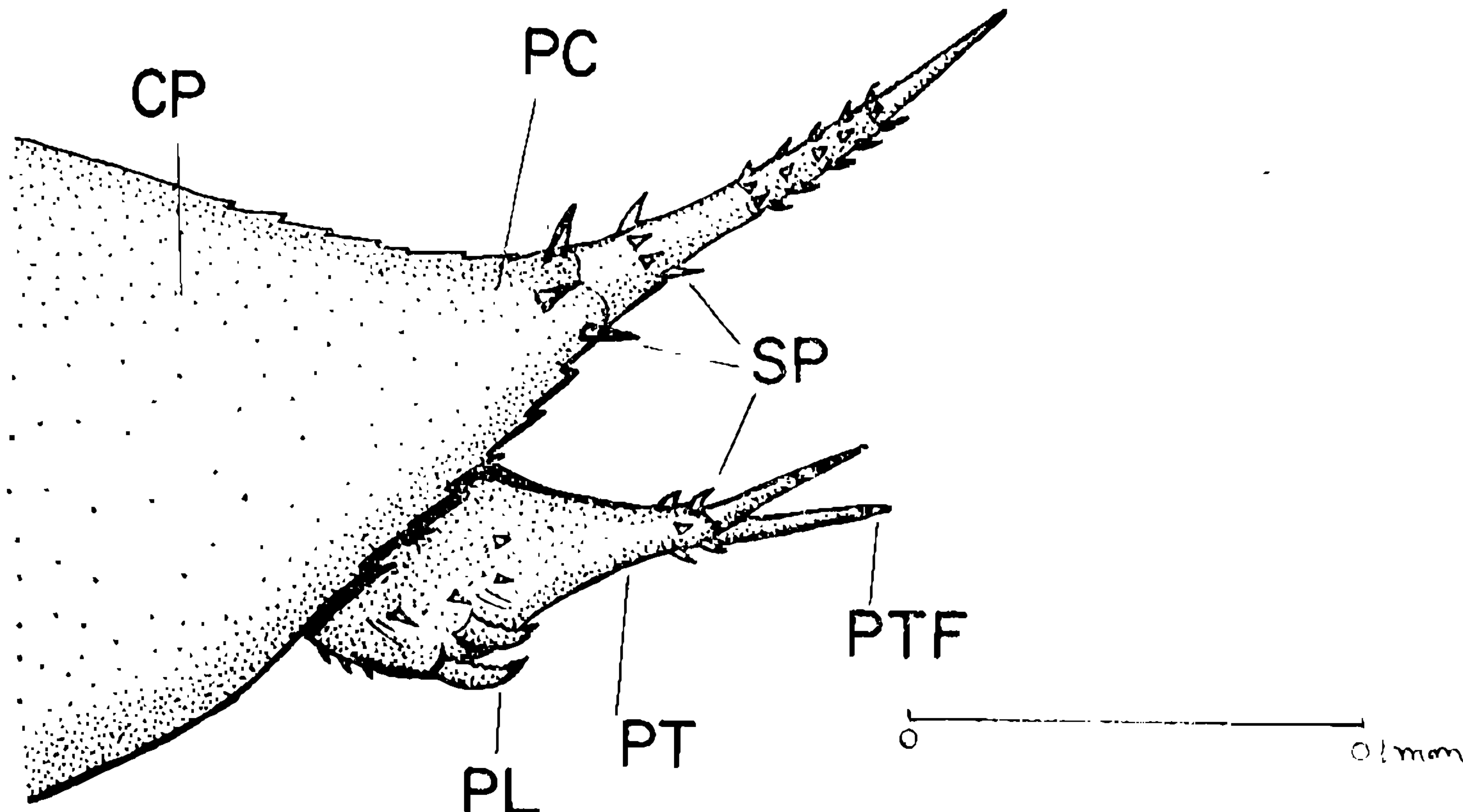


Fig. 34

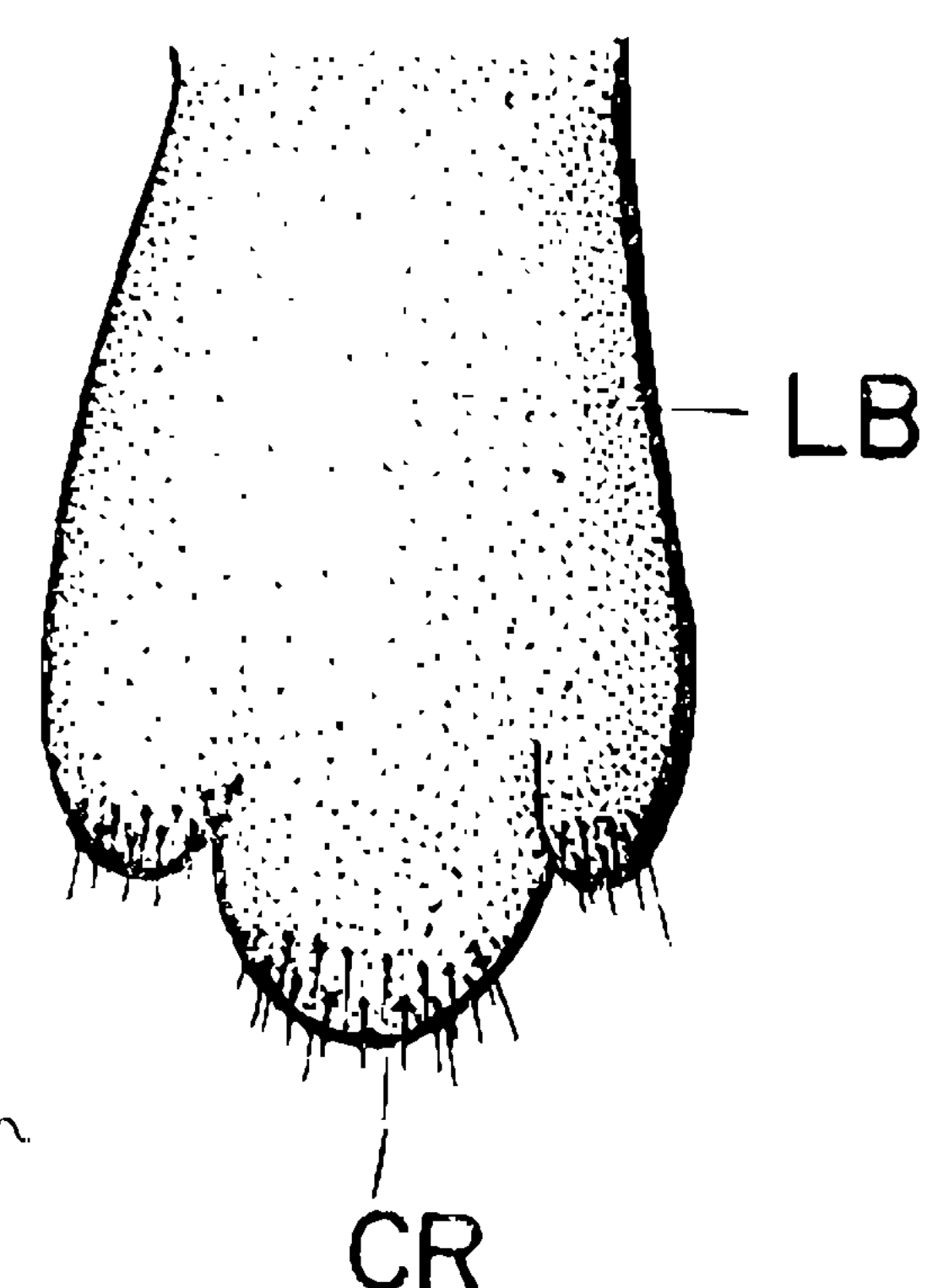


Fig. 33 — Vista lateral da extremidade da carapaça do Nauplius III.

Fig. 34 — Labrum, vista dorsal.

O comprimento total do animal é de 0,38 mm e a carapaça tem 0,29 mm de comprimento por 0,17 mm de largura. A duração deste estágio varia muito, estando entre o período de 4 a 6 dias.

Estágio IV (figs. 35, 36 e 37). A partir deste estágio, a carapaça apresenta na sua extremidade final um par de outros espinhos (CSP), sendo

mais larga e apenas mais comprida do que no estágio III. Os prolongamentos laterais (PL) são mais curtos e largos na base. Os ângulos espinhosos da carapaça, acentuados no estágio II, vêm diminuindo no estágio III e, desaparecendo no estágio IV. Os filamentos frontais são mais grossos, porém, permanecem curtos.

Fig. 35

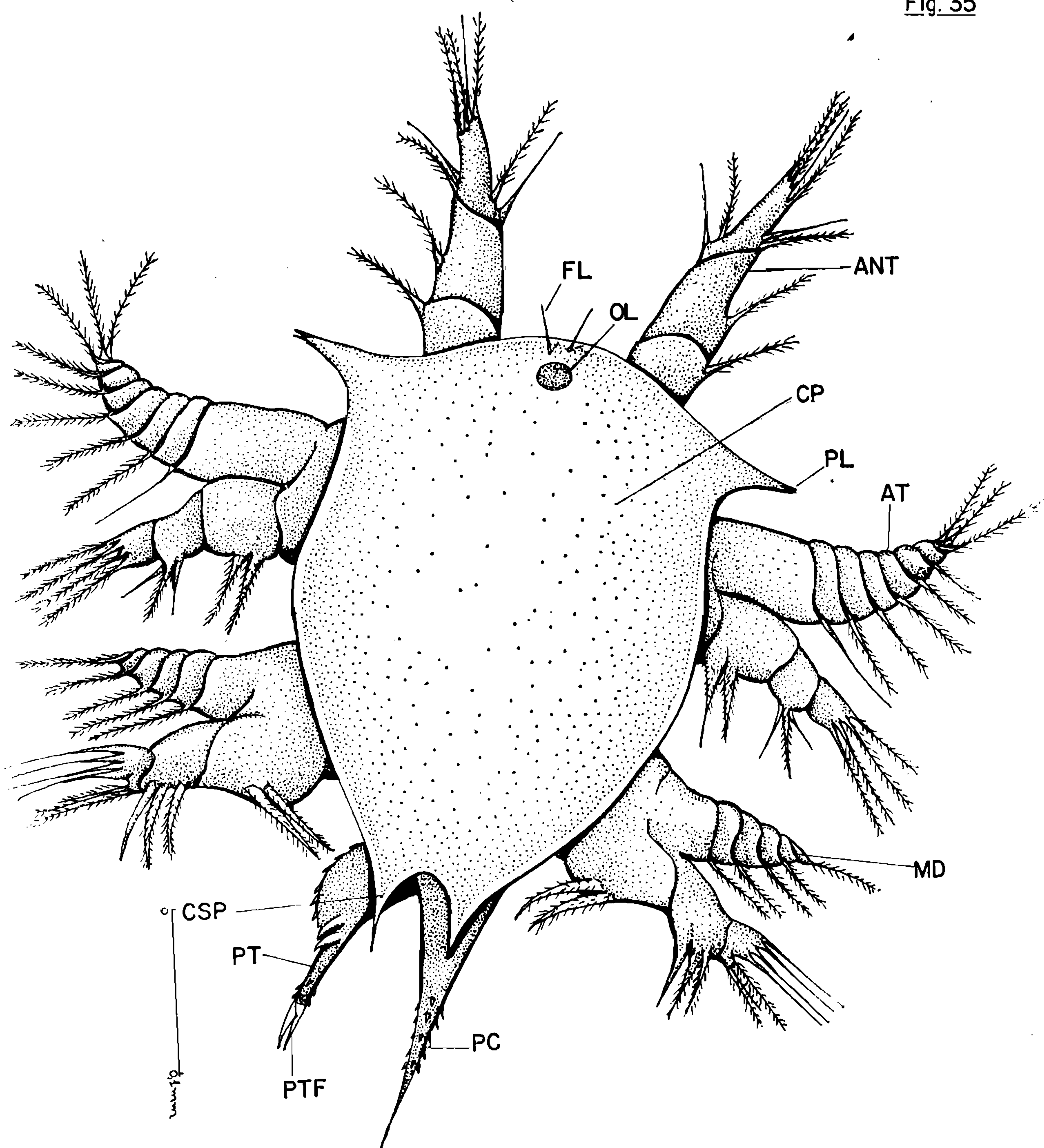


Fig. 35 — Vista detalhada do 4.º estágio do *Balanus amphitrite* var. *amphitrite*. CSP - prolongamento da carapaça; FL - filamentos frontais; OL - olho; PL - prolongamento lateral.

As antênulas (fig. 38) mostram 2 setas pré-apicais (SX), pertencentes ao 1.^o artículo, sendo que uma possui sétulas e a outra não. Três das setas terminais apresentam-se com sétulas e uma sem sétulas. Nas duas setas post-

apicais implantadas na base do 1.^o segmento antenular, uma tem sétulas e a outra não. O 2.^o artículo tem uma seta com sétulas, o mesmo se repetindo no 3.^o segmento. A fórmula da setação é: 1:1:4:2:1:1.



Fig. 36 — Vista ventral do 4.^o estágio.

Fig. 37 — Vista dorsal do 4.^o estágio.

As antenas (fig. 39) mostram o exopodito com 9 setas, em que, apenas uma, é isenta de sétulas. No endopodito há o aparecimento de mais uma cerda na extremidade e, todas revestidas de sétulas. A seguir, temos 3 cerdas sendo uma mais robusta que as demais e com sétulas. O 3.^o artículo do endopodito mostra 2 grossas cerdas com sétulas, e o segmento seguinte, 3 cerdas, sendo 2 com sétulas. O processo espinhoso (G) apresenta um tufo de 5 finas e curtas cerdas;

possui também 3 longos e quitinizados espinhos fortes, que delimitam um pequeno espinho, mas, a fórmula da setação das antenas é: 0:2:7 - 0:4:3:2:3:G.

