

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DE SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**DISTRIBUIÇÃO DOS NERVOS DOS GÂNGLIOS PEDAIS E
MARCAÇÃO DA INERVAÇÃO DA REGIÃO POSTERIOR DO
PÉ DE *Megalobulimus oblongus***

TAIS MALYSZ

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Neurociências
Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Denise Maria Zancan

Co-orientadora:

Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Faccioni-Heuser

Porto Alegre
2002

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Denise Zancan, pelos importantes ensinamentos, pela competência e dedicação na orientação deste trabalho e pelo companheirismo e amizade desenvolvidos ao longo deste período.

À Profa. Dra. Maria Cristina Faccioni-Heuser e à Profa. Dra. Matilde Achaval Elena, pela disposição em ajudar, pelo apoio, ensinamentos e auxílios prestados durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e colegas do laboratório de Neurobiologia Comparada: Luciano, Maria, Renata e Profa. Wânia Partata, especialmente pela transparência, apoio e forte laço de amizade.

Aos colegas do Laboratório de Histofisiologia Comparada em especial à Cláudia, ao Giordano, ao Marco Aurélio, à Nara, à Paula, à Nice, à Verônica e à Analú, pelo coleguismo. Agradeço em especial à Karen pela sua valiosa amizade.

Ao Gabriel pela paciente colaboração e transmissão de ensinamentos sobre instrumentação fotográfica.

À Eudira, pela participação na montagem de lâminas e ao Antoninho pela disposição e auxílio na aquisição de imagens fotográficas.

Aos meus pais, à Olinda, ao Rodrigo e a meus irmãos pelo apoio incondicional. Ao meu namorado Evandro, pelo auxílio em muitas fases deste trabalho, mas principalmente, pelo incentivo e pelo inestimável suporte emocional.

Ao Prof. Gilnei, pelo companheirismo e confiança em mim depositada, e à Universidade de Passo Fundo pelo auxílio financeiro durante a realização deste curso.

Aos professores e funcionários do PPG Neurociências e à todos aqueles que me conduziram até aqui de uma maneira ou outra e contribuíram para o término de mais esta etapa.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
RESUMO.....	v
INTRODUÇÃO.....	01
1 EMPREGO DE INVERTEBRADOS EM NEUROCIÊNCIAS.....	01
2 ORGANIZAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO.....	04
3 NERVOS E MAPEAMENTO DE CÉLULAS NERVOSAS.....	09
4 SISTEMA MUSCULAR PEDIOSO CONTROLADO PELOS GANGLIOS PEDAIS	17
OBJETIVOS.....	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
1. ANIMAIS.....	22
2. PROCEDIMENTOS.....	23
2.1 DESCRIÇÃO ANATÔMICA.....	23
2.1.1 DISSECAÇÃO.....	23
2.1.2 TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA (HE).....	24
2.2 INFUSÃO DE CLORETO DE COBALTO.....	25
2.2.1 INFUSÃO RETRÓGRADA.....	26
2.2.2 INFUSÃO ANTERÓGRADA.....	27
RESULTADOS.....	29
1. NERVOS DOS GÂNGLIOS PEDAIS.....	29
a. GRUPO ANTERIOR.....	31
b. GRUPO LÁTERO-ANTERIOR.....	33

c. GRUPO LÁTERO-POSTERIOR.....	34
d. GRUPO PÓSTERO-LATERAL.....	35
e. GRUPO POSTERIOR.....	36
2. MARCAÇÃO RETRÓGRADA.....	44
a. GÂNGLIOS PEDAIS.....	45
i. GÂNGLIO PEDAL IPSILATERAL À MARCAÇÃO.....	46
ii. GÂNGLIO PEDAL CONTRALATERAL À MARCAÇÃO.....	48
b. GÂNGLIOS PLEURAS.....	50
i. GÂNGLIO PLEURAL IPSILATERAL À MARCAÇÃO.....	50
ii. GÂNGLIO PLEURAL CONTRALATERAL À MARCAÇÃO.....	51
c. GÂNGLIOS PARIETAIS.....	52
i. GÂNGLIO PARIETAL IPSILATERAL À MARCAÇÃO.....	52
ii. GÂNGLIO PARIETAL CONTRALATERAL À MARCAÇÃO.....	54
d. GÂNGLIO VISCERAL.....	54
e. GÂNGLIOS CEREBRAIS.....	55
3. MARCAÇÃO ANTERÓGRADA.....	65
DISCUSSÃO.....	72
1. INERVAÇÃO PEDIOSA DE <i>MEGALOBULIMUS OBLONGUS</i>	72
2. MARCAÇÃO RETRÓGRADA.....	83
2.1 COMPLEXO GANGLIONAR SUBESOFAGEAL.....	84
2.2 GÂNGLIOS CEREBRAIS.....	97
CONCLUSÕES.....	105
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS

5HT	-	Serotonina
ACh	-	Acetilcolina
AChE	-	Acetilcolinesterase
FLI	-	Imunorreatividade a FMRF-amida e/ou peptídeos da mesma família
FMRF-amida	-	Fenilalanina-Metionina-Arginina-Fenilalanina amida
MEEnK	-	Metionina-encefalina
MEEnK-ir	-	Imunorreatividade à Metionina-encefalina
SNC	-	Sistema nervoso central
SNP	-	Sistema nervoso periférico
SP	-	Substância P
SP-ir	-	Imunorreatividade à substância P
TADS	-	Tronco ântero-dorsal superior
TADI	-	Tronco ântero-dorsal inferior
TAV	-	Tronco ântero-ventral
TLAD	-	Tronco látero-anterior dorsal
TLAV	-	Tronco látero-anterior ventral
TLPD	-	Tronco látero-posterior dorsal
TLPV	-	Tronco látero-posterior ventral
TPLD	-	Tronco pósterolateral dorsal
TPLV	-	Tronco pósterolateral ventral
TP	-	Tronco posterior
NADS	-	Nervo ântero-dorsal superior
NADI	-	Nervo ântero-dorsal inferior
NAV	-	Nervo ântero-ventral
NLAD	-	Nervo látero-anterior dorsal
NLAV	-	Nervo látero-anterior ventral
NLPV	-	Nervo látero-posterior ventral
NPLV	-	Nervo pósterolateral ventral

NP - Nervo posterior

∅ - Diâmetro

RESUMO

O conhecimento referente à inervação da musculatura pediosa do caracol pulmonado *Megalobulimus oblongus*, é um subsídio importante na complementação de estudos morfológicos, neuroquímicos e comportamentais já realizados e, no fornecimento de informações básicas para trabalhos sobre os repertórios comportamentais básicos deste animal. O presente trabalho teve como objetivos descrever a distribuição anatômica dos nervos provenientes dos gânglios pedais de *Megalobulimus oblongus*, mapear os neurônios localizados nos gânglios nervosos centrais que enviam projeções para nervos do tronco posterior pedal deste animal, através de marcação retrógrada com cloreto de cobalto e verificar quais áreas periféricas são inervadas pelos ramos dos troncos nervosos posteriores, através de marcação anterógrada com cloreto de cobalto. A descrição dos nervos pedais foi baseada em dissecações dos nervos pedais de animais e secções histológicas da região de projeção dos nervos dos gânglios pedais. Foram descritos dez troncos nervosos, cinco dorsais e cinco ventrais, emergindo de cada gânglio pedal, que se ramificam em 41 nervos pedais, originados próximos ao gânglio. Destes, seis suprem a musculatura retratora do pé, um supre a glândula suprapediosa e 34 suprem a musculatura pediosa e integumento do pé. Neurônios marcados através dos nervos pedais NP7-NP10 foram encontrados em todos os gânglios do complexo ganglionar subesofageal, principalmente nos gânglios ipsilaterais à marcação. Foi possível verificar que as fibras marcadas que penetram através dos nervos ventralmente no gânglio pedal, mostram-se em grande quantidade no neuropilo, comissuras pedais (principalmente a comissura anterior) e conetivos. Algumas fibras que cruzam para o gânglio pedal contralateral seguem através do conetivo pedal-pleural para o gânglio pleural também contralateral à marcação. O maior número de neurônios foi marcado no gânglio pedal ipsilateral à marcação. Os gânglios cerebrais não apresentaram somas neuronais marcados, somente fibras terminando no mesocérebro, pós-cérebro, comissura e neuropilo entre o pró-cérebro e o mesocérebro. As fibras nervosas marcadas foram vistas percorrendo a região pósteromedial da musculatura pediosa e enviando ramificações direcionadas lateralmente e para a superfície dorsal e ventral da porção pediosa. Nestas regiões foram encontradas terminações nervosas diretamente em fibras musculares e entre as células epiteliais da região ventral do pé.

INTRODUÇÃO

1 UTILIZAÇÃO DE INVERTEBRADOS EM NEUROCIÊNCIAS

Enquanto muitos neurocientistas direcionam seus estudos sobre algumas espécies de mamíferos, os estudos sobre os invertebrados e vertebrados inferiores têm fornecido contribuições essenciais para a neurociência básica (ARBAS et al., 1997).

Representando cerca de 95% de todas as espécies animais descritas, os invertebrados estão organizados em aproximadamente 30 filos diversos. A disposição de diferentes planos corporais, modelos de vida e mecanismos fisiológicos empregados por diferentes invertebrados é imensa e tem sido refletida na organização detalhada de seus sistemas nervosos (ARBAS et al., 1997). A relativa simplicidade e facilidade de manipulação dos sistemas e o baixo custo econômico para obtenção e manutenção dos animais, são fatores que também têm contribuído para a utilização de invertebrados, especialmente os moluscos, como modelos experimentais em neurobiologia (FULL, 1997). Os estudos comparativos em invertebrados têm fornecido esclarecimentos sobre a organização funcional de todo o

sistema nervoso, revelando seus princípios gerais, como por exemplo, mecanismos de transdução, transmissão e integração, os quais vem se mostrando cruciais, inclusive no avanço da medicina e biologia humana (ARBAS et al., 1997; BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

Os componentes neurais e suas propriedades funcionais são extremamente parecidos tanto em animais menos diferenciados quanto em formas mais superiores. No entanto, os menos diferenciados apresentam um número menor de unidades nervosas, especialmente entre o receptor e o neurônio motor, menor número e profusão das ramificações nervosas e menor diferenciação de organizações e conexões. Além disso, a localização dos neurônios imediatamente abaixo do tecido conjuntivo que envolve os gânglios nervosos e a presença de células com grande diâmetro, como ocorre em moluscos, podendo alcançar, por exemplo, 800 μm no gânglio abdominal de *Aplysia depilans* (GILLETE, 1991), têm estimulado a utilização dos invertebrados, especialmente moluscos e insetos, como modelos experimentais, proporcionando a realização de uma ampla variedade de estudos relacionados.