As mandíbulas (fig. 40) possuem 5 cerdas com sétulas no exopodito, aproximadamente do mesmo comprimento. O endopodito tem mais uma seta na extremidade formando um total de 4 longas e finas cerdas sem sétulas. O 2.^o artículo do endopodito não se modifica em relação ao nú-

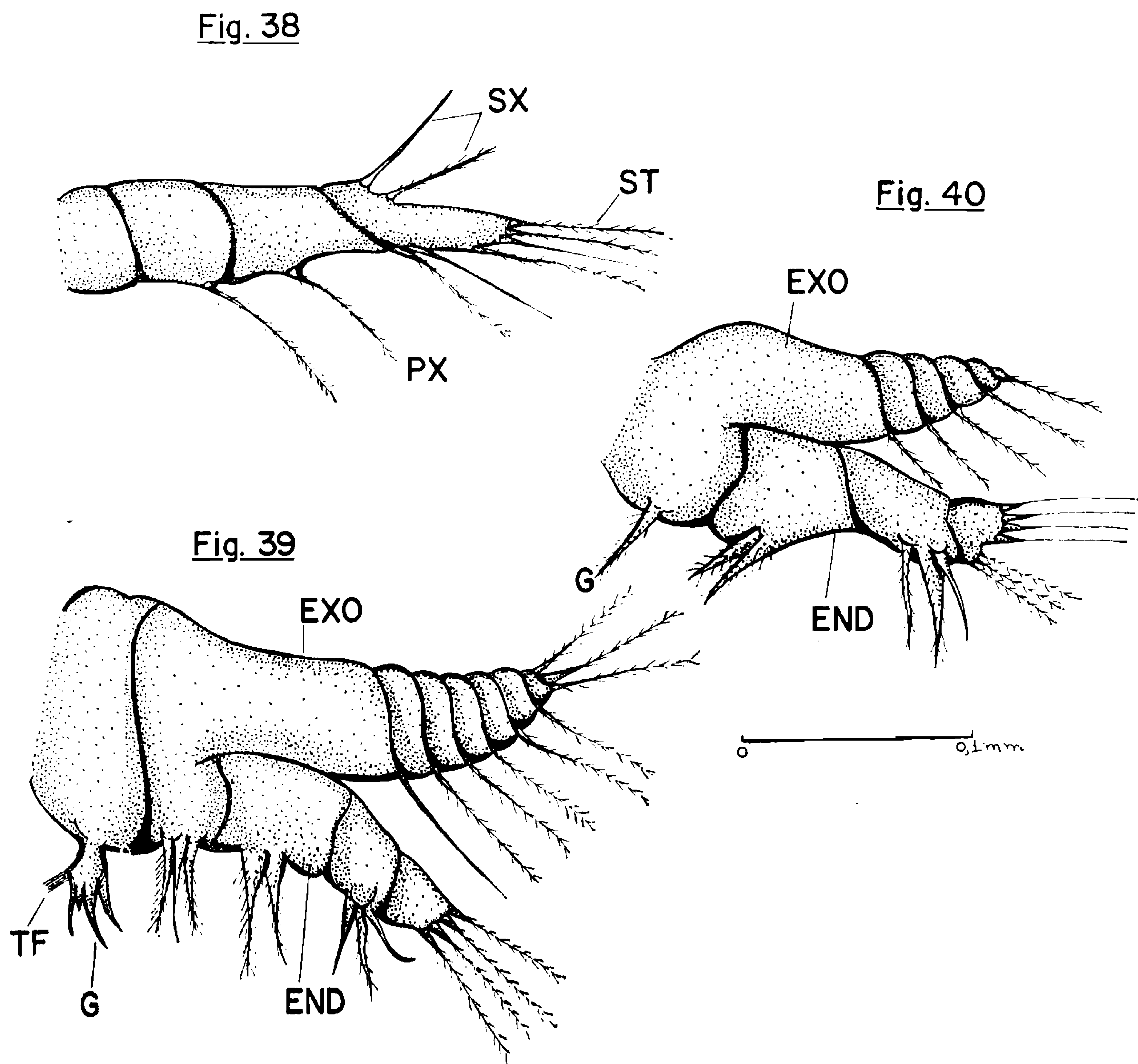


Fig. 38 — Detalhes das antênulas. PX - setas post-axiais; ST - setas; SX setas pré-apicais.

Fig. 39 — Vista detalhada das antenas. TF - Tufos.

Fig. 40 — Vista geral das mandíbulas.

mero das setas, mas sim, pelo espessamento de uma das setas com sétulas. No segmento seguinte as 2 setas têm sétulas e, finalmente, o G, na base da mandíbula, permanece igual ao estágio III de Nauplii. A fórmula de setação é: 0:1:4 - 0:4:3:3:2:G.

O prolongamento caudal do abdômen (fig. 41), além dos curtos espinhos já existentes em estágios anteriores, vai apresentar apenas curtos e indiferenciados espinhos laterais. O processo terminal, além de menor,

tem novo par de espinhos fortes, que se destaca dos demais curtos.

O labrum (fig. 42) não apresenta modificações morfológicas acentuadas.

O comprimento total deste animal no estágio IV é de 0,40 mm. A carapaça tem 0,31 mm de comprimento por 0,24 mm de largura.

A duração da IV fase é limitada até ao 7.^o dia, quando então, o animal faz nova muda, atingindo ao estágio V.

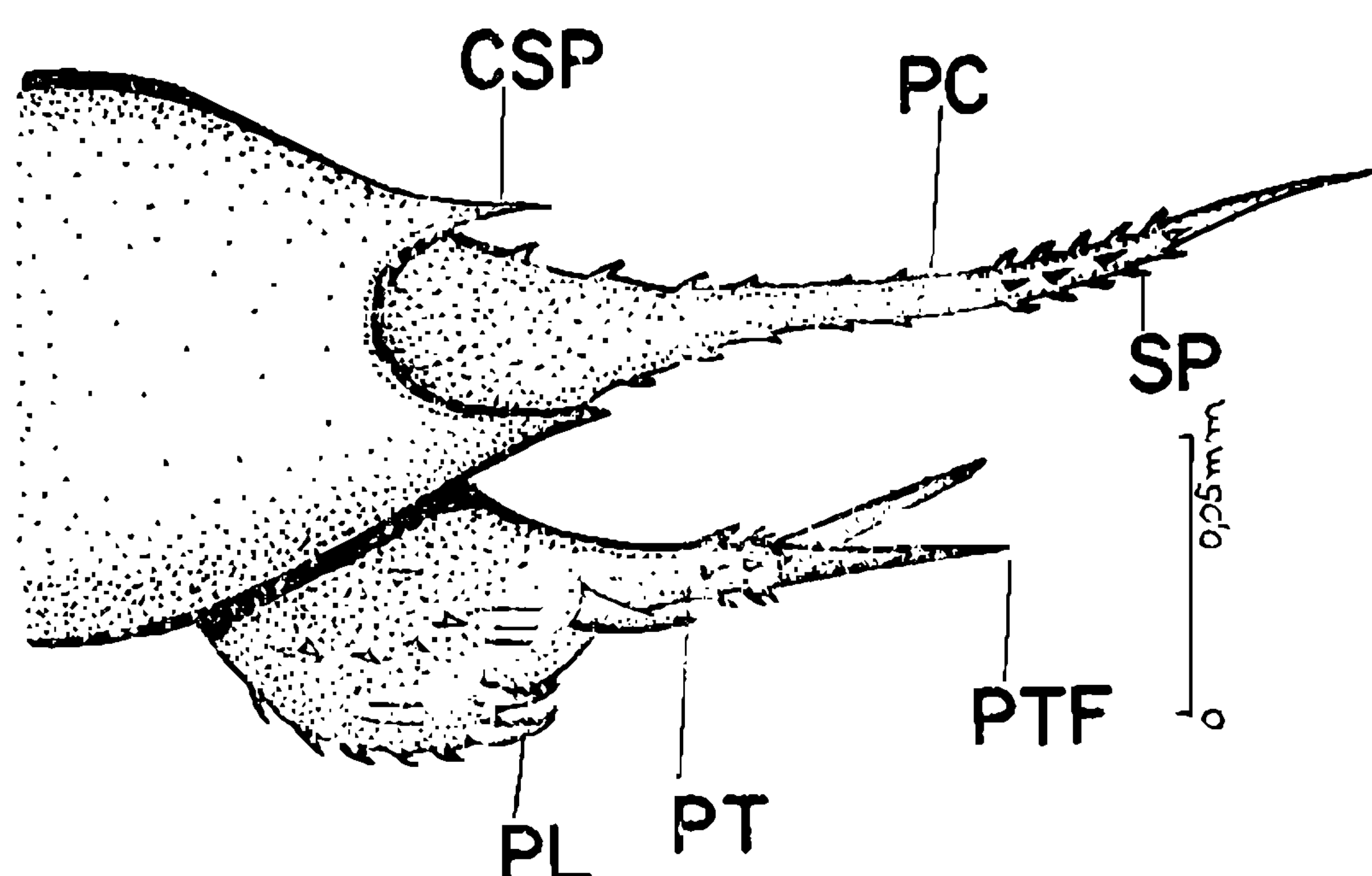
Fig. 41

Fig. 41 — Detalhes do final do corpo do Nauplius. CSP - prolongamento da carapaça; PC - processo caudal; PL - processo lateral; PT - processo terminal; PTF - filamento do processo terminal; SP - espinho.

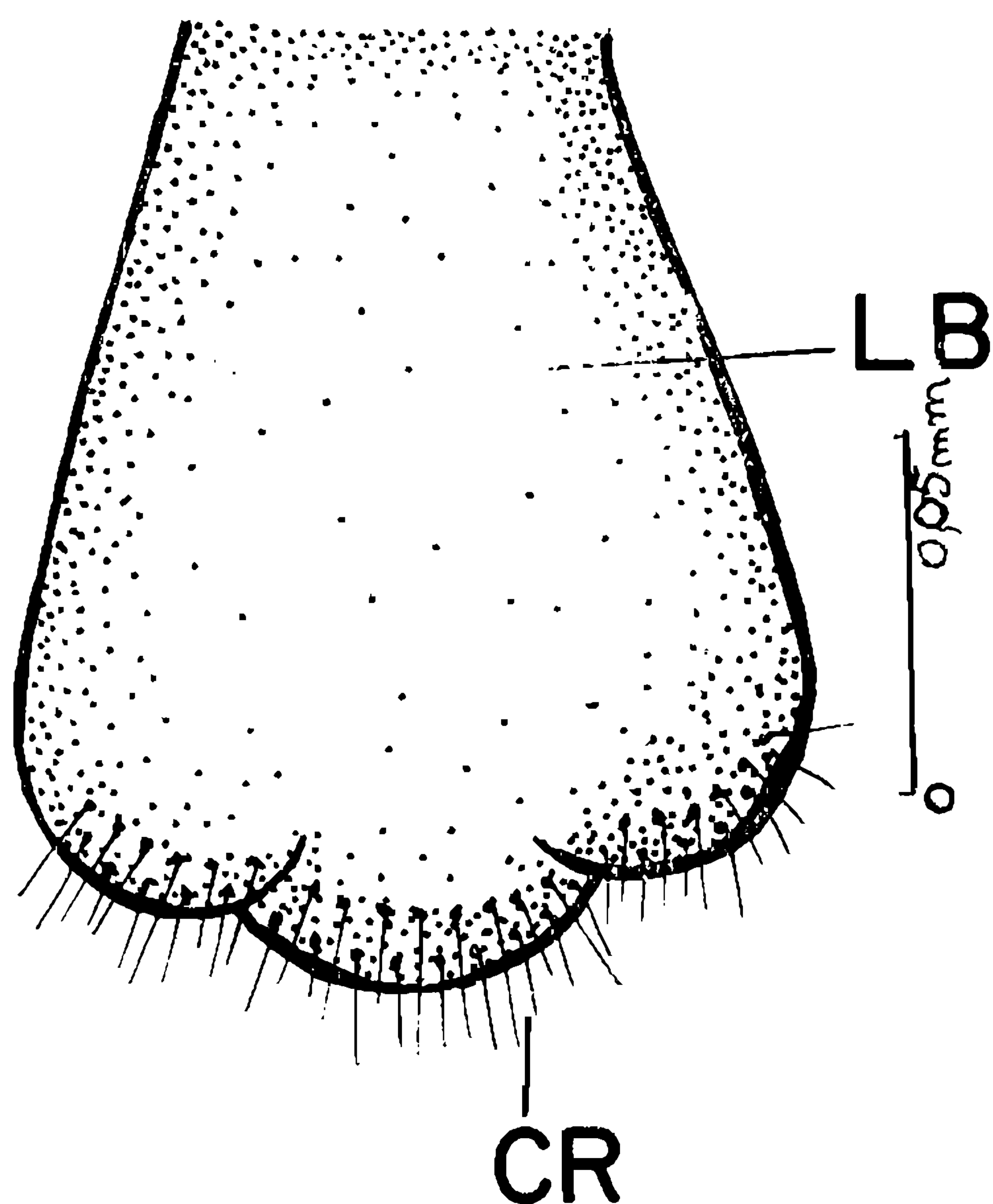
Fig. 42

Fig. 42 — Vista geral do labrum com cerdas (CR).

Estágio V (figs. 43, 44 e 45). A carapaça é mais larga que na fase anterior de Nauplii; entretanto, os prolongamentos laterais são mais curtos. Na fig. 43 apresentamos o desenho deste estágio, ressaltando seus detalhes, enquanto que na figura seguinte (44) temos uma microfotografia deste estágio. Nesta, observamos os sulcos profundos no processo terminal, bem como a formação de novos espinhos.

As antênulas (fig. 45) possuem 5 setas pré-apicais (SX) sendo duas pertencentes ao segmento final, e uma no 2.^o artículo antenular. Destas três pré-apicais, apenas uma seta apresenta sétulas, que corresponde à mesma, que aparece desde o 4.^o estágio de Nauplii. As cerdas terminais (ST) não se alteram quanto ao número, sendo 4 longas e finas e, apenas uma, isenta de sétulas. As cerdas post-apicais (PX) aumentam para 5, inserindo-se duas no 2.^o artículo da antênula. Três destas não têm sétulas. A fórmula da setação é: 1:1:1:4:2:1:1:1.

As antenas (fig. 46) possuem agora no exopodito 11 setas sendo que, apenas uma, corresponde ao último segmento antenal e é desprovida de sétulas.

No endopodito vemos 5 cerdas mais curtas que as observadas no exopodito, porém, todas com sétulas. No segmento seguinte temos 2 setas com sétulas e uma sem sétulas. Logo após a disposição no 3.^o artículo, é idêntica à do 4.^o estágio, isto é, 2 grossas setas com sétulas. O 4.^o segmento apresenta mais uma fina seta com sétulas, formando um total de 4 cerdas, sendo uma bem maior e mais grossa que as demais. O processo espinhoso (G) é acrescido de alguns curtos espi-

Fig. 43

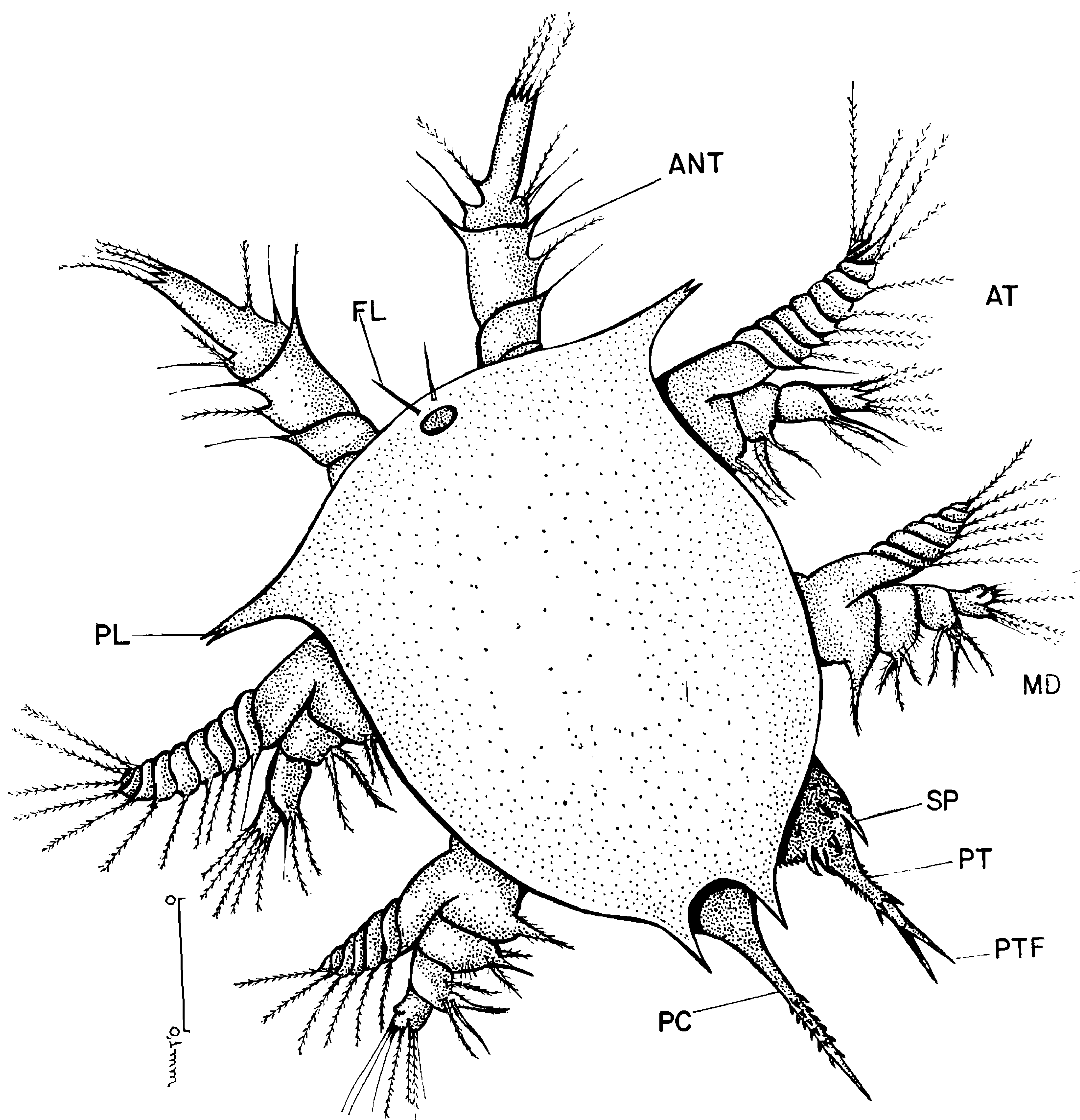


Fig. 43 — Nauplius do 5.^o estágio; AT - antenas; ANT - antênulas; FL - filamentos frontais; MD - mandíbula; PC - processo caudal; PL - prolongamento lateral; PT - processo terminal do abdômen; PTF - prolongamento terminal do abdômen; SP - espinho.

nhos, e os dentes são mais longos do que no estágio anterior. A fórmula de setação é: 0:2:9 - 0:5:3:2:4:G.

O exopodito (EXO) das mandíbulas (fig. 47) apresenta 6 setas com sétulas. O segmento final do endopodito (END) mostra 7 cerdas apicais, sendo que apenas 3 têm sétulas. No

segmento mandibular seguinte, há o aparecimento de mais uma seta fina sem sétulas, o mesmo se repetindo no artículo próximo. O processo espinhoso (G) aumenta em espessura, em comparação àquele encontrado no estágio anterior. A fórmula de setação corresponde: 0:1:5 - 0:4:3:4:3:G.



Fig. 44 — Fotografia do 5.º estágio, mostrando seu aspecto geral.

O prolongamento caudal (figs. 48 e 49), além de mais curto, apresenta alguns diminutos espinhos mais do que na fase anterior. O processo terminal abdominal (PT) mostra sulcos bem nítidos (veja fig. 48), que correspondem, posteriormente, aos cirros dos Balanídeos. Os espinhos são mais numerosos.

O labrum (fig. 50) apresenta todos os seus lóbulos revestidos de maior número de finas cerdas.

O comprimento total do animal é de 0,39 mm, a carapaça tem 0,33 mm de comprimento por 0,25 mm de largura. A duração deste estágio é de 9 a 11 dias.

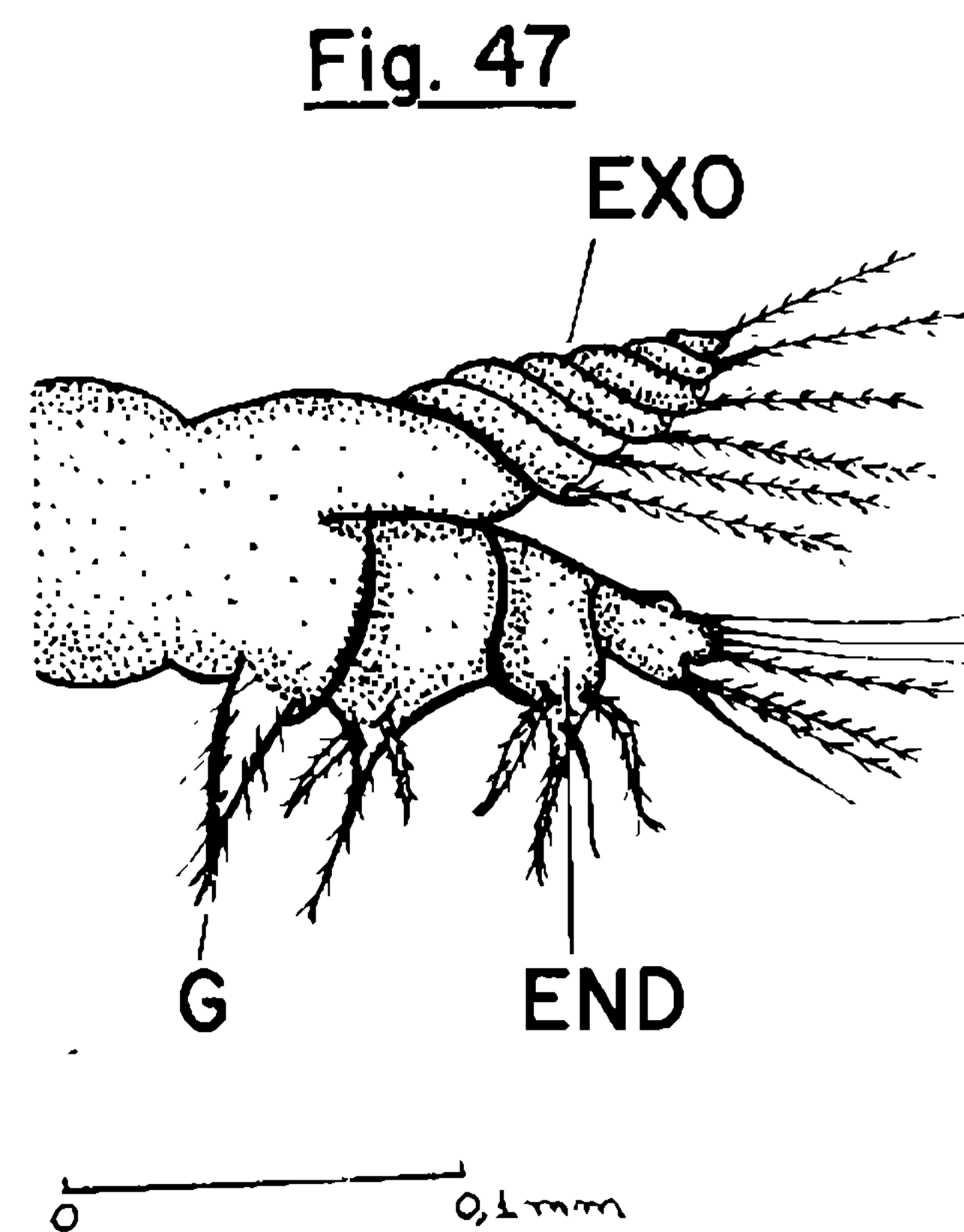
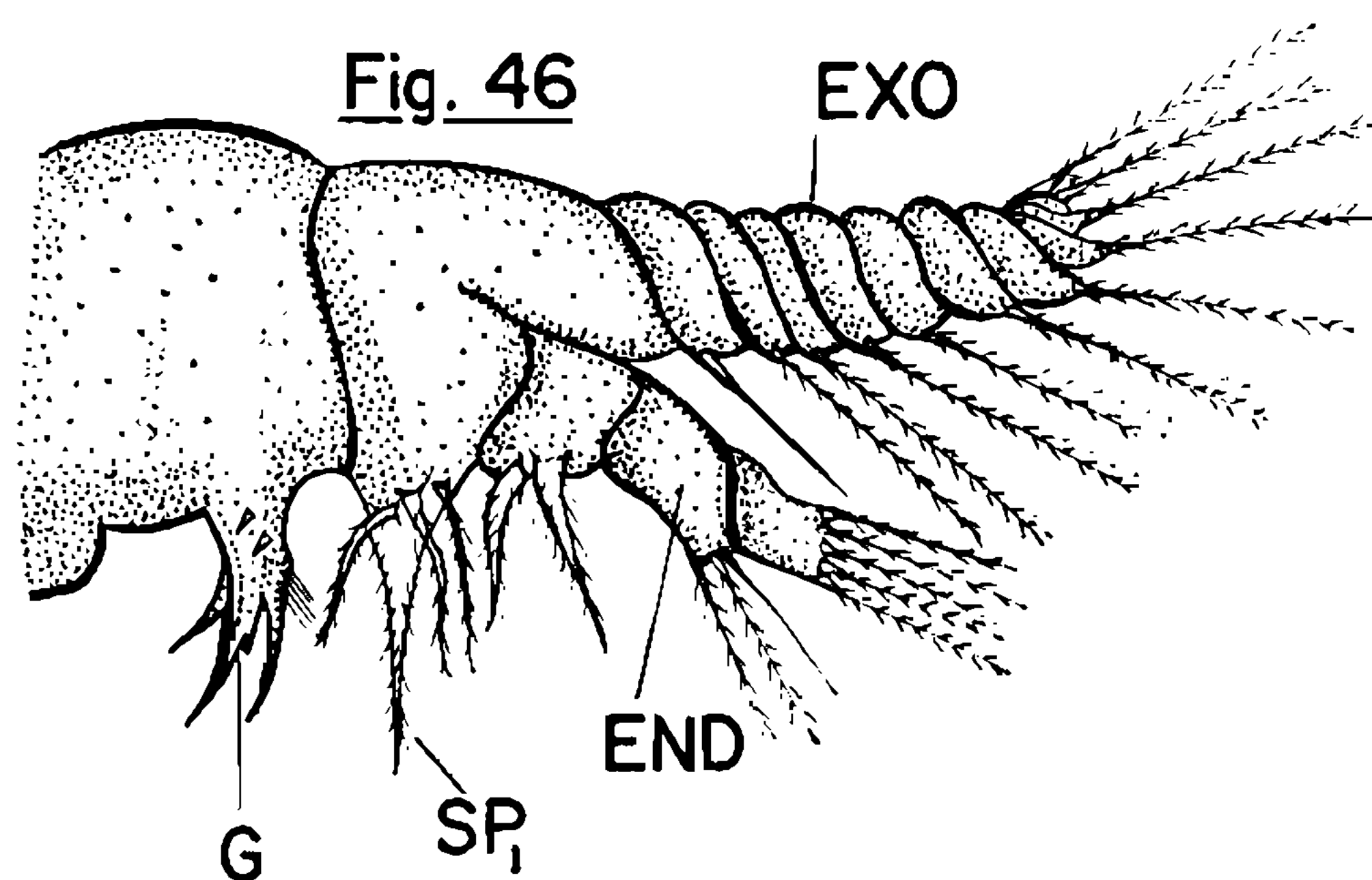
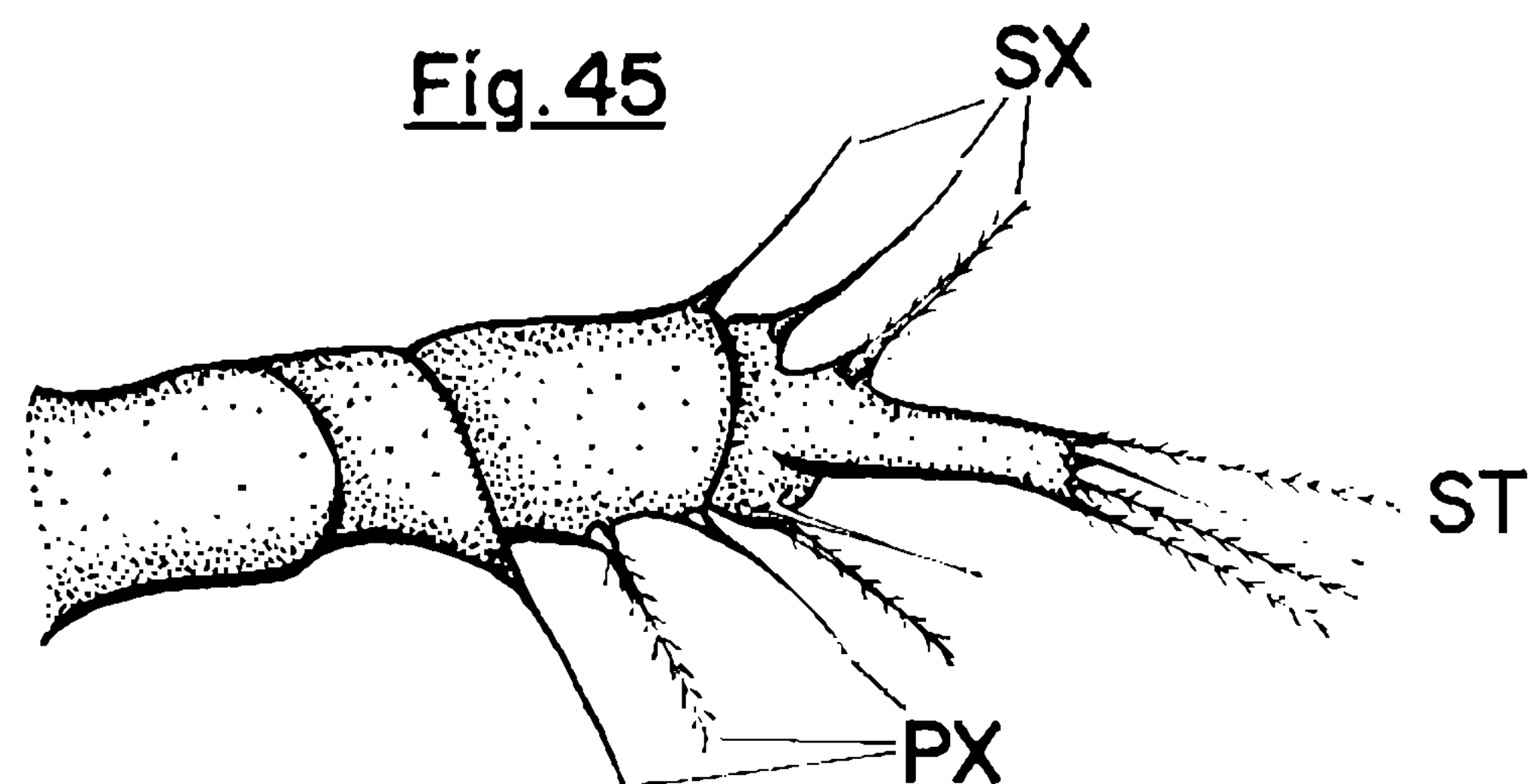