Estes fatores somados à grande variação dos parâmetros locomotores dos invertebrados como resultado da evolução e importância ecológica em relação aos padrões temporais e espaciais de distribuição de animais tem estimulado também os estudos referentes aos padrões locomotores, os quais podem servir também como inspiração biológica para os que estudam inteligência artificial, mecânica e robótica (FULL, 1997).

Pela facilidade de obtenção e de manutenção e pelo seu tamanho (13 cm com o pé estendido), dentre as outras vantagens já citadas, em se utilizar moluscos como

modelos experimentais, o caracol pulmonado *Megalobulimus oblongus* tem sido utilizado amplamente em neurobiologia. Com o sistema nervoso central de *Megalobulimus oblongus*, vêm sendo realizados estudos morfológicos (PERES, 1994; ZANCAN; ACHAVAL, 1995; FACCIONI-HEUSER et al., 1997; STABILIE et al., 1998; FACCIONI-HEUSER et al., 1998, FACCIONI-HEUSER et al., 1999a, 1999b, 1999c; DAL PIVA et al., 1998; ZANCAN et al., 2001) e neuroquímicos e fisiológicos (DA SILVA; ZANCAN, 1994; DONELLI et al., 1998; FASSIONI-HEUSER et al., 1995; ZANCAN et al., 1994; ZANCAN, 1996; ZANCAN; ACHAVAL, 1997; ZANCAN et al., 1997; DE FRAGA et al., 1998; DE FRAGA et al., 2001; PENHA, 2001; SANTOS et al., 2002; MORIGUCHI-JECKEL, 2001).

Os moluscos representam o segundo maior filo de invertebrados com uma ampla diversidade de espécies incluindo aproximadamente 100.000 espécies vivas, que estão distribuídas em sete classes: Monoplacophora, Aplacophora, Polyplacophora, Scaphopoda, Bivalvia, Gastropoda e Cephalopoda. A classe Gastropoda, encontrada em uma ampla variedade de habitats, constitui a maior dentre as que compõem este filo, e é formada por três subclasses: prosobranchia, opisthobranchia e pulmonata (HYMAN, 1967; RUPPERT; BARNES, 1994; BARNES; HARRISSON, 1994; BULLOCH; RIGWAY, 1995).

Os gastrópodes pulmonados são principalmente terrestres ou de água doce, com algumas espécies também em ambiente marinho. Podem apresentar uma típica concha em espiral, ou concha reduzida (parcialmente ou completamente ocultada pelo manto), como também podem ser desprovidos de concha. Não possuem opérculo, nem brânquia, e possuem a cavidade do manto alterada em um saco

pulmonar por fusão com a região da cabeça (não demarcada do restante do corpo), deixando uma abertura contrátil no lado direito, o pneumóstomo. O coração é formado por uma aurícula anterior ao ventrículo, através do qual emerge a aorta. O sistema reprodutivo é hermafrodita (HYMAN, 1967; RUPPERT; BARNES, 1994; BULLOCH; RIGWAY, 1995).

A maioria dos gastrópodes pulmonados pertencem à ordem Basommatophora (água doce) ou à Stylommatophora (terrestres). Os pulmonados basomatóforos possuem um único par de tentáculos com olhos na base e os estilomatóforos possuem dois pares de tentáculos cefálicos com os olhos localizados na extremidade distal do par posterior (BARNES; HARRISON, 1994).

O *Megalobulimus oblongus* é uma espécie da classe Gastropoda, sub-classe Pulmonata, ordem Stylommatophora encontrado no sul do Brasil, Argentina e Paraguai (SAWAYA; PETERSEN, 1962; DE JORGE et al., 1965). São animais que vivem em habitat terrestre, geralmente em ambientes úmidos podendo ficar enterrados se a umidade relativa do ar for muito baixa. São hermafroditas e a idade reprodutiva adulta inicia por volta de dois anos de idade, esta fase pode ser caracterizada pelo bordo virado da concha (JAEGER, 1965). Embora ainda não existam estudos precisos sobre o ciclo de vida desta espécie.

2 ORGANIZAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO

Os moluscos abrangem quase todo o espectro de complexidade do sistema nervoso, o qual é tipicamente evidenciado ao longo de diferentes filos. Em um extremo encontramos os chitons, da classe Polyplacophora, que apresentam um nível de organização primitiva do sistema nervoso, comparável ao dos platelmintes. E, no outro extremo, os cérebros de lulas e polvos, os quais são comparáveis aos de muitos vertebrados quanto a complexidade da sua arquitetura neuropilar (SHEPHERD, 1994; ARBAS et al., 1997;).

Os moluscos da classe gastrópoda apresentam grande diversidade de espécies, a qual é refletida na estrutura do sistema nervoso nas diferentes subclasses, demonstrando uma crescente complexidade adquirida pelo processo evolutivo em função de um maior controle sobre o meio (SHEPHERD, 1994; BULLOCH; RIDGWAY, 1995).

A organização do sistema nervoso em moluscos mais primitivos que os gastrópodes, como é o caso dos quítons, é caracterizada pela presença de duas cordas nervosas paralelas dispostas ao longo do comprimento corporal unidas periodicamente por comissuras (semelhante a uma escada de corda). Ao longo da evolução, esta organização passa por uma consequência morfológica observada nos gastrópodes associada com a torção, seguida, em algumas espécies, por fusão ganglionar e por distorção do corpo, mas não do sistema nervoso (RUPPERT; BARNES, 1994; BULLOCH; RIDGWAY, 1995; ARBAS et al., 1997).

O processo de desenvolvimento conhecido como torção, o qual ocorre no período larval, é manifestado por rotação da concha em 180 graus no sentido anti-horário, juntamente com a massa visceral e os órgãos que antes se localizavam posteriormente na cavidade do manto (Fig. 1). Este processo facilita a retração do pé larval e do velum dentro da concha como medida de proteção. Como vestígio deste processo, nas espécies mais primitivas de algumas subclasses de gastrópodes, os conetivos viscerais são cruzados em um padrão de uma figura em oito a qual interrompe a simetria bilateral do sistema nervoso. Já, em espécies mais diferenciadas, os efeitos da torção são diminuídos para vários graus até o restabelecimento da simetria bilateral devido a distorsão ou surgimento de outros conetivos viscerais mais curtos (HYMAN, 1967; BULLOCH; RIDGWAY, 1995).

A evolução do sistema nervoso mostra uma tendência a cefalização. Os corpos neuronais localizam-se mais em gânglios e a distância entre estes tende a diminuir como resultado do encurtamento das cordas nervosas (comissuras e conetivos). Para espécies de moluscos mais avançadas, como os pulmonados terrestres, a visualização dos conetivos e comissuras do complexo subesofageal só pode ser possível microscopicamente. Esta condição pode ser considerada como uma fusão ganglionar (BULLOCH; RIDGWAY, 1995).

O sistema nervoso de gastrópodes é formado basicamente por um anel periesofageal de seis gânglios e um grande número de neurônios que permanecem na forma de um plexo pedioso periférico. Os gânglios cerebrais pareados localizam-se dorsais ao esôfago, os pleurais lateralmente e os pedais estão centralmente situados. Os três gânglios de cada lado estão unidos um ao outro por conetivos, e o anel é completado por comissuras cerebrais e pedais dorsais e ventrais ao esôfago,

respectivamente. O par de gânglios bucais, os quais inervam a região anterior do trato digestivo, estão unidos aos gânglios cerebrais através de conetivos cérebro-bucais. Nos pulmonados e nos opistobrânquios existem duas comissuras pedais. Os gânglios parietais encontrados nesses animais não são representados em prosobrânquios. As áreas inervadas por estes gânglios são similares a dos pleurais de prosobrânquios e são considerados como sendo uma porção destes (DORSETT, 1986)

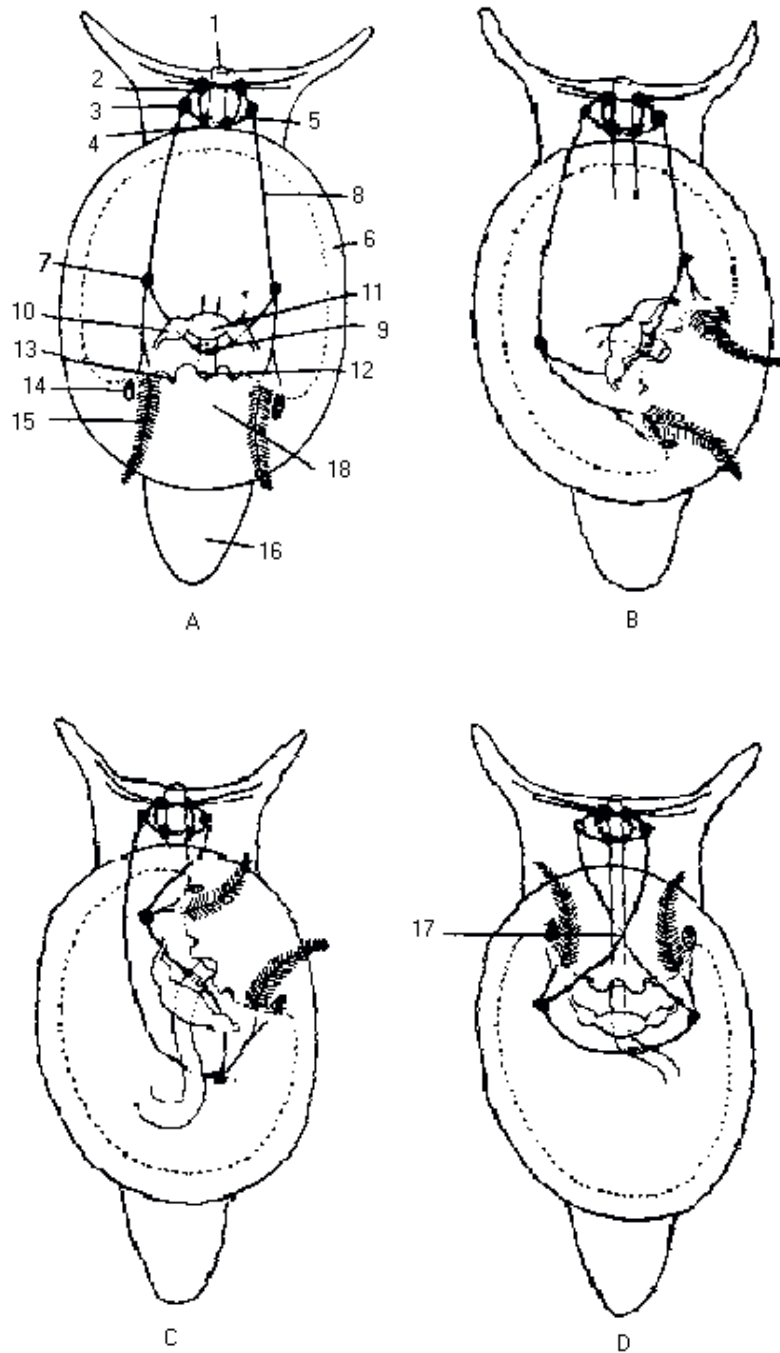


Figura 1 – Diagrama do processo de torsão. A – hipotético gastrópode destorsido; B, C – estágios da torsão; D – condição de torsão completa. 1. boca; 2. gânglio cerebral esquerdo; 3. gânglio pleural esquerdo; 4. gânglio pedal esquerdo; 5. anel periesofageal; 6. margem do manto; 7. gânglio intestinal esquerdo (ou parietal); 8. conetivo pleurointestinal; 9. gânglio visceral ou abdominal; 10. aurícula esquerda; 11. ventrículo; 12. ânus; 13. nefrídioporo esquerdo; 14. osfrádio esquerdo; 15. brânquia esquerda; 16. pé; 17. cruzamento dos conetivos pleurointestinal; 18. cavidade do manto (Modificado de HYMAN, 1967).

O sistema nervoso central (SNC) de *Megalobulimus oblongus* é formado de 11 gânglios, 9 dos quais constituem o anel ganglionar principal (gânglios cerebrais, pedais, pleurais, parietais e visceral), com 2 gânglios bucais mais distalmente localizados e conectados com o anel periesofageano através dos conetivos cérebro-bucais. Todos os gânglios são pareados, com exceção do gânglio visceral. Os gânglios de cada lado são geralmente similares em tamanho e forma, sendo apenas o gânglio parietal direito consideravelmente maior que o esquerdo. Os gânglios que constituem o complexo subesofageal estão organizados ao redor da artéria cefálica, unidos entre si por conetivos neurais extremamente curtos, visíveis apenas em cortes histológicos e unidos aos gânglios cerebrais, supra-esofageais, pelos conetivos cérebro-pedal e cérebro-pleural. O par de gânglios pedais estão conectados por duas comissuras igualmente curtas: uma de maior diâmetro, mais dorsal, e uma menor ântero-ventral (Fig.2). Os gânglios cerebrais mostram uma organização mais complexa, estando divididos em três regiões: mesocérebro, pós-cérebro e pró-cérebro. São cobertos parcialmente pelo corpo dorsal, uma glândula endócrina que envolve a comissura cerebral, e emite prolongamentos que se estendem ao longo do conetivo cérebro-pleural (PERES et al., 1993; PERES, 1994; ZANCAN et al., 1994).

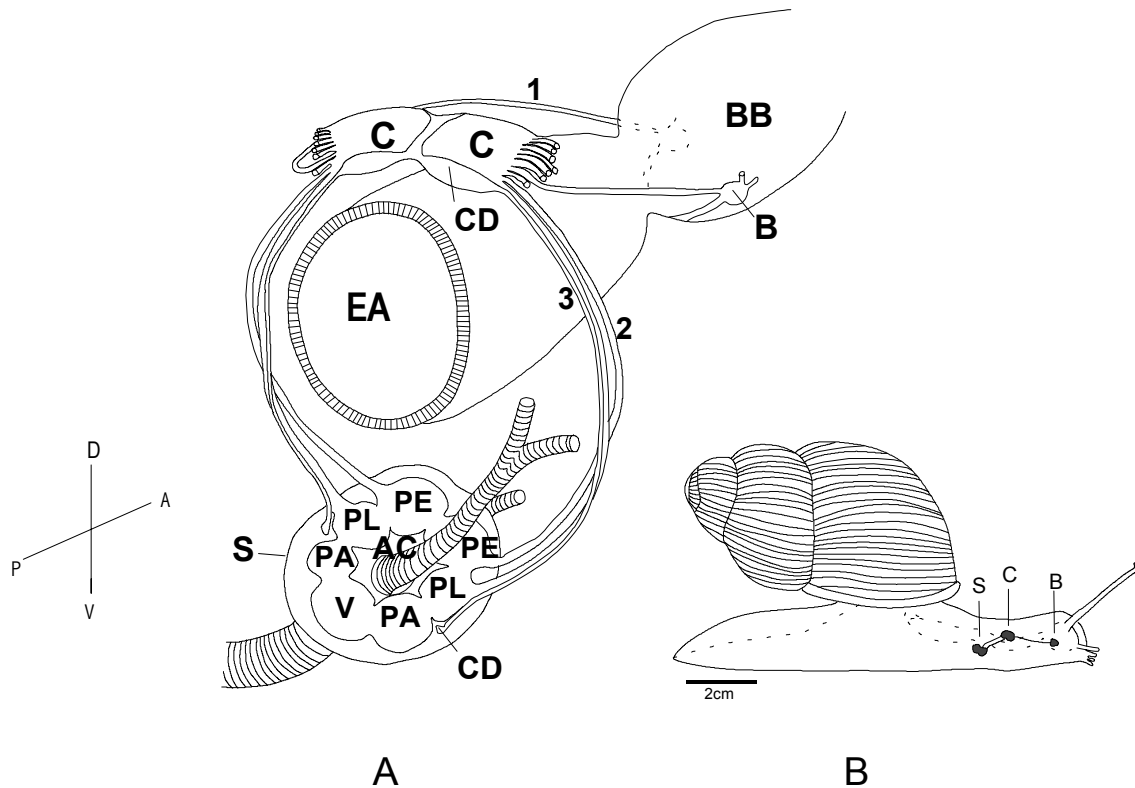


Figura 2. A: Representação esquemática dos gânglios que constituem o sistema nervoso central. AC, artéria céfálica, BB, bulbo bucal; CD, corpo dorsal, EA, esôfago anterior; PA, gânglios parietais; PE, gânglios pedais; PL, gânglios pleurais; V, gânglio visceral; B: Esboço de um caracol pulmonado, em vista lateral, com o pé estendido, para a visualização das posições relativas dos gânglios bucais (B), cerebrais (C) e do complexo ganglionar subesofageal (S), unidos entre si pelos conetivos neurais cérebro-bucal (1), cérebro-pedal (2) e cérebro-pleural (3) (ZANCAN, 1996).

3. NERVOS E MAPEAMENTOS DE CÉLULAS NERVOSAS

O nervo é definido como uma delimitação anatômica de feixes de fibras nervosas envolvidas por uma bainha externa comum, entre o gânglio central e a periferia, seja ela receptora, efetora ou ambas (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). Os

nervos possuem a função de conduzir, através de suas fibras, impulsos nervosos centrais para a periferia ou órgão efetor (impulsos eferentes) e da periferia, através dos receptores, para o sistema nervoso central (impulsos aferentes). São três as bainhas conjuntivas que entram na constituição de um nervo descritas de forma similar para vertebrados e invertebrados. O epineuro envolve todo o nervo e emite septos para seu interior. Os fascículos individuais são envolvidos por uma multicamada conjuntiva chamada perineuro. Os fascículos contêm fibras nervosas envolvidas pelo endoneuro (CROSBY et al., 1962; BULLOCK; HORRIDGE, 1965; BERRY et al., 1995).

A partir dos gânglios que formam o sistema nervoso dos gastrópodos, irradiam troncos nervosos para todas as partes do corpo. Com isso, indicações referentes ao papel de cada gânglio podem ser deduzidas pelas distribuições dos nervos. Porém, deve ser considerado o fato de que apesar da maioria dos neurônios enviarem seus axônios para nervos que emergem do próprio gânglio, existem muitos que enviam seus axônios através de outro gânglio (GRASSÉ, 1968; KERKUT; WALKER, 1975).

Dentro do grupo de moluscos pulmonados, os nervos apresentam variações quanto à distribuição dependendo da espécie e, como o sistema ganglionar manifesta diversas tendências evolutivas, a aplicação dos princípios de homologia revela-se algumas vezes difícil devido a fusão dos gânglios adjacentes e agrupamento das raízes de vários nervos e troncos (GRASSÉ, 1968). Esta variabilidade do sistema nervoso tem sido usada também como critério para considerações filogenéticas e classificação entre os moluscos pulmonados (BISHOP, 1978; HASZPRUNAR; HUBER, 1990).

Em gastrópodes, os nervos que partem dos **gânglios cerebrais** suprem o par

de olhos, os estatocistos (localizados no pé próximos ao gânglio pedal), os tentáculos (altamente sensoriais), a pele e alguns músculos dos lábios, cabeça e pescoço, e, em alguns grupos também, a região do pênis. Os **gânglios bucais** suprem a parede faríngea, músculos e glândulas salivares, sendo que seus nervos se distribuem em um plexo no esôfago e estômago. Os **gânglios pleurais** de alguns opistobrânquios e pulmonados não possuem nervos periféricos. Nos pulmonados, os neurônios pleurais inervam a musculatura retratora faríngea e o músculo columelar. Os **gânglios parietais** inervam a pele, a parede lateral do corpo e o manto. O **gânglio visceral**, ímpar, inerva as porções posteriores do sistema digestivo, da região anal, a maior parte dos órgãos reprodutivos, o rim, o fígado e o coração (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; KERKUT; WALKER, 1975).

Segundo Peres (1994), a partir dos gânglios bucais de *M. oblongus*, surgem seis pares de nervos que suprem a faringe, esôfago e glândulas salivares. A partir dos gânglios cerebrais, originam-se dez pares de nervos que suprem a região anterior da cabeça, os tentáculos, bulbo faríngeo e o pênis (nervo ímpar que emerge do gânglio direito). Os gânglios pleurais não apresentam nervos e os parietais emitem três pares de nervos que inervam a parede do corpo. O gânglio visceral emite quatro nervos, sendo que um dirige-se à região posterior do corpo próximo ao intestino, um para o manto posterior, outro para as gônadas, rim e coração, e o último para o músculo columelar.

Os troncos nervosos originados nos **gânglios pedais** inervam a musculatura do pé e do integumento. Em gastrópodes, os gânglios pedais são os principais centros da locomoção (envolvidos na geração e controle dos padrões locomotores) e

da maioria dos movimentos corporais (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; DORSETT, 1986; BULLOCH; RIDGWAY, 1995).