Fig. 45 — Antênula do 5º estágio

Fig. 46 — Antena

Fig. 47 — Mandíbula

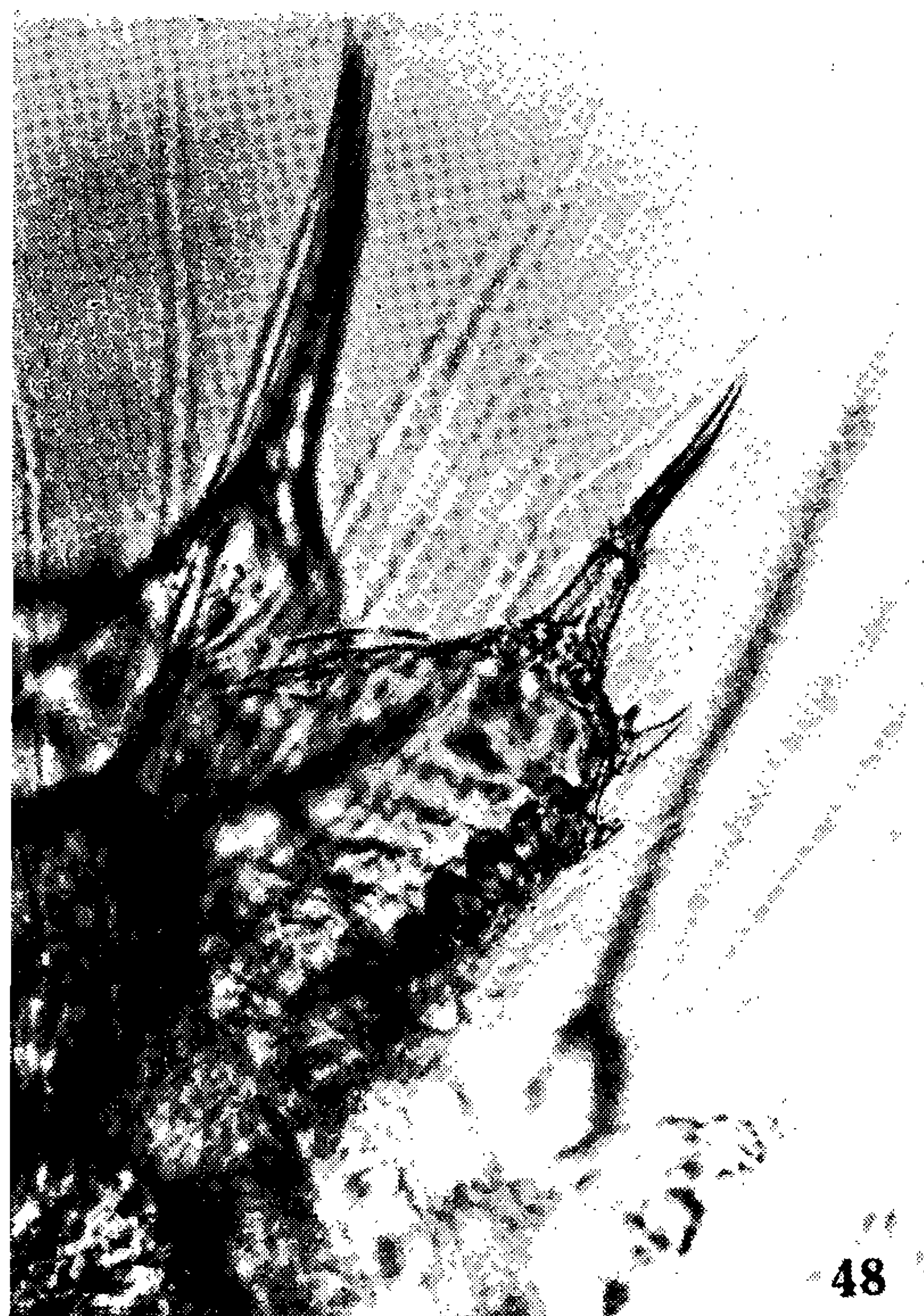


Fig. 48 — Detalhes da região caudal do Nauplius do 5º estágio.

Fig. 49

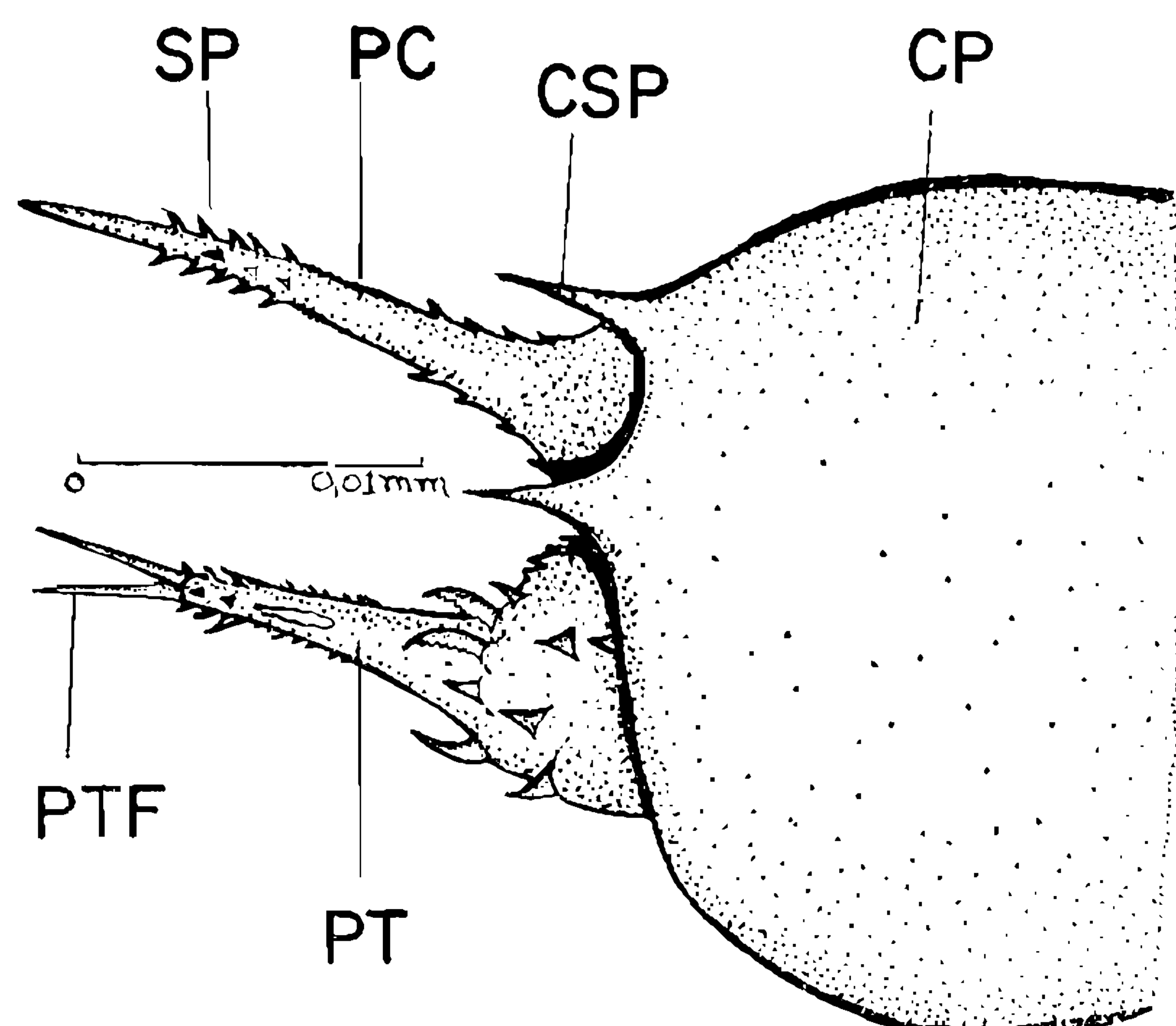


Fig. 49 — Desenho da região caudal e abdominal.

Fig. 50

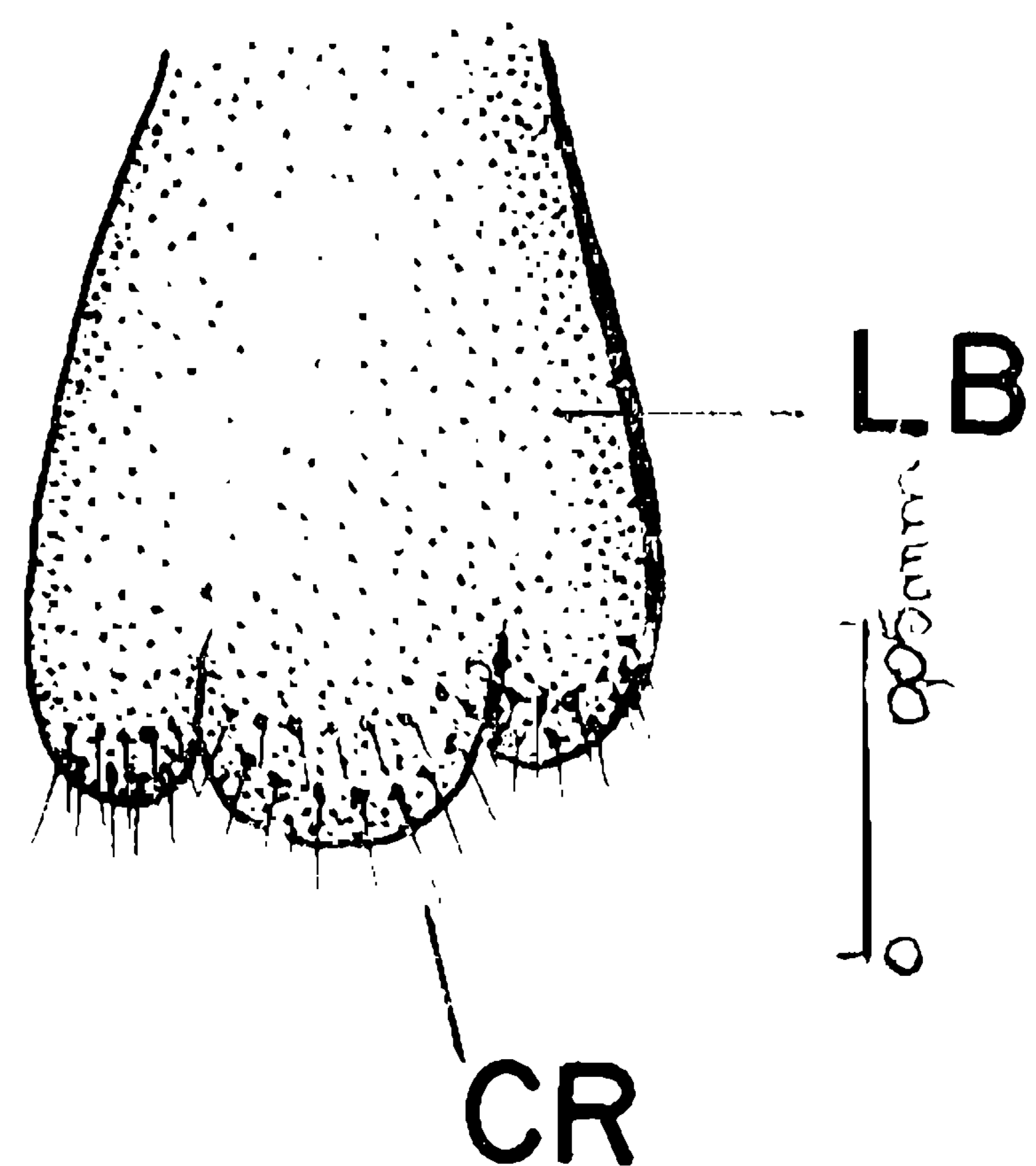


Fig. 50 — Labrum.

Estágio VI (figs. 51, 52 e 53). Este último estágio de Nauplius de *Balanus amphitrite* var. *amphitrite* apresenta bem nítidas as 3 manchas oculares (OC), além de acentuada curvatura dorso-ventral da carapaça (figs. 52 e 53).

Os prolongamentos laterais são mais curtos, tais como os posteriores da carapaça.