Os nervos pedais, que emergem dos gânglios pedais em direção ventral, percorrem a sola do pé e ramificam-se formando um plexo, com interstício na ordem de milímetros ou mais. Este plexo não é tão bem desenvolvido em pulmonados aquáticos, como em *Lymnaea*, (basomatóforo). Na lesma terrestre *Limax* o plexo é regular com feixes comissurais conectando dois trechos longitudinais simétricos, com um grupo de células ganglionares em cada interseção, esta simetria não é encontrada no plexo de caracóis como *Helix* (BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

À medida que os nervos pedais penetram na musculatura, observa-se em *M. oblongus* que eles ramificam-se, originando ramos nervosos de calibre cada vez menor, que se dirigem ventralmente e lateralmente à sola do pé. A anastomose dos diferentes fascículos nervosos origina dois plexos pediosos distribuídos uniformemente ao longo das regiões anterior, média e posterior do pé. Um plexo mais ventral, subepitelial, e um plexo situado mais medialmente, dito pedioso. O plexo pedioso mostra duas regiões, sendo uma mais ventral, onde os nervos e os gânglios estão mais próximos, e uma região médio-ventral, na qual o arranjo dos constituintes é mais afastado (FASSIONI-HEUSER et al., 1995; FACCIANI-HEUSER, 1999). Tanto os nervos quanto os pequenos gânglios que constituem estes plexos revelaram a presença de fibras monoaminérgicas (catecolaminas e serotonina) e fibras com intensa atividade enzimática da acetilcolinesterase (FACCIANI-HEUSER, 1999), à substância P (RIGON et al., 1998) e também fibras imunorreativas a FMRF-amida (MORIGUCHI-JECKEL, 2001). Na região dorsal da musculatura pediosa, ramos nervosos formam um plexo menos denso de fibras que

na região ventral da musculatura pediosa. Estas fibras, somente apareceram marcadas por imunorreatividade à FMRF-amida, sendo localizadas na região basal do integumento dorsal, formando um plexo subepitelial dorsal (MORIGUCHI-JECKEL, 2001).

Segundo Faccioni-Heuser et al. (1999a), as fibras nervosas de *M. oblongus* percorrem um trajeto entre as células musculares e, à medida que se aproximam da musculatura, as terminações nervosas contactam com uma ou mais células musculares adjacentes, sendo que uma única célula muscular pode apresentar várias terminações nervosas. Este mesmo padrão de inervação é também descrito em gastrópodes (BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

Em revisões anatômicas encontradas na literatura, uma divergência constante é sobre a inervação oriunda dos gânglios pedais. Estes gânglios são os que emitem maior número de nervos dentre os gânglios do SNC dos pulmonados e, também são os que apresentam a maior divergência quanto ao número de nervos e áreas inervadas pelos mesmos (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). Em geral, o número de nervos que saem dos gânglios pedais não é constante, e as diferenças, mais aparentes que reais, com denominações não uniformes utilizados pelos autores, podem ter relação com o processo evolutivo como também serem devidas ao fato de que, em revisões anatômicas, os autores podem estar considerando os nervos em conjunto (troncos) ou separadamente (GRASSÉ, 1968). Assim, em *Phylocaullis* a disposição dos nervos pediosos mostrou-se muito variável, podendo por vezes ser utilizado como indicação auxiliar na identificação das espécies (THOMÉ, 1976).

Segundo Peres (1994), a partir dos gânglios pedais de *M. oblongus* partem 15 pares de nervos, sendo que os dois primeiros dirigem-se à glândula suprapediosa, e

os nervos restantes suprem a musculatura pediosa, sendo o primeiro e o segundo nervo para a porção anterior da musculatura pediosa, cinco ramos nervosos para a musculatura ântero-medial, quatro nervos para a musculatura pósteromedial e dois nervos da musculatura pediosa posterior. No entanto, esta descrição dos nervos pedais de *M. oblongus* não fornece uma nomenclatura completa e precisa para identificação dos nervos, troncos nervosos e suas ramificações, para que possam ser realizados estudos de identificação de células já caracterizadas quimicamente, responsáveis pela inervação de cada região específica do pé.

Uma descrição mais detalhada dos nervos pedais e suas projeções forneceria maior embasamento para a realização de estudos eletrofisiológicos, os quais possibilitariam a identificação de células isoladamente, o estudo da função e das conexões dos neurônios, e conseqüentemente, conhecimento a cerca de padrões comportamentais, como por exemplo a locomoção.

Segundo Pitman et al., (1973), para compreender a base e a conectividade neuronal de comportamentos específicos em sistemas de invertebrados relativamente simples existem dois passos fundamentais: identificar neurônios individuais que geram o comportamento e analisar o padrão particular de conexões entre neurônios para determinar as propriedades do circuito que podem governar diretamente o ato comportamental. Com isso, os neurônios dos gânglios centrais de muitos moluscos têm sido identificados morfológica, eletrofisiológica e farmacologicamente, como ficou demonstrado no SNC de *Helix* (KERKUT et al., 1975; KERKUT; WALKER, 1975; ELEKES et al., 1985; WALKER, 1986; OSIPENKO; KEMENES, 1991), de *Tritonia* (DORSETT, 1967; GETTING, 1983; LOHMANN et al., 1991; KATZ; FROST, 1997), de *Lymnaea stagnalis* (BENJAMIN et al. 1979;

WINLOW et al., 1981; WINLOW; HAYDON, 1986; SYED; WINLOW, 1989), de *Aplysia* (HENNING et al., 1979; FREDMAN; JAHAN-PARWAR, 1983; PARSONS; PINSKER, 1988; McPHERSON; BLANKENSHIP, 1991a; 1991b; 1992), de *Clione limacina* (SATTLERLIE, 1993; SATTLERLIE et al. 1995; 1997), de *Achatina fulica* (TAKEDA; OZAKI, 1986; SANTOS et al., 1992; TAKEUCHI et al., 1996); de *Helisoma trivolvis* (SYED et al., 1993) e de *Planorbis corneus* (DELIAGINA; ORLOVSKY, 1990a). Algumas destas espécies ainda são utilizadas como importantes modelos experimentais. Especialmente com relação ao controle da locomoção, as espécies aquáticas, como *Aplysia*, *Tritonia* e *Lymnaea*, são preferencialmente estudadas.

Segundo Kerkut et al., (1975), os critérios utilizados para identificação neuronal são: a posição da célula no gânglio, a aparência da célula (cor, tamanho, pigmentação, etc), o potencial de repouso e de ação, a atividade sináptica espontânea, a resposta da célula à estimulação de troncos nervosos identificados e à aplicação de drogas, identificação das vias axonais através da administração de traçadores, a presença de mediadores químicos no corpo celular e atividade neurosecretora.

As técnicas de marcação celular têm sido consideradas como aplicações valiosas na identificação celular. A partir desta são obtidas informações sobre a arquitetura neuronal, projeções de vias axonais e características fisiológicas dos neurônios. É possível localizar somas de neurônios periféricos e centrais, cujos axônios são encontrados em troncos nervosos específicos. Especificamente os dados referentes à identificação dos neurônios do SNC de gastrópodes através da marcação dos nervos pedais podem ser muito importantes, facilitando os estudos

eletrofisiológicos, os quais fazem parte de um processo fundamental no estudo dos mecanismos neuronais comportamentais (KANEKO; KATER, 1973).

A fim de determinar a função dos neurônios, relacionados com a inervação feita pelos gânglios, têm sido realizados mapeamentos através de injeção intracelular ou marcação retrógrada de traçadores como cloreto de cobalto, peroxidase de rabanete, LúCIFer Yellow e neurobiotina, os quais são amplamente utilizados em diversas espécies de moluscos gastrópodes, especialmente em espécies aquáticas (KERKUT; WALKER, 1975; EBERHARDT; WABNITZ, 1979; SLADE et al., 1981; FERGUSON; BENJAMIN, 1991; CHASE; TOLLOCZKO, 1993) e em *Megalobulimus oblongus* (DAL PIVA et al., 1998; STABILE et al., 1998; LONGO et al., 2000).

Devido às diversas facilidades já citadas em se utilizar moluscos em estudos referentes ao sistema nervoso e aos poucos trabalhos morfológicos, neurofisiológicos e comportamentais realizados sobre a locomoção em pulmonados terrestres, verifica-se a necessidade de desenvolver estudos referentes à identificação de neurônios já caracterizados quimicamente os quais enviam projeções para troncos nervosos dos gânglios pedais, em *Megalobulimus oblongus*, espécie que vem sendo estabelecida como modelo experimental nos laboratórios de Neurobiologia Comparada e Histofisiologia Comparada.

4. SISTEMA MUSCULAR PEDIOSO CONTROLADO PELOS GÂNGLIOS PEDAIS

Dois tipos de movimentos são especialmente controlados pelos gânglios pedais: as ondas de contração da musculatura pediosa e a retração do pé para dentro da concha. Este último integra o repertório do comportamento aversivo e conta com a participação dos gânglios pleurais, cerebrais e parietal esquerdo (FERGUSON; BENJAMIN, 1991).

A locomoção de diferentes moluscos, especialmente nos gastrópodes, tem sido amplamente descrita. O pé, principal órgão locomotor destes animais, é uma sola achatada, rastejante e flexível que ocupa uma grande área plantar, a qual se encontra aderida ao substrato durante a locomoção e propicia uma diversidade de funções (TRUEMAN, 1983; VOLTZOW, 1990; LUCHTEL et al., 1997)

A locomoção é uma seqüência motora complexa, que integra boa parte de todo o repertório comportamental do animal, podendo ser causada por diferentes estímulos, como alimentar (PANCHIN et al., 1995b; JING; GILLETE, 1995), reprodutor (CHASE, 1986; DE LANGE et al., 1998), nocivo ou tátil (FERGUSON; BENJAMIN, 1991; KEMENES et al., 1993; ROMERO et al., 1994; KAVALIERS et al., 1998; PENHA, 2001) ou para orientação (DELIAGINA; ORLOVSKY, 1990a; LOHMANN et al., 1991).

O pé dos caracóis em geral, é composto pela musculatura pediosa, pelos ramos do músculo columelar, pelo plexo pedioso e por uma ampla rede vascular, a qual constitui o componente fluido do esqueleto hidrostático, sendo recoberto pelo integumento (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; HYMAN, 1967; VOLTZOW, 1990).

Em estilomatóforos, do ponto de vista morfológico, o músculo columelar é considerado o que possui forma mais definida e organizada. Ele se origina na columela e emite ramificações para várias partes corporais. Na maioria dos Helicidae, o músculo columelar origina as ramificações que vão constituir os músculos retratores dos tentáculos, do bulbo faringeal e do pé (HYMAN, 1967). Em *M. oblongus*, o músculo columelar tem a mesma origem e segue o mesmo padrão de ramificação do músculo descrito em *Helix*. Estas ramificações do músculo columelar constituem o músculo retrator tentacular anterior direito e esquerdo, retrator do bulbo bucal (ramificação da parte esquerda) e os demais fascículos musculares que se dirigem lateralmente ao complexo ganglionar subesofageal, passando entre os nervos pedais e inserindo-se na região anterior, média e posterior do pé, constituído os retratores pedais direito e esquerdo (FACCIONI-HEUSER, 1999).

O pé é formado predominantemente por tecido muscular, constituído por células musculares que cursam em todas as direções e que se entrelaçam com fibras de tecido conjuntivo (HYMAN, 1967). Em *M. oblongus* a musculatura pediosa é formada por fibras musculares que apresentam orientação transversal, longitudinal e oblíqua, sendo que na linha mediana do pé há intercruzamento de fibras musculares de um lado com inserção subepitelial do lado oposto (FACCIONI-HEUSER et al., 1999a).

Em gastrópodes, os principais tipos de locomoção, são o rastejamento por contrações musculares do pé, a natação por movimentos rítmicos corporais e o deslizamento por batimento ciliar na sola do pé (TRUEMAN, 1983). A locomoção envolvendo o batimento ciliar é encontrada especialmente em espécies aquáticas ou terrestres de pequeno tamanho (BULLOCH; RIDGWAY, 1995; TRUEMAN, 1983).

Em *M. oblongus*, cílios localizados no epitélio ventral do pé, segundo Faccioni-Heuser et al., (1999a), não estariam atuando diretamente na locomoção, mas sua função poderia estar relacionada com o deslocamento de muco para trás enquanto o animal desloca-se para frente, como ocorre em outros pulmonados terrestres (DENNY, 1981).

Nos animais terrestres maiores, as ondas de contração da musculatura pediosa são a principal forma de locomoção por rastejamento e percorrem a superfície ventral do pé. A sola do pé é firmemente ancorada ao substrato por uma fina camada (10 a 20 μm) de muco gelatinoso, exceto na região da onda de movimento, na qual este flui mais facilmente. Este muco promovido pelas numerosas células glandulares epiteliais e pela grande glândula suprapediosa, atua como uma substância sólida elástica sob condições de baixo estresse lateral nos pontos de apoio do pé no substrato, e como um líquido viscoso sob a frente da onda onde as forças laterais são maiores (DENNY, 1980a; 1980b; TRUEMAN, 1983; BARNES et al, 1993). Em *M. oblongus*, foi verificado que a consistência, coloração e a quantidade de secreção de muco são alteradas quando é realizada estimulação térmica na superfície ventral do pé através de uma placa quente (45°C e 50°C) e quando se administra diferentes fármacos como o sulfato de morfina, cloridrato de naloxone, serotonina e maleato de metisergida (PENHA, 2001).

As ondas de contração podem se estender ao longo de todo o pé (monotáxica), ou uma forma alternada entre o lado direito e esquerdo do pé (ditáxica) dependendo da espécie. As ondas também podem ser diretas, progredindo na mesma direção do movimento do animal (de trás para frente), ou retrógradas,

passando da frente para trás na direção oposta ao movimento do animal (HYMAN, 1967; TRUEMAN, 1983; RUPPERT; BARNES, 1994).

Em *M. oblongus*, foi observado o padrão monotáxico direto, com as ondas movendo-se da região caudal para a região rostral na mesma direção da locomoção do animal em superfície plana (FACCIONI-HEUSER, 1999). O número de ondas que pode estar simultaneamente presente no pé, em condições normais, varia entre as espécies sob diferentes níveis de atividade (HYMAN, 1967; TRUEMAN, 1983).

Para mudar o sentido do deslocamento ou aumentar a velocidade, os caracóis podem diminuir o número de ondas com maior amplitude, ao longo do comprimento do pé (BARNES et al., 1993; VOLTZOW, 1994). Em *M. oblongus*, observou-se um aumento na velocidade de propagação das ondas e conseqüentemente em sua locomoção sob a ação da serotonina (PENHA, 2001) e do neurotoxina 5,6-dihidroxitriptamina (derivado análogo da serotonina), o que poderia inferir a existência de um papel neuromodulador deste neurotransmissor sobre a locomoção (ZANCAN et al., 1997). Segundo Blankenship et al., (1993) o papel da serotonina no comportamento locomotor ocorre através de vias serotoninérgicas descendentes a partir dos gânglios cerebrais e de neurônios pedais, assumindo um papel crucial na ativação do comportamento locomotor de moluscos como ficou demonstrado em *Aplysia* (PALOVCIK et al., 1982 apud BULLOCH; RIDGWAY, 1995) e em *Lymnaea stagnalis* (SYED et al., 1988).

No intuito de estabelecer a espécie de *M. oblongus* como modelo experimental que permita investigar o comportamento locomotor em invertebrados terrestres dependentes de esqueleto hidrostático, faz-se necessário um conhecimento básico sobre a organização estrutural da inervação da musculatura do pé e das unidades

neurais envolvidas. Estas informações constituiriam-se no subsídio para as relações neuroquímicas já realizadas na musculatura locomotora e nos gânglios centrais desta espécie.

OBJETIVOS

A fim de complementar os estudos morfológicos, neuroquímicos e comportamentais que vêm sendo realizados com o caracol pulmonado *Megalobulimus oblongus*, estabelecemos como principais objetivos deste trabalho:

- descrever a distribuição anatômica dos nervos provenientes dos gânglios pedais de *Megalobulimus oblongus*;
- mapear os neurônios localizados nos gânglios cerebrais, pedais, pleurais, parietais e visceral que enviam projeções para nervos do tronco nervoso posterior de *Megalobulimus oblongus*;
- verificar se as fibras nervosas provenientes de nervos do tronco nervoso posterior inervam diretamente fibras musculares e/ou possam estar relacionadas com os gânglios periféricos do plexo pedioso ou outros elementos neurais do integumento.

MATERIAL E MÉTODOS

1. ANIMAIS

Para este estudo, foram utilizados caracóis terrestres pulmonados *Megalobulimus oblongus* (MÜLLER, 1774), coletados no município de Charqueadas (RS). Os animais foram mantidos em terrários telados no Laboratório de Neurobiologia Comparada do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS, sujeitos às condições existentes no laboratório, com temperatura controlada (22-28°C) e períodos de luz 10-12 horas de luz diária, e alimentados com água e alface *ad libitum*.

Foram utilizados neste estudo somente animais adultos, caracterizados por possuírem concha com bordo “virado”, com largura entre 3,4 e 3,9 cm, comprimento entre 6,8 e 7,8 cm e peso na faixa de 47 a 80 g.

2. PROCEDIMENTOS

2.1 DESCRIÇÃO ANATÔMICA

Foram utilizadas duas formas diferentes e complementares para a descrição dos nervos que partem dos gânglios pedais. Inicialmente foi realizada dissecação do animal e, através de um microscópio cirúrgico, pode ser descrita, a projeção de cada via neural isoladamente. A fim de verificar a posição da origem dos nervos e troncos nervosos, bem como seus diâmetros aproximados, estes foram extraídos e submetidos à secção histológica e coloração pela hematoxilina-eosina.

2.1.1 Dissecação

Para os procedimentos de descrição anatômica, 20 animais foram anestesiados, com uma solução saturada de mentol diluído em solução fisiológica para a espécie *Megalobulimus oblongus* (29,5 mM NaCl, 2,4 mM KCl, 6 mM CaCl₂; JAEGER, 1961), por 24 horas.

Após a retirada da concha, o animal foi fixado com alfinetes em uma camada de parafina sobre uma placa de Petry, através da perfuração da musculatura pediosa. A preparação foi submersa na solução fisiológica citada.

Através de uma incisão dorsal, foi retirada toda massa visceral do animal. Foram realizadas dissecações em diferentes níveis, porém sempre foi mantido intacto o complexo ganglionar subesofageal e os nervos dos gânglios pedais. Com auxílio de um microscópio cirúrgico (D. F. Vasconcelos) os nervos eram identificados e separados do tecido conjuntivo e vasos. As preparações foram fixadas em formaldeído 10% e posteriormente fotografadas.

2.1.2 Técnica para Hematoxilina-Eosina (H.E) (MANUAL, 1960)

Três caracóis foram anestesiados com solução saturada de mentol por 30 minutos. Após a retirada da concha e massa visceral, o gânglio pedal foi retirado com a parte proximal dos nervos através da secção destes imediatamente após a sua saída do gânglio e da secção das comissuras pedais e conetivos cérebro-pedal e pedal-pleural.

O material foi fixado por 2 horas em solução de Bouin, sendo posteriormente desidratado em banhos de soluções de álcoois de concentrações crescentes e diafanizado em clorofórmio. O material foi então impregnado em três banhos de parafina, de 20 minutos cada, em estufa a 60°. Posteriormente, no material já incluído em parafina, foram realizados cortes sagitais (10 µm) em micrótomo (Leica RM 2125). As secções a seguir foram aderidas a lâminas previamente tratadas com albumina de Mayer.

Após a secagem das lâminas (37°C), estas foram colocadas em banhos de xilol para a retirada da parafina, e posteriormente em álcool decrescente (100% e 96%), finalizando com hidratação em água destilada.

Para a coloração, as lâminas foram colocadas em solução de hematoxilina de Mayer por 10 minutos. Após este período, foram lavadas em água corrente por 20 minutos, com posterior coloração em eosina. A seguir o material foi desidratado em álcool 95% e 100%, carboxilol e diafanizados em xilol. As lâminas foram então cobertas com bálsamo do Canadá e lamínulas.

2.2 INFUSÃO COM CLORETO DE COBALTO (SLADE et al., 1981; CHASE e TOLLOCZKO, 1993).

Para identificar neurônios individuais e suas projeções utilizou-se a técnica de infusão com cloreto de cobalto a partir de cotos de nervos posteriores pedais (PITMAN et al., 1973). Esta infusão foi realizada de forma anterógrada (em direção à fixação dos nervos no músculo) e retrógrada (em direção ao SNC).

Decorrido o tempo de infusão, a preparação foi colocada em solução de sulfeto de amônia (Merck). O sulfeto de amônia, ao reagir com o cloreto de cobalto, produz um precipitado negro de sulfeto de cobalto, o qual resiste ao subsequente processamento histológico em meios não-ácidos (NICHOLSON e KATER, 1973; PITMAN, et al., 1973). Neste processamento, o precipitado de sulfeto de cobalto é intensificado por nitrato de prata (Merck), o qual se apresenta bem visível sob microscópio óptico. A prata também reage com outros componentes do SNC, como

por exemplo o colágeno, e produz um *background* marron nos tecidos marcados (DAVIES, 1982).

2.2.1 Infusão retrógrada

Para os procedimentos de marcação neuronal por infusão retrógrada de cloreto de cobalto, 30 animais foram anestesiados, em uma solução saturada de mentol diluído em solução salina para a espécie *Megalobulimus oblongus* (29,5 mM NaCl, 2,4 mM KCl, 6 mM CaCl₂; JAEGER, 1961), por 40 minutos.