As antênulas (fig. 54) apresentam 3 cerdas pré-apicais (SX) sendo somente uma com sétulas; 4 setas api-

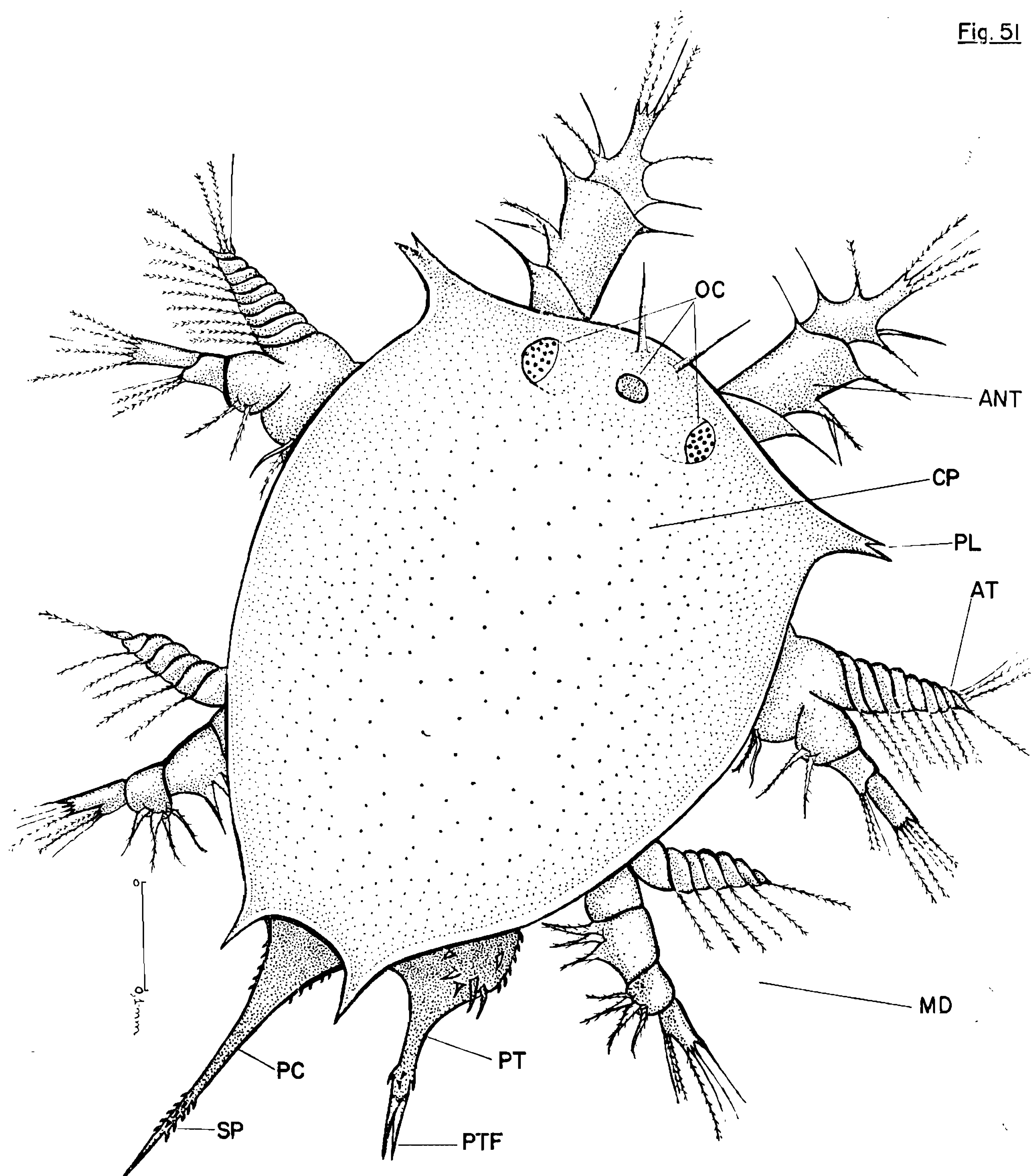


Fig. 51 — Aspecto geral do Nauplius de *Balanus amphitrite* no 6.º estágio, AT - antena; ANT - antênula; CP - carapaça; MD - mandíbula; OL - olho; PC - processo caudal; PL - prolongamento lateral; PT - prolongamento terminal; PTF - filamento do processo lateral.



52



53

Fig. 52 — Aspectos fotográficos do Nauplius VI.
 Fig. 53 — Aspectos fotográficos do Nauplius VI

cais sendo uma sem sétulas (ST) e, finalmente, 6 cerdas post-apicais (PX), algumas com e outras sem sétulas (veja fig. 54). A fórmula da setação corresponde: 1:1:1:4:2:1:2:1.

As antenas (fig. 55) apresentam o exopodito com 11 cerdas com sétulas e 1 sem sétulas. No endopodito, o segmento apical possui 5 setas. 4 com sétulas, e nos demais artículos, repete-se igual disposição das setas e sétulas, vista no 5.^o estágio. O processo espinhoso (G) apresenta um dente serrilhado, localizado na reentrância

lateral. A fórmula da setação é: 0:3:9 - 0:5:3:2:4:G.

As mandíbulas (fig. 56) mostram 6 setas com sétulas no exopodito (EXO) e a disposição de setas no endopodito é igual à do 5.^o estágio. O processo espinhoso (G) é maior que o da fase anterior. A fórmula da setação é: 0:1:5 - 0:4:3:4:3:G.

O processo caudal (fig. 57) é curto com destacados espinhos. No prolongamento abdominal terminal (PT) aparecem espinhos maiores e bem pronunciados.

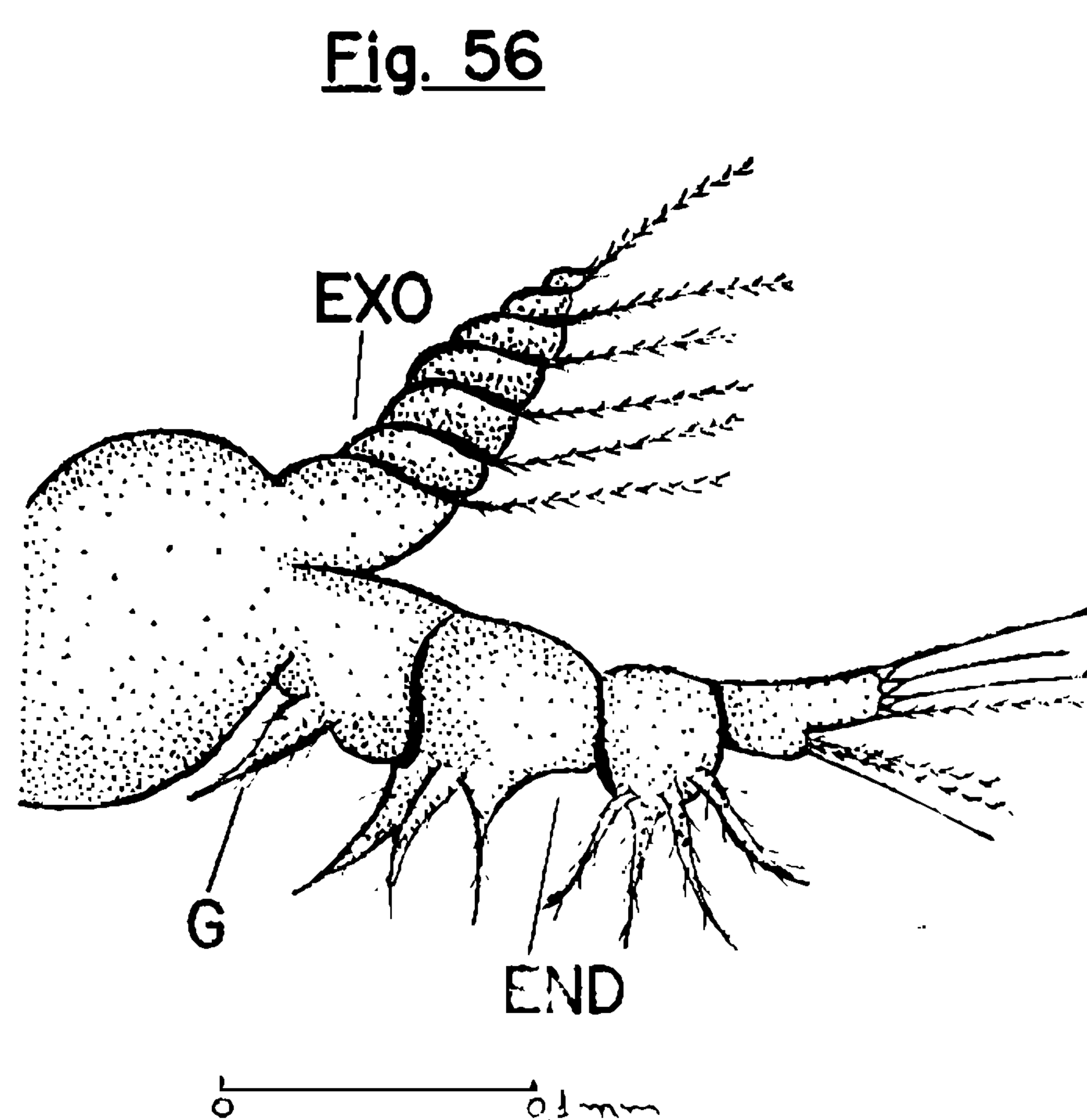
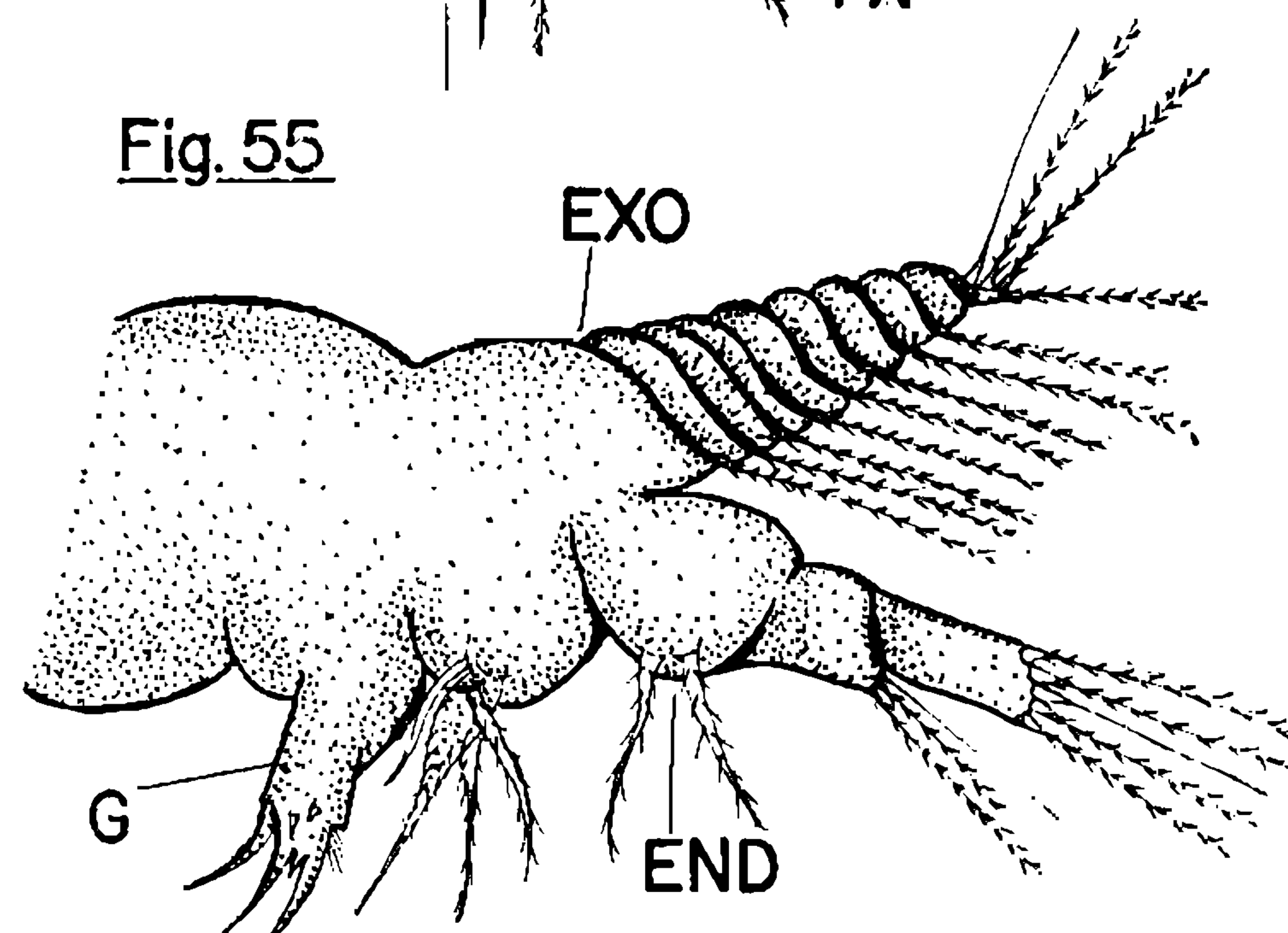
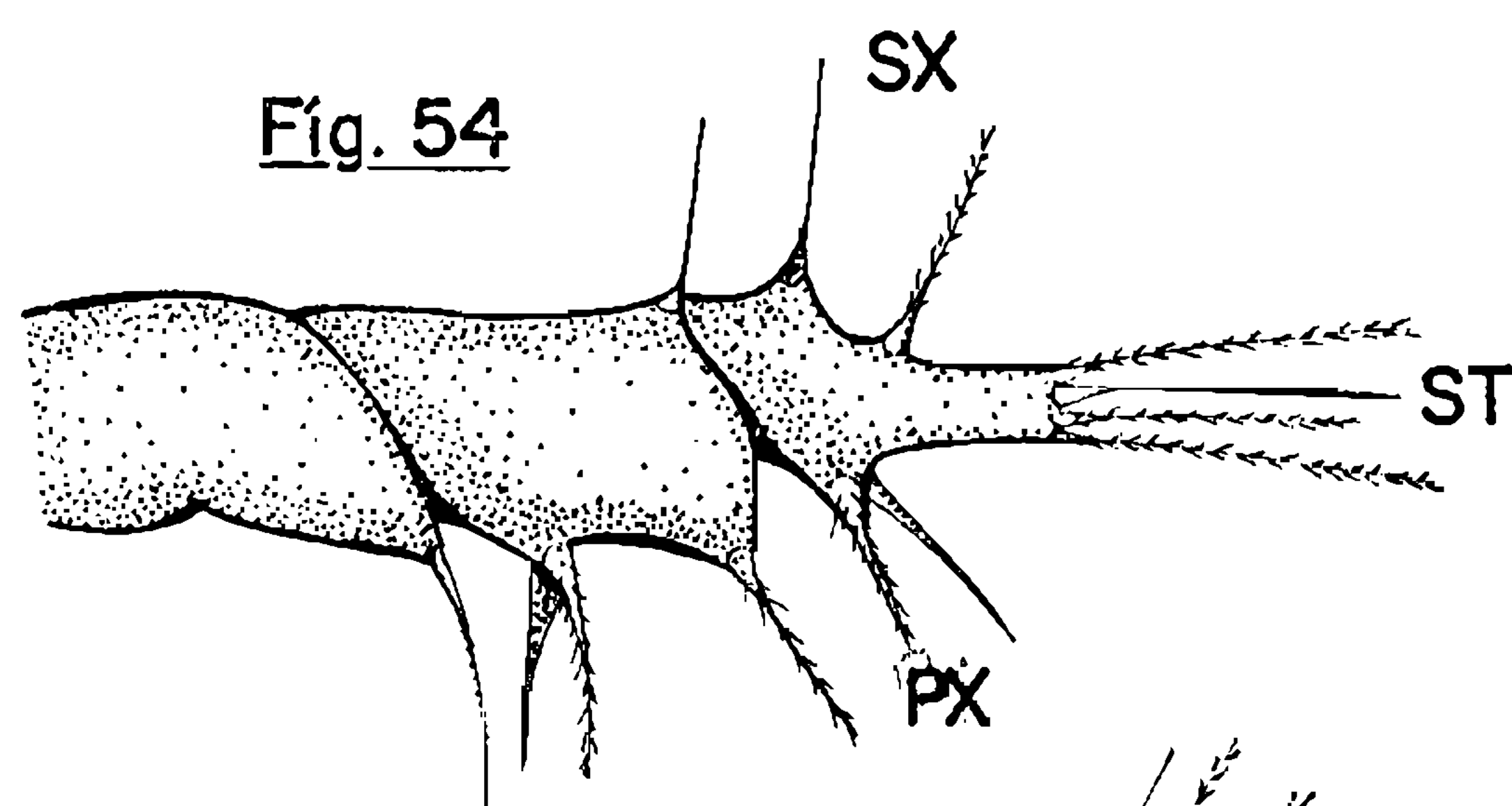


Fig. 54 — Detalhes da antênula.
PX - post-apicais; SX - pré-apicais; ST - apicais.