Após a remoção da concha, o animal foi fixado com alfinetes em uma camada de parafina sobre uma placa de Petry, através da perfuração das bordas da musculatura pediosa e submerso em solução fisiológica citada. O manto e o diafragma foram seccionados, expondo a porção anterior do trato digestivo, o bulbo bucal e a massa visceral foram retirados, foi feita uma incisão medial e posteriormente para a identificação dos nervos mediais do tronco nervoso posterior direito ou esquerdo seccionado a 0,5 a 0,7 cm de comprimento. Os outros nervos do complexo ganglionar subesofageal foram seccionados junto às suas saídas dos gânglios, os conetivos cérebro-pedal e cérebro-pleural foram mantidos juntamente com os gânglios cerebrais, os nervos e os conetivos cérebro-bucais foram seccionados.

A preparação foi montada em um recipiente com dois compartimentos, sendo que em um dos compartimentos foram colocados os gânglios (complexo ganglionar subesofageal unido aos gânglios cerebrais através dos conetivos) e os nervos mediais do tronco posterior fixos ao gânglio pedal foram direcionados ao outro

compartimento, onde o coto distal foi colocado em cloreto de cobalto 0,2 M acrescido de albumina sérica bovina (*Sigma*), para facilitar o transporte do marcador. Os compartimentos foram vedados com vaselina sólida esterilizada e os gânglios foram mantidos submersos em solução fisiológica. Junto com os gânglios foi colocado um complexo ganglionar subesofageal de outro animal para servir de controle do experimento.

A preparação foi mantida em câmara úmida à 4^oC por 6 a 7 dias. Após a incubação, a preparação foi revelada em solução de sulfeto de amônia 0,3% por 20 minutos, e a seguir lavada em água destilada. Posteriormente, o material foi fixado em uma solução de Carnoy por 2 horas, crioprotégido em uma solução de sacarose 30% em tampão fosfato 0,2 M e seccionado em criostato Leitz Digital 1720 (50 µm). A intensificação da marcação foi feita utilizando o método descrito por Davis (1982): após a reidratação, os tecidos foram incubados em tungstato de sódio 2% por 10 minutos e a seguir incubados em solução contendo Triton X-100 a 1%, nitrato de prata 0,15, ácido acético, acetato de sódio, tungstato de sódio 5% e ácido ascórbico 0,25%. Após o escurecimento, a preparação foi, então lavada em água destilada, diferenciada em solução de tiosulfato de sódio 2%, lavada novamente, desidratada em álcool de concentração crescente, diafanizada e montada em lâminas e cobertas com lamínulas.

2.2.2 Infusão anterógrada

Para os procedimentos de marcação axonal por infusão anterógrada de cloreto de cobalto, buscando identificar as projeções dos nervos pedais, cinco animais foram anestesiados, com uma solução saturada de mentol diluído em solução salina para a espécie *Megalobulimus oblongus* (29,5 mM NaCl, 2,4 mM KCl, 6 mM CaCl₂; JAEGER, 1961), por 40 minutos.

O acesso aos gânglios e seus nervos foi realizado como descrito no item anterior (2.2.1). Os nervos mediais do tronco nervoso posterior direito ou esquerdo foram seccionados a uma distância de 0,5 a 0,7 cm antes de sua penetração na massa muscular da região pediosa posterior. Esta porção pediosa onde os nervos penetram, foi separada do restante do pé através de secção transversal e da porção pediosa posterior do lado contralateral (inervada pelos mesmos nervos do lado oposto), através de secção ao longo da linha média do pé. Assim, isolou-se um lado da região posterior do pé, juntamente com seus respectivos nervos.

Posteriormente foi realizada a incubação com CoCl₂ *in vitro* como descrito no item anterior (2.2.1), sendo que para controle foi utilizada a porção muscular equivalente do lado oposto à usada para experimentação.

A preparação foi mantida em câmara úmida à 4⁰C por 6 a 7 dias. Após a incubação, a preparação foi revelada conforme acima descrito. Posteriormente, o material foi fixado em uma solução de Carnoy por 2 horas, crioprotégido em uma solução de sacarose 30% em TF e seccionado em criostato Leitz Digital 1720 (100

μm). O restante do procedimento segue conforme descrito para a marcação retrógrada.

RESULTADOS

1 Nervos dos gânglios pedais

Os gânglios pedais direito e esquerdo, fazem parte do complexo ganglionar subesofageal, localizados na região anterior do animal, ventral à porção anterior do trato digestivo, repousando sobre a glândula suprapediosa. Nestes gânglios, observou-se um número bem maior de nervos que os demais gânglios centrais do caracol pulmonado *M. oblongus*.

A mesma quantidade de troncos nervosos projetou-se a partir dos gânglios pedais direito e esquerdo, sendo que pequenas variações foram encontradas no que se refere ao diâmetro, pigmentação dos envoltórios de conjuntivo, número e posição das ramificações dos nervos.

A maioria destes projeta-se para a musculatura pediosa, porém, alguns se dirigem para a superfície corporal, musculatura retratora do pé e glândula suprapediosa.

Para fins de descrição das áreas da musculatura pediosa inervadas pelos diferentes nervos, o comprimento da sola do pé do caracol, foi dividido em três partes iguais. Estas áreas foram denominadas de terços anterior, médio e posterior da musculatura pediosa (FACCIONI-HEUSER et al., 1999a). A divisão entre o terço anterior e o terço médio coincidiu com uma linha imaginária traçada na superfície

posterior dos gânglios pedais. O terço médio englobou a região entre o terço anterior e posterior, na qual encontra-se a porção da glândula suprapediosa localizada posteriormente ao gânglio pedal. O terço posterior iniciou próximo à primeira ramificação de NP9 (descrito adiante) até a extremidade posterior do pé.

Os troncos nervosos originaram-se de regiões distintas do gânglio pedal, as quais são denominadas anterior, látero-anterior, látero-médio, látero-posterior e posterior (Fig. 3). De acordo com a localização dos nervos, adotou-se a nomenclatura de grupos para os que emergem na mesma região ganglionar e de subgrupos para aqueles que estão localizados na superfície ventral, média ou dorsal dentro de uma mesma região.

Os troncos que se originaram na superfície ventral de todas as regiões citadas acima, se dividem logo após a sua emergência originando um grande número de nervos (Fig. 4; Tabela 1). Esta situação também pode ser vista com alguns troncos originados na superfície dorsal e média, porém, outros dividem-se mais distalmente. À medida que os troncos nervosos afastam-se dos gânglios, se direcionando para o órgão efetor, seus diâmetros diminuem (em diferentes níveis, dependendo do nervo) e a ramificação aumenta (Fig. 5).

A nomenclatura adotada para a numeração dos troncos que emergem do gânglio pedal e ramificações mais proximais destes, foi a seguinte: utilizaram-se para troncos, letras iniciais que o identificam de acordo com sua localização, e números romanos em ordem crescente de anterior para posterior e de dorsal para ventral. No caso das ramificações mais proximais dos troncos nervosos, foi utilizado o sistema de letras indicando a localização e números arábicos dentro do mesmo subgrupo em ordem crescente de anterior para posterior e de dorsal para ventral.

1.1 GRUPO ANTERIOR

Os troncos que se originam nas superfícies ventral, média e dorsal da região anterior do gânglio pedal fazem parte deste grupo (Fig. 3; Fig. 6A). O subgrupo ventral apresenta um tronco nervoso, que logo após sua emergência na superfície ventral do gânglio origina cinco nervos, o subgrupo médio apresenta um tronco que origina dois nervos e o subgrupo dorsal apresenta um tronco que logo após a sua emergência origina cinco nervos.

O tronco ântero-dorsal (TAD; Fig. 7A), que se origina próximo aos conetivos cérebro-pedal e cérebro-pleural, ramifica-se em 5 nervos principais, sendo que 4 deles (NAD1-4) apresentam aproximadamente o mesmo diâmetro (30-40 μm) e um deles (NAD5) é um pouco mais calibroso (\varnothing 55-65 μm). Estes nervos seguem na direção ântero-lateral, acompanhado por vasos e penetram nas fibras da musculatura retratora do pé. Um dos nervos do grupo de menor calibre segue lateralmente ao conetivo cérebro-pleural e direciona-se para a região anterior do pé, penetrando nas fibras mais anteriores da musculatura retratora do pé.

O segundo tronco (TAM; Fig. 6A), localizado pouco mais anterior e ventral que TAD, apresenta diâmetro de aproximadamente 170 μm . A primeira ramificação ocorre próxima à saída do gânglio, originando dois nervos, NAM1 (\varnothing 80 μm) e NAM2 (\varnothing 90 μm). O segundo nervo (NAM2), segue pela região ântero-lateral e, no lado direito (onde se localizam os órgãos reprodutivos), passa ventral ao oviduto e penetra na musculatura pediosa. O primeiro nervo segue o mesmo trajeto do segundo, porém, passa dorsal ao oviduto e penetra na região ântero-lateral do pé,

mais distal e dorsal que o segundo. No lado esquerdo, os nervos penetram nas mesmas regiões descritas para os nervos do lado direito.

Os nervos ventrais originados do terceiro tronco (TAV; Fig. 6A), apresentam-se dispostos no gânglio em duas fileiras. A fileira dorsal é formada pelo primeiro (NAV1), segundo (NAV2) e pelo terceiro (NAV3) nervos anteriores. A fileira ventral é formada pelo quarto nervo anterior (NAV4), disposto ventral ao NAV2, seguido pelo quinto nervo anterior (NAV5), disposto ventral ao NAV3.

O nervo NAV1, parte de cada lado da região ântero-medial do gânglio pedal, muito próximo à saída de NAV2. Apresenta um diâmetro de aproximadamente 80-95 μm , e direciona-se para a região anterior do pé, inervando a porção anterior e lateral da glândula suprapediosa, passando por baixo das fibras musculares derivadas do músculo retrator do pé que a recobrem anteriormente (Fig. 7B).

Os nervos NAV2 (\varnothing 190-220 μm), NAV3 (\varnothing 180-210 μm), NAV4 (\varnothing 150-180 μm) e NAV5 (\varnothing 100-130 μm) penetraram no terço anterior do pé. O terceiro e o quarto nervo anterior do grupo ventral (NAV2 e NAV3), com aproximadamente o mesmo diâmetro, possuem ramificações que seguem até a borda anterior do pé e suas fibras penetram na musculatura pediosa anterior, sendo que o NAV2 inerva a região anterior mais próxima à linha mediana e o NAV3 direciona-se anteriormente inerva a região lateral à de NAV2, apresentando fibras que chegam até a porção pediosa ântero-lateral (a qual no lado direito coincide com a região do pênis e oviduto). Já o quarto nervo anterior (NAV4), um pouco menos calibroso, penetra na musculatura mais próxima ao complexo ganglionar que os dois últimos (NAV2 e NAV3), durante seu trajeto origina duas ramificações principais, sendo que uma

penetra na musculatura pediosa mais medial e a outra mais lateralmente. O quinto nervo (NAV5), projeta-se lateralmente ao NAV4, direcionando-se para a região ântero-lateral do terço anterior do pé (Fig. 5).

1.2 GRUPO LÁTERO-ANTERIOR

Este grupo é composto por dois troncos nervosos, o quarto e o quinto, sendo um mais dorsal (TLAD) a partir do qual se originam quatro nervos principais (NLAD1-4) e outro mais ventral (TLAV) no qual se originam dois nervos principais (NLAV1-2) (Fig. 6A).

O quarto tronco, o qual apresenta origem mais dorsal (TLAD), ramifica-se em dois nervos mais anteriores (NLDA1, NALD3) e dois mais posteriores (NLDA2, NLDA4). Os nervos mais anteriores, NLAD1 (\varnothing 60-80 μm) e NLAD3 (\varnothing 120-140 μm), inervam a região mais látero-média do terço anterior do pé, sendo que o segundo (NLAD3), segue pela região lateral e penetra na porção lateral da musculatura pediosa (coincidindo no lado direito à região ventral ao oviduto), e o primeiro (NLAD1) segue o mesmo trajeto de NLAD3 e, no lado direito passa dorsal ao oviduto e penetra na região lateral do pé, mais distal e dorsal que o primeiro, e, por essa localização (em direção à superfície dorsal). Estes mesmos nervos, do lado esquerdo inervam as mesmas regiões que os nervos do lado direito. Os mais posteriores, NLAD2 (\varnothing 150-170 μm), NLAD4 (\varnothing 110-130 μm), possuem trajeto muito semelhante aos anteriores, porém inervam a região mais posterior a estes, com

algumas ramificações que inervam a região anterior do terço médio do pé. NLAD4 segue, no lado direito, ventralmente ao oviduto e inerva a região látero-média da musculatura pediosa. NLAD2 segue, no lado direito dorsalmente ao oviduto, e penetra na região lateral do pé, mais distal e dorsal que o primeiro, direcionando-se para a musculatura e integumento pedioso. Da mesma forma, os nervos correspondentes do lado esquerdo inervam as mesmas regiões.

O quinto tronco, de origem ventral (TLAV), origina dois nervos que se direcionam lateralmente à porção posterior do terço anterior da musculatura pediosa de cada lado do pé. O nervo mais inferior, NLAV2 (\varnothing 120-150 μm) penetra na musculatura pediosa medialmente ao NLAV1 (\varnothing 220-250 μm).

1.3 GRUPO LÁTERO-MÉDIO

Este grupo é composto por um tronco dorsal (TLMD; Fig. 6) e um tronco ventral (TLPV; Fig. 6A) o qual origina cinco nervos (NLMV1-5). O sexto tronco, localizado na superfície dorsal da região látero-média do gânglio pedal, TLMD (\varnothing 120-150 μm), direciona-se para a região lateral do terço médio da musculatura pediosa e superfície dorsal pediosa. Este tronco nervoso mostra muitas ramificações, distais ao gânglio pedal, antes de penetrar nos tecidos. O sétimo tronco nervoso, localizado na superfície ventral do gânglio (TLMV), logo após sua emergência origina cinco nervos. Os nervos mais anteriores são o NLMV1 (mais dorsal), NLMV3 e NLMV4 (dispostos ventralmente a NLMV1) e NLMV5 (mais ventral), com diâmetros

aproximados de 130 μm , 80 μm , 70 μm e 50 μm respectivamente, penetram na musculatura pediosa medial e lateral do pé, inervando a região posterior do terço anterior e região anterior do terço médio do pé. Posteriormente a estes nervos, encontrou-se o NLMV2, um nervo com cerca de 230 μm de diâmetro que também inerva a mesma região da musculatura pediosa, porém suas fibras apresentam direção mais lateral e posterior que os citados anteriormente.

1.4 GRUPO LÁTERO-POSTERIOR

Nesta região observa-se um tronco nervoso dorsal (VIII tronco) e outro ventral (IX tronco). O tronco dorsal (TLPD; Fig. 7A), localizado na superfície dorsal do gânglio pedal muito próximo ao gânglio pleural, apresenta cerca de 90 μm de diâmetro e muitas ramificações próximas a sua área de inervação. Estas ramificações penetram nas fibras mais posteriores da musculatura retratora do pé.

A partir do IX tronco nervoso (TLPV; Fig. 06), com origem na superfície ventral do gânglio pedal, surgem seis nervos, sendo três mais dorsais e três mais ventrais. Os mais dorsais, NLPV1 (\varnothing 70-80 μm), NLPV2 (\varnothing 80-90 μm) e NLPV3 (\varnothing 220-250 μm), penetram na região látero-posterior do terço médio da musculatura pediosa localizando-se mais posterior e lateralmente que os mais ventrais, NLPV4 (\varnothing 110-130 μm), NLPV5 (\varnothing 30-40 μm) e NLPV6 (\varnothing 30-40 μm), os quais penetram em regiões mais próximas ao complexo ganglionar.

1.5 GRUPO POSTERIOR

Desta região parte o tronco nervoso que supre maior área do pé, sendo portanto o mais calibroso e com maior número de nervos. Este tronco, denominado décimo tronco nervoso pedal (TP; Fig. 6B), origina-se da superfície póstero-ventral do gânglio e fornece dez nervos (Fig. 5), os quais se apresentam divididos em dois conjuntos de nervos. O conjunto mais lateral é formado por quatro nervos sendo dois mais dorsais NP1 e NP2 (\varnothing 190-210 μm cada) e dois mais ventrais NP3 e NP4 (\varnothing 60-80 μm cada). Estes nervos inervam a região látero-posterior do terço médio da musculatura pediosa, suprindo uma área mais medial e posterior que os nervos do tronco descrito anteriormente (TLPV). O outro conjunto, mais medial é composto por seis nervos, sendo que os dois nervos localizados mais próximos do conjunto anterior são o NP5 e o NP6 (\varnothing 140-150 μm cada), os quais inervam a musculatura pediosa, penetrando na porção posterior terço médio do pé, mais medialmente que os nervos do subgrupo anterior. As ramificações destes nervos, direcionadas posteriormente, atingem a parte mais anterior do terço posterior da musculatura pediosa.

Dentro deste mesmo conjunto foram encontrados quatro nervos posteriores dispostos na porção mais posterior do gânglio pedal, muito próximos um do outro, os quais penetram na musculatura pediosa do terço posterior do pé. Os dois nervos mais dorsais são os nervos NP7 (\varnothing 70-80 μm) e NP8 (\varnothing 80-90 μm), os quais estão dispostos paralelamente e acompanham o trajeto dos dois nervos mais calibrosos

(NP9 e NP10), e penetram na musculatura pediosa medial um pouco mais anteriormente que estes. Os dois nervos mais ventrais (NP9 e NP10) são os mais calibrosos dentre os nervos anteriormente descritos, que emergem do gânglio pedal, com diâmetro entre 270-300 μm cada. O trajeto destes nervos acompanha paralelamente a linha mediana do pé, percorrem o terço médio da musculatura pediosa, com suas ramificações penetrando apenas no terço posterior da musculatura pediosa. As ramificações destes nervos seguem o trajeto de medial para lateral, sendo que NP9 penetra mais anteriormente que NP10, o qual continua paralelamente à linha mediana do pé, enviando ramificações laterais durante seu trajeto e estende-se até a extremidade posterior do pé, percorrendo um comprimento de 2/3 do comprimento total da sola do pé deste caracol.

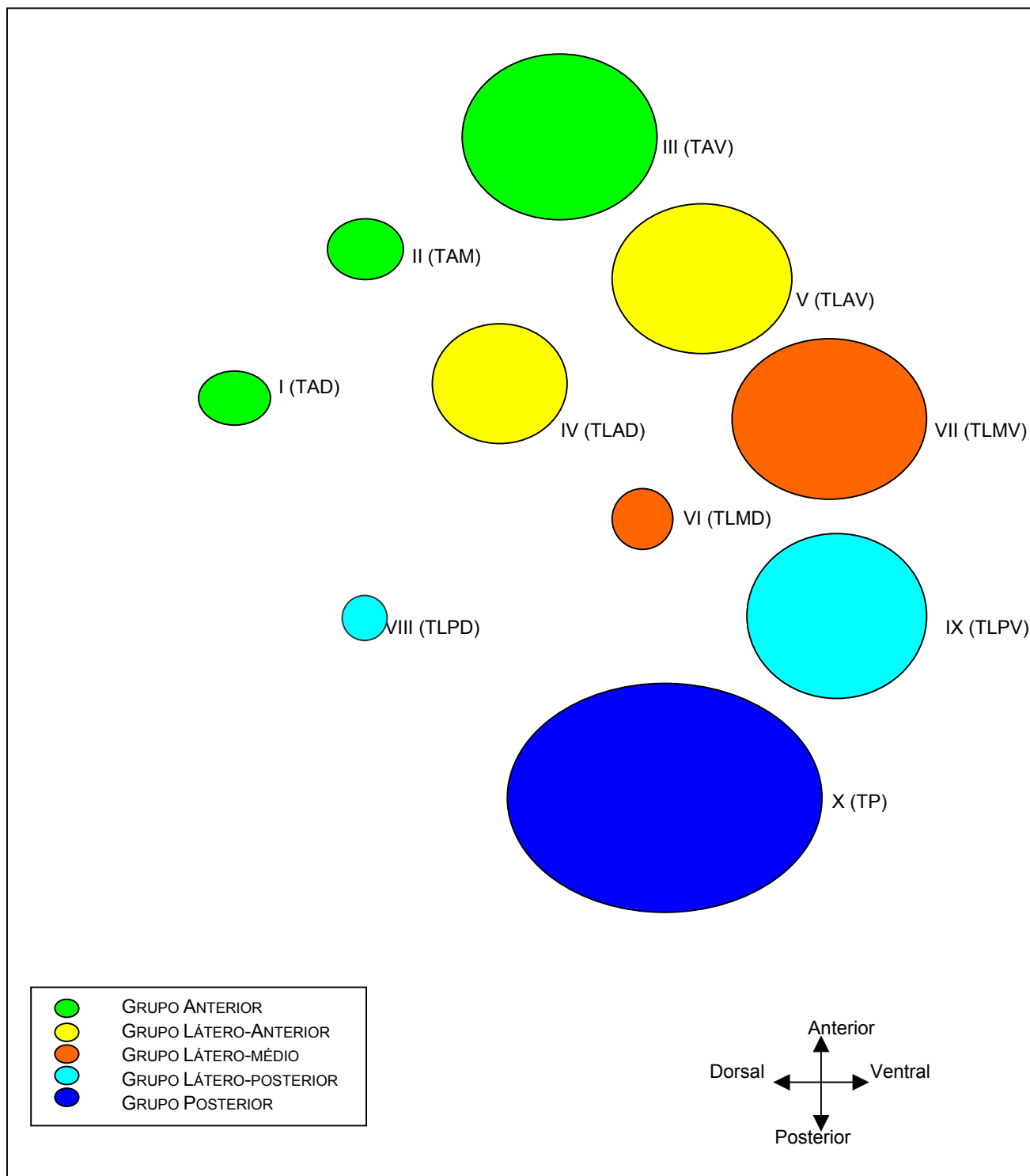


Figura 3 - Diagrama esquemático mostrando a distribuição da origem dos troncos nervosos em corte sagital da porção lateral do gânglio pedal direito. TAD: tronco ântero-dorsal; TAM: tronco ântero-médio; TAV: tronco ântero-ventral; TLAD: tronco látero-anterior dorsal; TLAV: tronco látero-anterior ventral; TLPD: tronco látero-médio dorsal; TLPV: tronco látero-médio ventral; TPLD: tronco látero-posterior dorsal; TPLV; tronco látero-posterior ventral; TP: tronco posterior.