Fig. 55 — Detalhe da antena.

Fig. 56 — Detalhe da mandíbula.

O labrum apresenta algumas modificações (fig. 58). O comprimento total do corpo é: 0,46 mm. A carapaça mede de comprimento 0,35 mm e de largura, 0,28 mm.

Este estágio aparece no 12.^o dia, passando após à fase de Cypris.

Estágio Cypris (figs. 50-60). Neste estágio grandes modificações morfológicas podem ser observadas (fig. 59). A carapaça se dobra, medianamente, chegando seus limites a quase se tocarem. O animal passa por intensa metamorfose, e, seu corpo, comple-

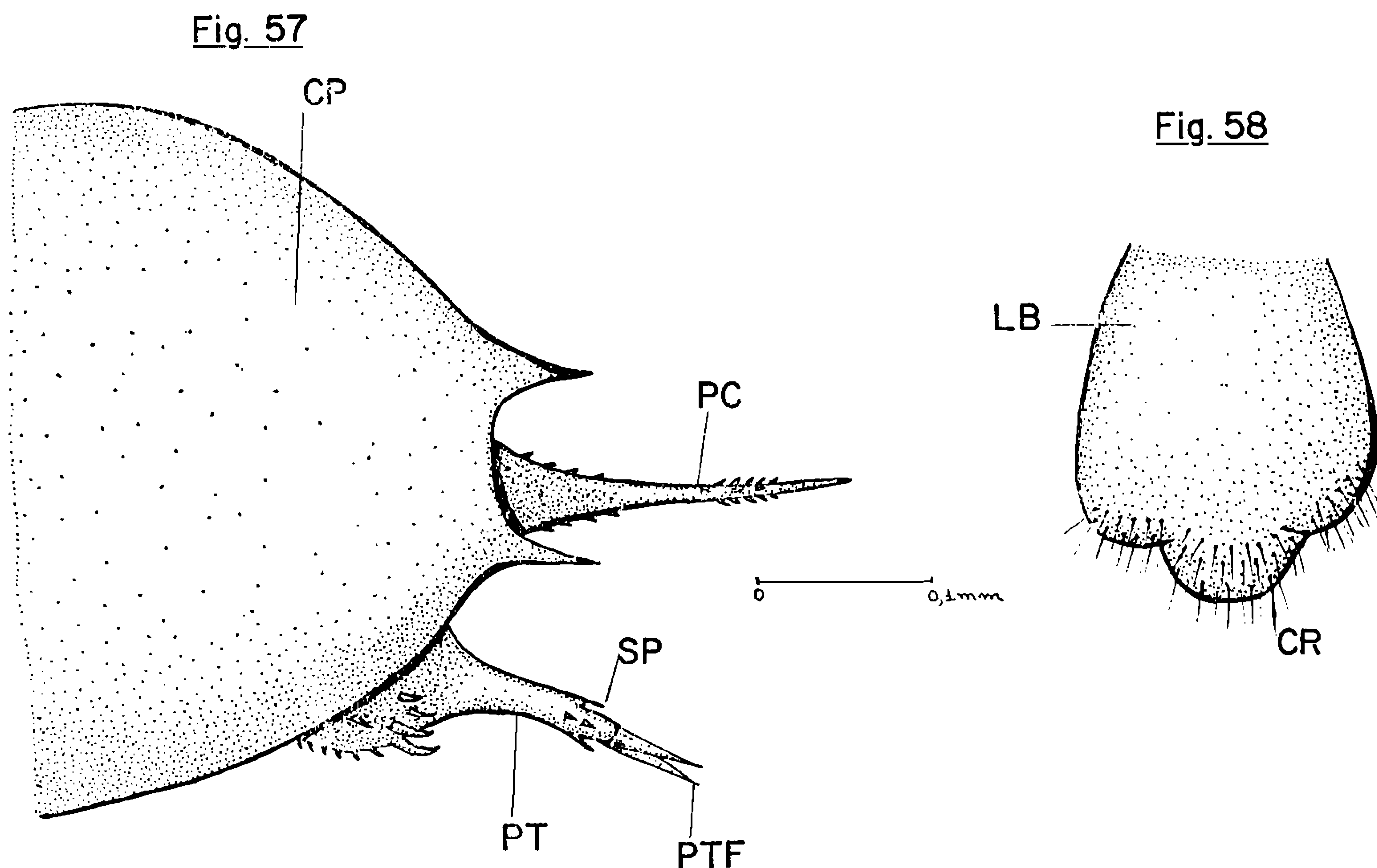


Fig. 57 — Vista geral da zona final da carapaça.
Fig. 58 — Labrum.

tamente modificado, fica recoberto pelas valvas assim originadas pelo dobramento da carapaça.

Através da fenda ventral (FV) da carapaça, os **Cypris** emitem os cirros (CIR), cone bucal e as antênulas (figs. 60-61) e, assim “caminham” por curto período no substrato. Após minucioso exame local feito pelos micropelos do disco adesivo, situado na extremidade das antênulas, o animal secreta uma pequena porção do cimento (fig. 62). Este vai fixá-lo para o resto da vida ao substrato. O **Cypris** permanece fixo quando então passa por uma intensa metamorfose formando o *Balanídeo jovem*. O número aproximado de **Cypris** que se fixou à parede do *becker* foi de 120 indivíduos.

Balanídeos jovens. Após 3 dias à fixação e à metamorfose dos **Cypris** à

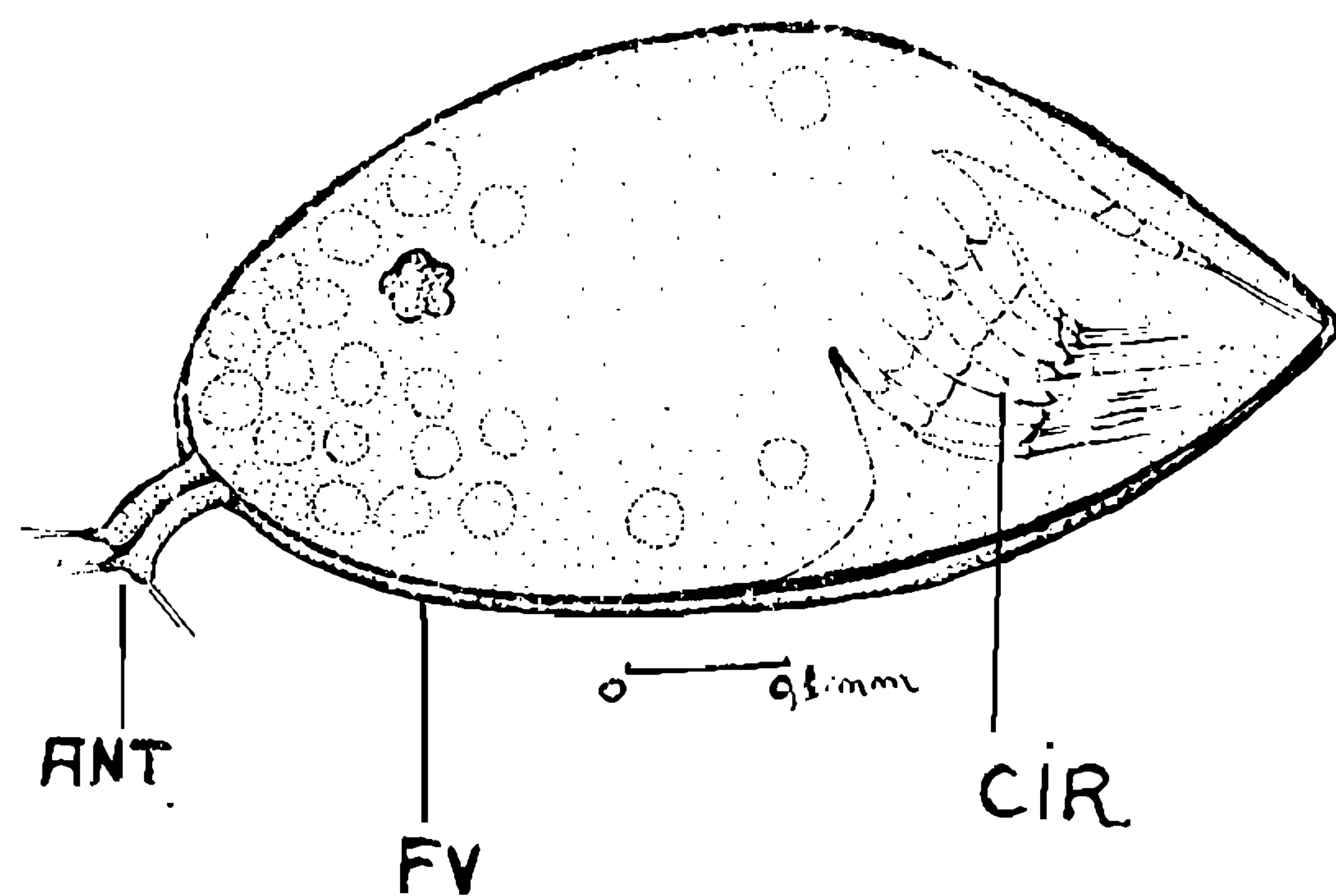
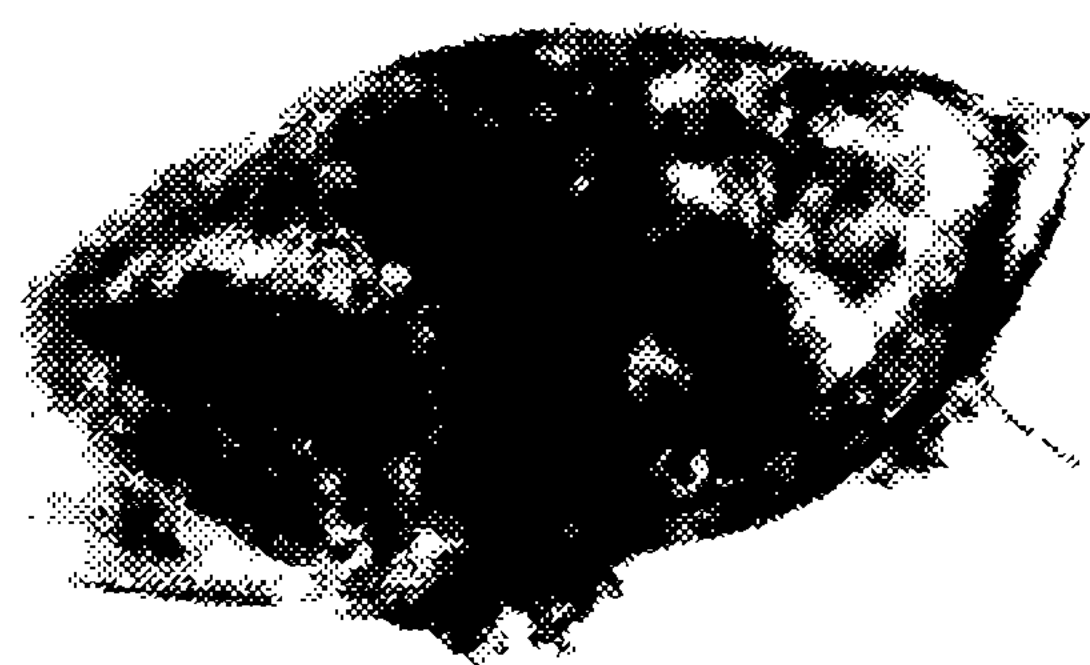


Fig. 59 — Esquemática de um **Cypris**.
ANT - antênula; CIR - cirros;
FV - fenda ventral.

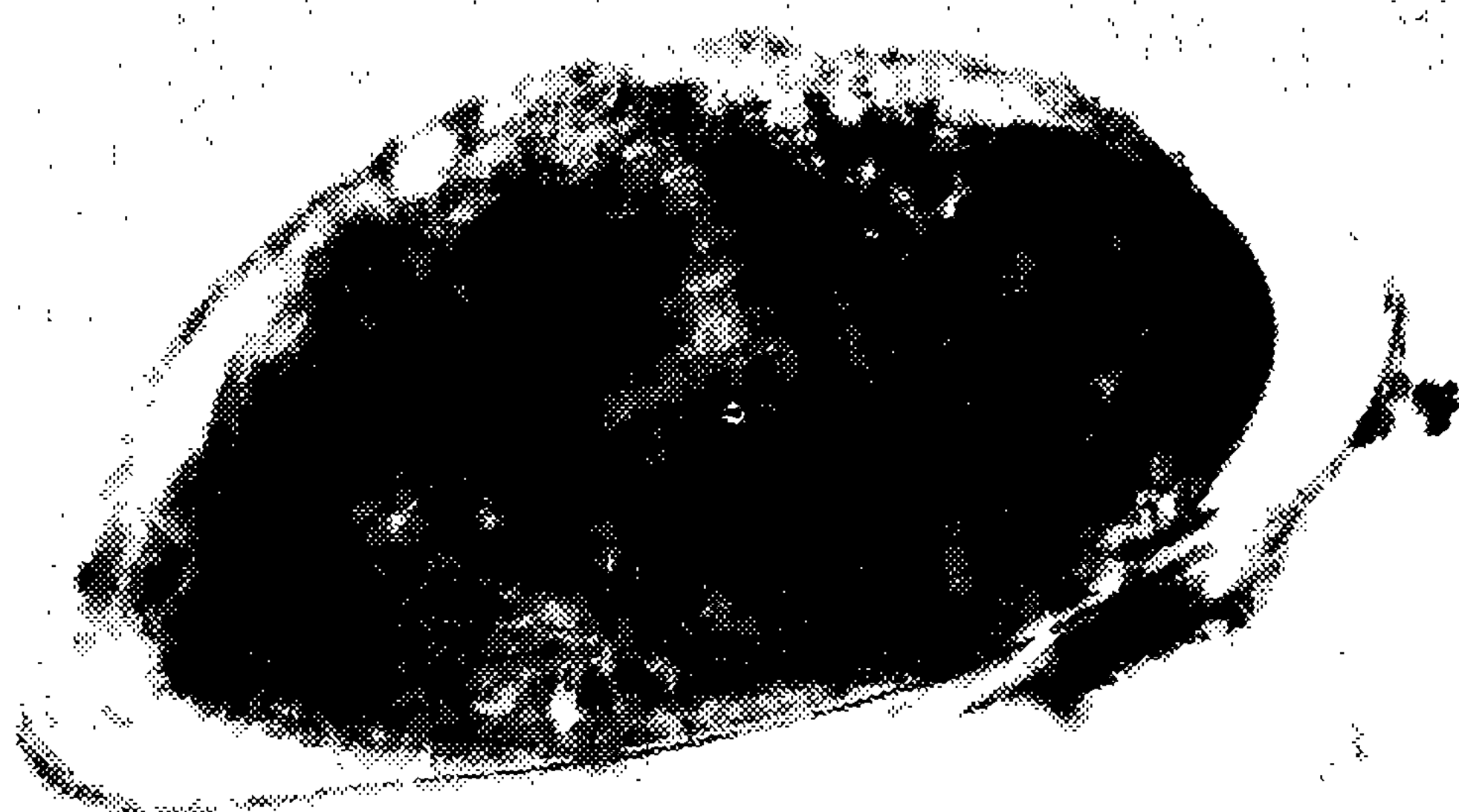
parede do *becker*, passamos a observar a criação e o crescimento dos pequenos balanídeos. Esta observação foi feita com auxílio de um microscópio estereoscópio com coluna móvel (fig. 63).



60



61



62

Fig. 60 — Fotografia em luz polarizada de Cypris, na fase livre.

Fig. 61 — Fotografia em luz polarizada de Cypris, na fase livre.

Fig. 62 — Cypris, na fase fixa.

O agrupamento maior de balanídeos em uma região da parede do *becker* (fig. 64), facilitou-nos estudar a velocidade de crescimento destes

animais entre si (fig. 65). Notamos, com relativa facilidade, a base destes animais cimentados e, a formação e expansão dos canais circulares e ra-

diais, bem como ainda, a calcificação das colunas laterais da carapaça (fig. 66).

Durante a troca diária de água e de alimento, observamos o movimento rítmico dos cirros na captura das algas.

Mantivemos esta criação de *Balanus amphitrite* var. *amphitrite* em laboratório por um período de 3 meses, quando então, a eliminamos, para dar início a nova criação. A percentagem de animais vivos durante este período foi de 60%.

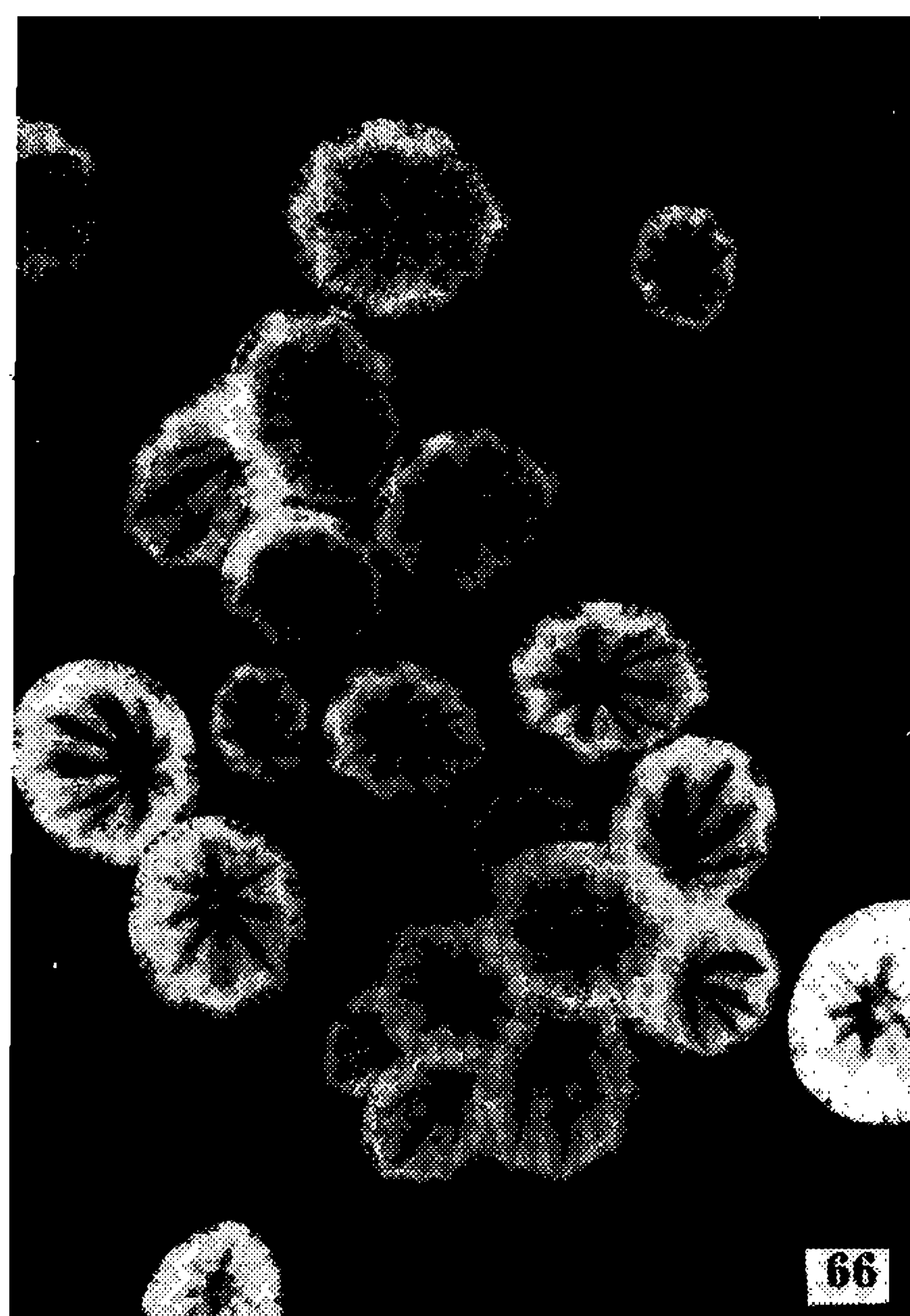
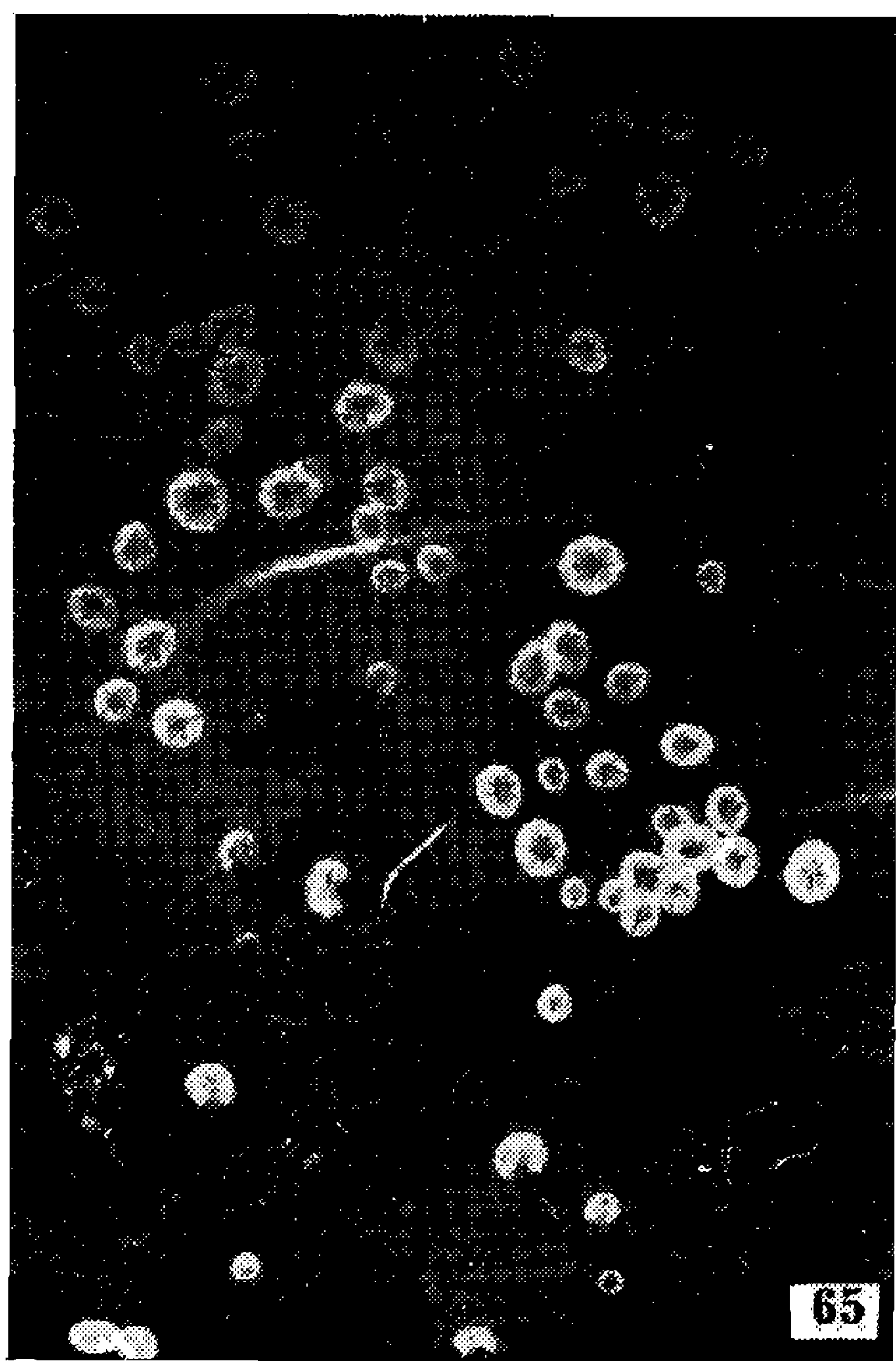
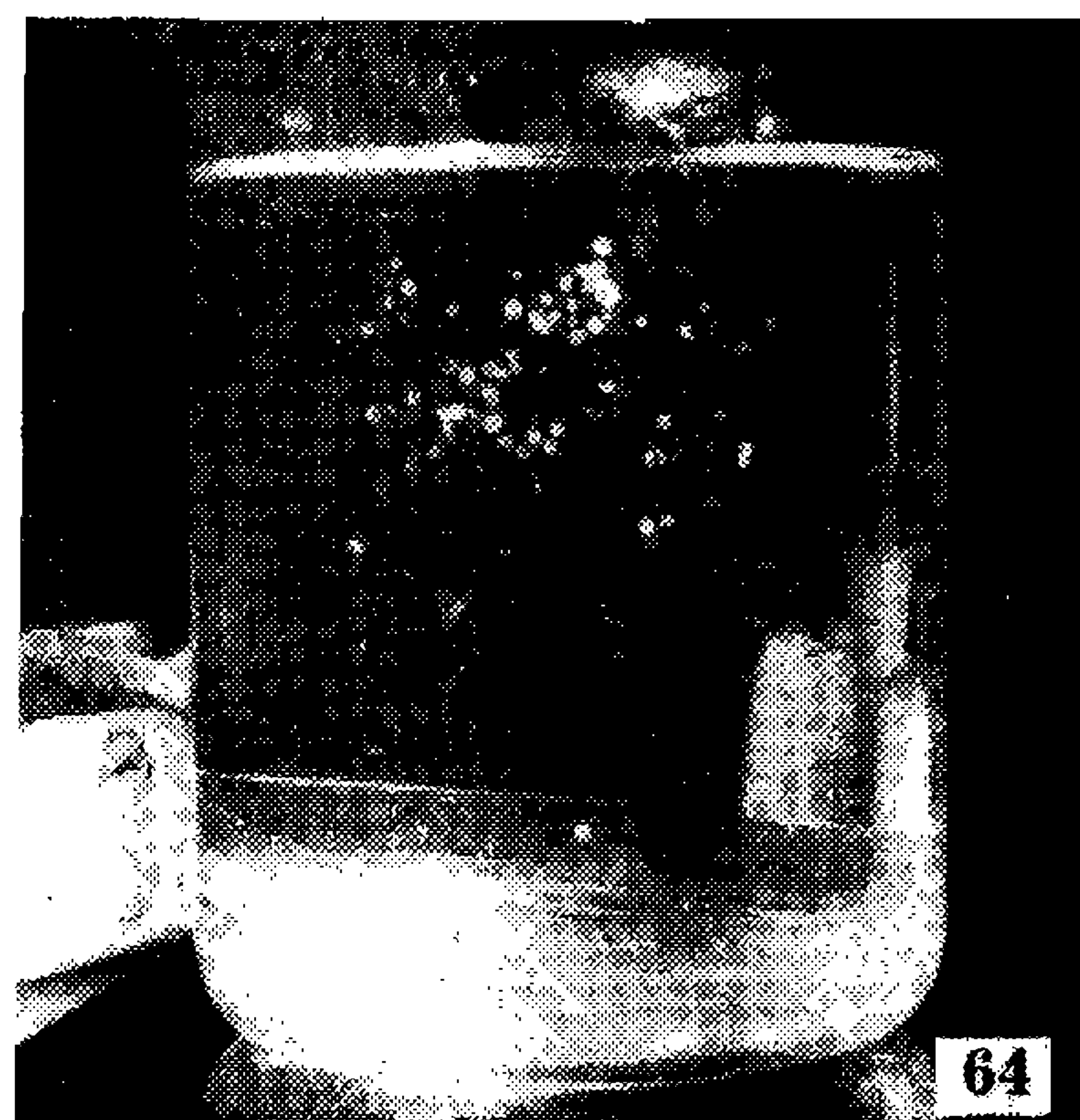
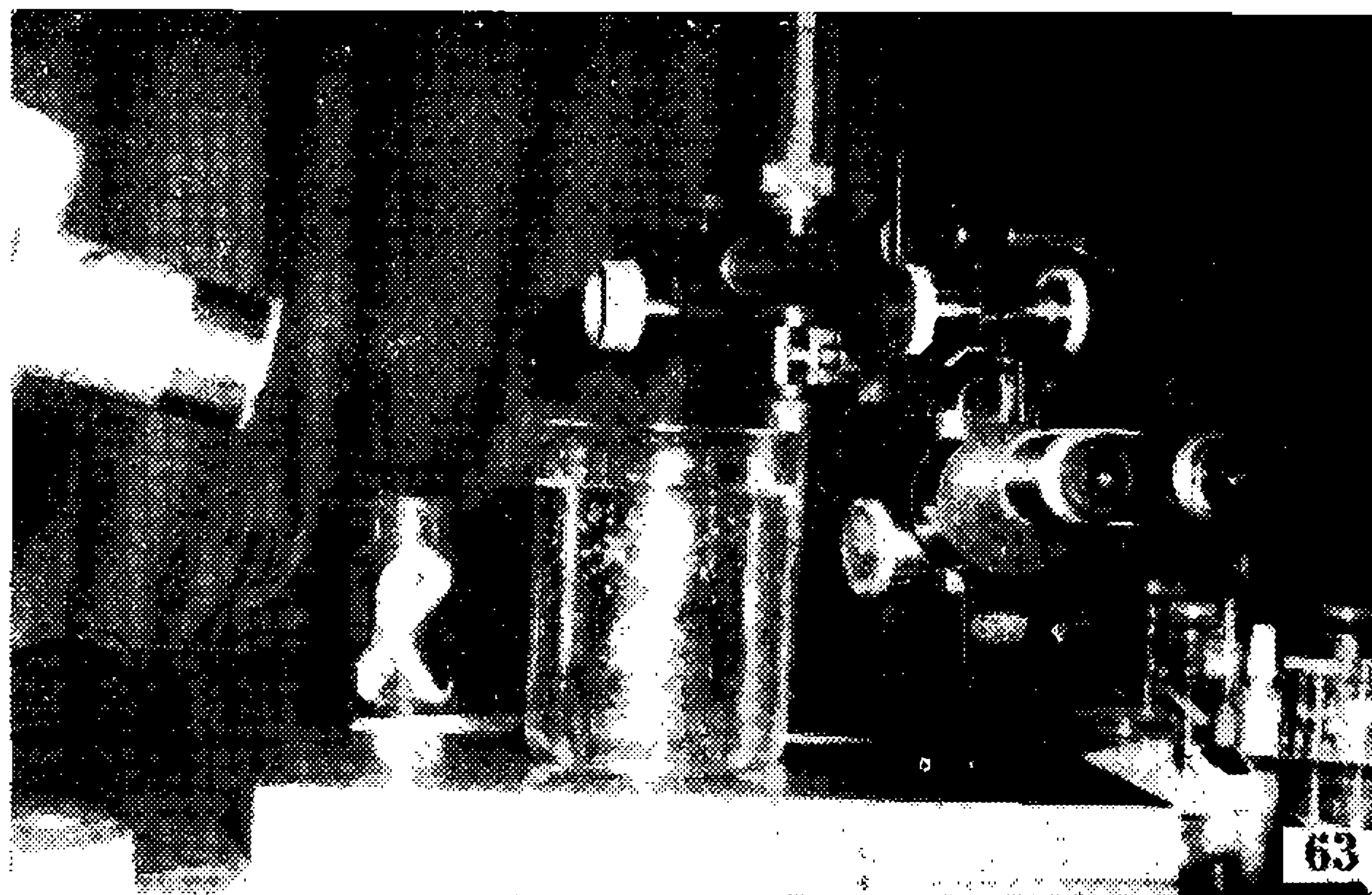


Fig. 63 — Vista geral da análise e estudo do crescimento dos Balanídeos fixos à parede do vidro.

Fig. 64 — Aspecto dos Balanídeos fixados à parede do becker.

Fig. 65 — Aspecto geral de suas bases calcáreas.

Fig. 66 — Idem, em aumento maior.

Estágio	Antênulas	Antenas	Mandíbulas
I			
B.a.d.	0.4.2.1.1	0.2.3-0.3.2.2.2G	0.1.3-0.3.2.2.2G
B.a.a.	0.4.2.1.1	0.1.4-0.3.2.2.2G	0.1.3-0.3.2.3.2G
B.a.h.	0.4.2.1.1	0.2.3-0.3.2.2.3G	0.1.3-0.3.2.3.3G
B.a.am.	0.4.2.1.1	0.2.3-0.3.2.2.2G	0.1.3-0.3.2.2.2G
II			
B.a.d.	0.4.2.1.1	0.2.5-0.3.2.2.3G	0.1.4-0.3.2.3.2G
B.a.a.	0.4.2.1.1	0.1.6-0.3.2.2.2G	0.1.3-0.3.2.3.2G
B.a.h.	0.4.2.1.1	0.2.5-0.3.2.2.3G	0.1.4-0.3.2.3.3G
B.a.am.	0.4.2.1.1	0.2.5-0.3.2.2.3G	0.1.4-0.3.2.3.2G
III			
B.a.d.	1.4.2.1.1	0.2.5-0.3.2.2.4G	0.1.4-0.3.3.3.2G
B.a.a.	1.4.2.1.1	0.1.6-0.3.2.2.3G	0.1.3-0.4.2.3.2G
B.a.h.	1.4.2.1.1	0.2.5-0.3.2.2.4G	0.1.4-0.3.3.3.3G
B.a.am.	1.4.2.1.1	0.2.5-0.3.2.2.3G	0.1.4-0.3.3.3.2G
IV			
B.a.d.	1.1.4.2.1.1	0.3.6-0.5.3.2.4G	0.1.4-0.4.3.4.3G
B.a.a.	1.1.4.2.1.1	0.2.7-0.4.3.2.3G	0.1.4-0.4.2.3.3G
B.a.h.	1.1.4.2.1.1	0.3.6-0.5.3.2.4G	0.1.4-0.4.3.3.3G
B.a.am.	1.1.4.2.1.1	0.2.7-0.4.3.2.3G	0.1.4-0.4.3.3.2G
V			
B.a.d.	1.1.1.4.2.1.1.1	0.3.8-0.5.3.2.4G	0.1.5-0.4.4.4.3G
B.a.a.	1.1.1.4.2.1.1.1	0.2.9-0.4.3.2.3G	0.1.5-0.4.2.3.3G
B.a.h.	1.1.1.4.2.1.1.1	0.3.8-0.5.3.2.4G	0.1.5-0.4.4.4.3G
B.a.am.	1.1.1.4.2.1.1.1	0.2.9-0.5.3.2.4G	0.1.5-0.4.3.4.3G
VI			
B.a.d.	1.1.1.4.2.1.2.1	0.4.8-0.5.3.2.4G	0.1.5-0.4.4.4.3G
B.a.a.	1.1.1.4.2.1.2.1	0.3.9-0.5.3.2.4G	0.1.5-0.4.2.4.4G
B.a.h.	1.1.1.4.2.1.2.1	0.3.9-0.5.3.2.4G	0.1.5-0.4.4.4.3G
B.a.am.	1.1.1.4.2.1.2.1	0.3.9-0.5.3.2.4G	0.1.5-0.4.3.4.3G

Comparação da setação dos apên-
dices de *Balanus amphitrite denticulata*
(B.a.d.); *Balanus amphitrite albicostatus*

(B.a.a.); *Balanus amphitrite hawaiiensis*
(B.a.h.) e *Balanus amphitrite amphitrite*
(B.a.am.).

Discussão

A criação de Balanídeos, pela primeira vez obtida no Brasil, em laboratório, possibilitou-nos conhecer vários problemas, ligados ao desenvolvimento dos estágios de Nauplii, como o reconhecimento anatômico de cada estágio. *Balanus amphitrite* var. *amphitrite* mostrou-se, no decorrer de nossas experiências, muito resistente à variação de temperatura e salinidade. Os diferentes estágios nesta espécie criaram-se, com somente um tipo de alimentação, isto é *Cyclotella nana*. Entretanto, a variação do alimento, conforme usada por **Barnes**, **Costlow** e **Bookhout** (veja bibliografia), e estudada por **Wisely**, é fundamental para outros Nauplii, como sejam de *Balanus tintinnabulum*, *Chthamalus stellatus*, *Chelonibia patulla*, etc. e que tivemos oportunidade de verificar "in vitro".

A importância do conhecimento morfológico das fases planctônicas dos cirripédios está correlacionada à determinação das espécies de cirripédios existentes na área de coleta e de difícil acesso de captura; à determinação dos períodos de crescimento de várias espécies; à identificação do estágio e da espécie pertencente aos Nauplii coletados em uma amostra do plâncton; aos períodos de eclosão dos ovos em diferentes espécies de cirripédios; à distribuição, abundância, e escassez das larvas planctônicas etc...

As diferenças morfológicas encontradas entre os estágios desta variedade de *B. amphitrite* nos servem de base para identificações futuras, no reconhecimento das espécies. Outrosim, servem de termo de comparação com os estágios das culturas de *Balanus*

tintinnabulum, *Chelonibia patulla* e *Chthamalus stellatus* que mantemos em laboratório, e que serão alvo de posterior publicação.

O número, a disposição e tamanho das setas e sétulas das antênulas, antenas e mandíbulas, modificam-se nas variedades de *Balanus amphitrite* até agora estudadas.

Apresentamos para melhor comparação entre as variedades, o quadro sinóptico de **Costlow** (1958), onde acrescentamos a variedade *Balanus amphitrite* var. *amphitrite*.

A criação "in vitro" de Balanídeos em laboratório, e em condições controladas nos possibilitará, em futuro próximo, realizar várias experiências práticas no campo da fisiologia, embriologia e histoquímica.

SUMMARY

Larval development of Balanids reared in laboratory. **Balanus amphitrite** var. **amphitrite**

We described the technique for the creation of the Nauplii of *Balanus amphitrite* under controlled laboratory conditions, which permits observations of the moltings, the number of stages, and the characteristics of each stages. It was for the first time that *Balanus amphitrite* was reared in laboratory.

From the 200 Nauplii that we obtained from the lamellae we get 120 Cypris stages, and the growth of 78 young balanids. *Cyclotella nana* from the New York Aquarium culture was used for alimentation.

The larval phase of *Balanus amphitrite amphitrite* consists of six naupliar stages and one Cypris stage. Form and size of the body, the number and structure of the appendage setation and spines, are given for all the larval stages. There are described all details of the microanatomy of each stage. The setation is, however, a valuable criterion for the identification of the Nauplii and may be used to separate stages and species.

The duration of the six stages are the followings: first stage: 15 to 20 minutes; second stage: from the 2th to 4th day; third stage: from the 4th day to 6th; fourth stage: up to 8th day; fifth stage: from the 9th to 11th

day and the sixth stage: up to the 12th day. The necessary time for the complete larval development in laboratory of *Balanus amphitrite amphitrite* ranges from 12 to 14 days.

We continued to observe and study the Cypris stages metamorphose in young balanids and their growth for more than 3 months in the glass criation.

AGRADECIMENTOS

Desejamos expressar nossos agradecimentos ao Diretor do New York Aquarium, Dr. Ross Nigrelli e ao Dr. Kenneth Gold pelo envio de alguns tubos de cultura de *Cyclotella nana*, bem como pela orientação recebida na continuidade da mesma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARNES, H., 1953 — Size variation in the cyprids of some common barnacles. *J. Mar. Biol. Assoc.*, 32: 297-304.
- BARNES, H. and BARNES, M., 1959 — The naupliar stages of *Balanus nubilis* Darwin. *Canadian J. Zool.*, 37: 15-23.
- BARNES, H. and BARNES, M., 1959 — The naupliar stages of *Balanus hesperius* Pilsbry. *Canadian J. Zool.*, 37: 237-244.
- BARNES, H. and COSTLOW, J. D., 1961 — The larval stages of *Balanus balanus* (L) da Costa. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 41: 59-68.
- BASSINDALE, R., 1936 — The developmental stages of three English barnacles, *Balanus balanoides*, *Chthamalus stellatus* and *Verruca stroemia*. *Proc. Zool. Soc. London*, 106: 57-74.
- COSTLOW, D. J. and C. G. BOOKHOUT, 1957 — Larval development of *Balanus amphitrite hawaiiensis*. *Zool. Mag. Tokyo*, 54: 108-118.
- COSTLOW, J. D. and C. G. BOOKHOUT, 1958 — Larval development of *Balanus amphitrite* var. *denticulata* broch reared in the laboratory. *Biol. Bull.*, 114 (3): 284-295.
- CRISP, D. J., 1962a — The planktonic stages of the Cirripedia *Balanus balanoides* and *Balanus balanus*, from north temperate waters. *Crustaceana*, 3: 207-221.
- DANIEL, A., 1958 — The development and mortality of three species of sessile barnacles. *J. Madras. Univ.*, 28: 23-47.
- DOOCHIN, H. D., 1951 — The morphology of *Balanus improvisus* Darwin and *Balanus amphitrite niveus* Darwin during initial attachment and metamorphosis. *Bull. Mar. Sci. Gulf. and Caribbean*, 1: 15-39.
- FREIBERGER, A., 1965 — Rearing barnacle cyprids in the laboratory for Marine fouling studies. *Technical Report*, 1. Brooklyn 1, New York.

- GROON, T., 1894 — On the early development of the Cirripedia. *Phil. Trans. Roy. Soc.*, 185: 121-208.
- HARDING, S. P., 1962 — Darwin's type specimens of varieties of *Balanus amphitrite*. *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hst.)* 9 (7): 273-296.
- HERTZ, L. E., 1953 — The morphology of later stages of *Balanus crenatus* Bruguiere. *Biol. Bull.*, 64: 432-442.
- HUDINAGA, M. and H. KASAHARA, 1961 — Larval development of *Balanus amphitrite hawaiiensis*. *Zool. Mag. Tokyo*, 54: 108-118.
- JONES, L. W. G. and D. J. CRISP, 1954 — The larval stages of the barnacle *Balanus improvisus* Darwin. *Proc. Zool. Soc. London*, 123: 765-780.
- KNGHT-JONES, C. W. and D. WAUGH, 1949 — On the larval development of *Elminius modestus* Darwin. *J. Mar. Biol. Assoc.* 28: 413-428.
- MOYSE, J., 1960 — Mass rearing of barnacle cyprids in the laboratory. *Nature*, 185: 4706.
- NEWMAN, W. A., 1965 — Prospectus on larval cirriped setation formulae. *Crustaceana*, 9(1): 51-56.
- NORRIS, E., W. G. JONES, T. HOVEGROVE and D. J. CRISP, 1951 — Variability in larval stages of Cirripedes. *Nature*, 167: 444-445.
- PYEFINCH, K. A., 1948 — Methods of identification of the larvae of *Balanus balanoides*, *B. crenatus* and *Verruca stroemia*. *J. Mar. Biol. Assoc.*, 27: 451-463.
- PYEFINCH, K. A., 1949 — The larval stages of *Balanus crenatus*. *Proc. Zool. Soc. London*, 118: 916-923.
- SANDISON, E., 1954 — The identification of the nauplii of some South African barnacles with notes on their life histories. *Trans. Roy. Soc. S. Afr.*, 34: 69-101.
- TREAT, D. A., 1937 — A comparative study of barnacle larvae. *Masters Thesis, Western Reserv. Univ.*
- WALLEY, J., 1969 — Studies on the larval structure and metamorphosis of *Balanus balanoides*. *Philos. Trans. Roy. Soc. London*, 256: 237-280.
- WISELY, B., 1960 — Experiments on rearing the barnacle *Elminius modestus* Darwin to the settling stage in the laboratory. *Austr. Journ. Mar. Freshwaters Research*. 2 (1): 42-54.