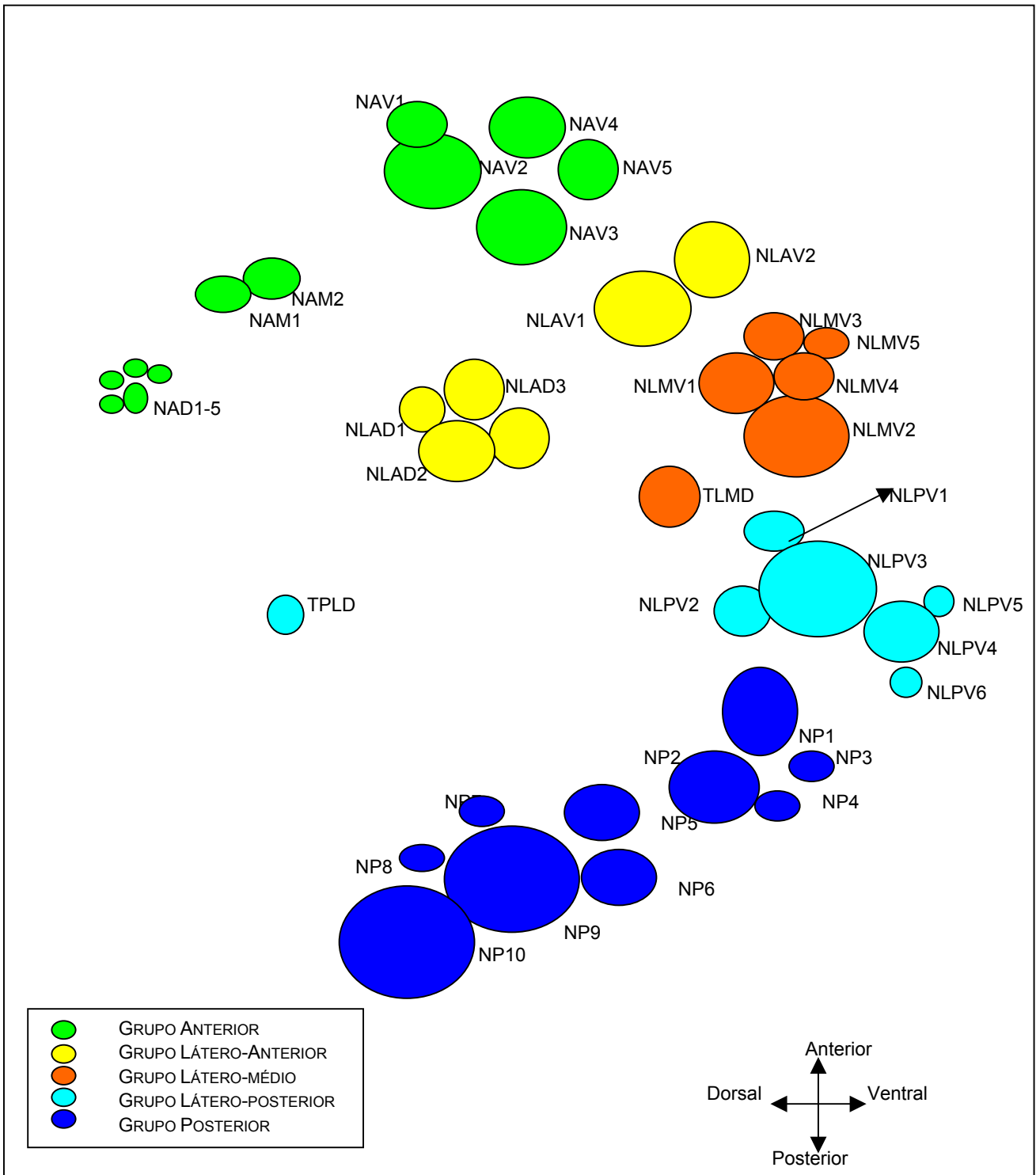


Figura 4 - Diagrama esquemático mostrando a distribuição da origem dos nervos que emergem dos troncos (figura anterior) em corte sagital da porção lateral do gânglio pedal direito. NAD1-5: nervos ântero-dorsais; NAM1-2: nervos ântero-médios; NAV1-5: nervos ântero-ventrais; NLAD1-4: nervos látero-anteriores dorsais; NLAV1-2: nervos látero-anteriores ventrais; TLMD: tronco látero-médio dorsal; NLMV1-5: nervos látero-médios ventrais; TPLD: tronco látero-posterior dorsal; TLPV1-6: nervos látero-posteriores ventrais; NP1-10: nervos posteriores.

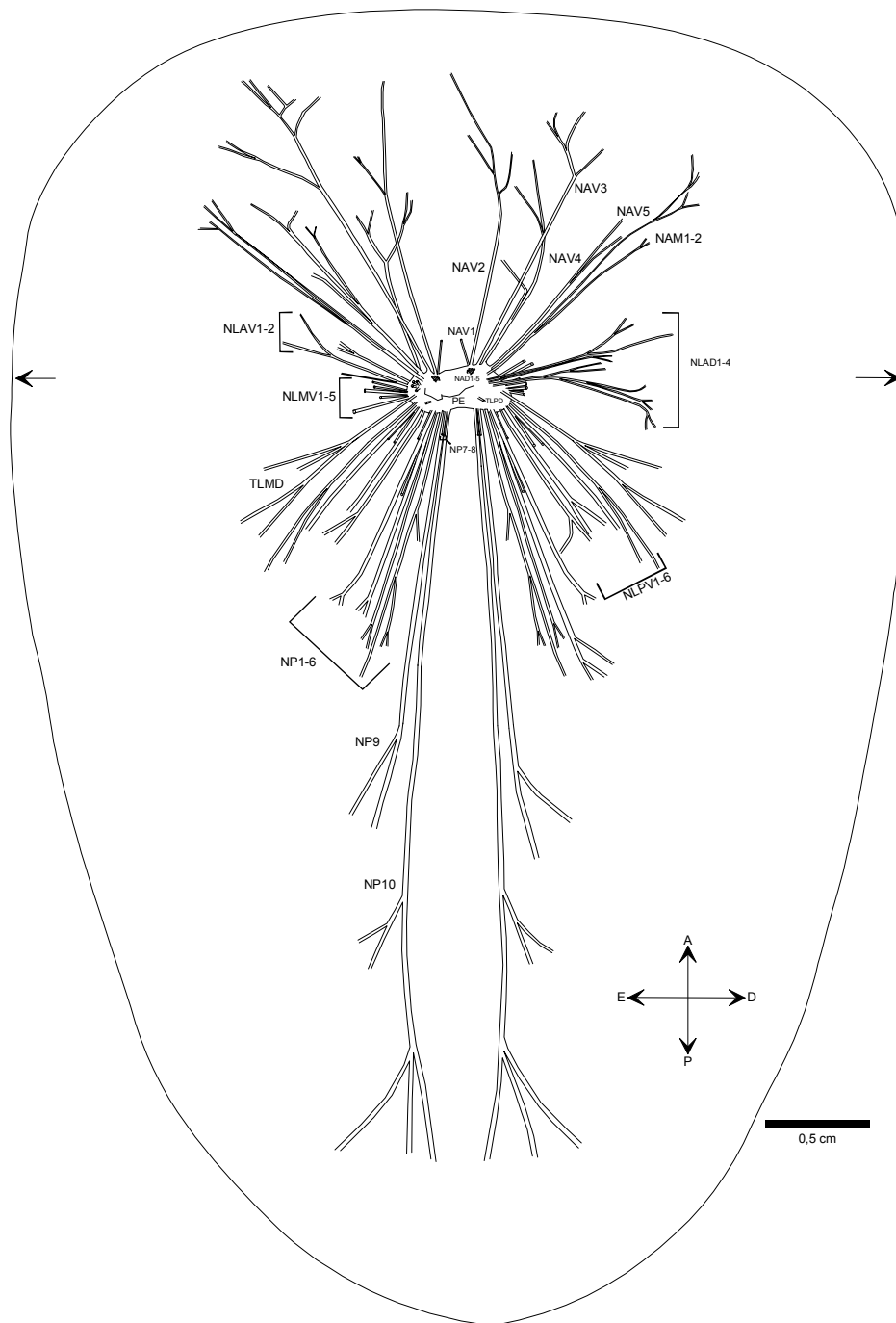


Figura 5 – Esquema representativo da projeção dos nervos que se originam dos gânglios pedais até o limite da dissecção do trajeto nervoso na sola do pé de *M. oblongus* (delimitado pelo contorno – seta). Mostrando os nervos do I tronco pedálico (NADS1-5), nervos do II tronco (NADI1, NADI2), nervos do III tronco pedálico (NAV1-5), nervos do IV tronco (NLAD1-4), nervos do V tronco pedálico (NLAV1-2), tronco látero-posterior dorsal (TLPD), nervos do VII tronco (NLPV1-5), tronco póstero-lateral dorsal (TPLD), nervos do IX tronco (NPLV1-6) e nervos do X tronco (NP1-10).

Figura 6 - (A) Fotomicrografia de seção sagital da porção lateral do gânglio pedal direito do caracol pulmonado *M. oblongus*, corado com hematoxilina-eosina, mostrando a emergência de alguns troncos nervosos ventrais (2, 4, 6, 7) e dorsais (1, 3, 5), envolvidos por tecido conjuntivo (Δ). Na região ventral do corte pode ser visualizada uma porção cortical celular do gânglio pedal direito (\blacktriangle). 1. II tronco nervoso pedal (TAD1); 2. III tronco nervoso pedal (TAV), mostrando o início da formação dos nervos (NAV1-NAV5); 3. Nervos NLAD1-4; 4. V tronco nervoso pedal (TALV); 5. VI tronco nervoso pedal; 6. VII tronco nervoso pedal; 7. alguns nervos do IX tronco nervoso pedal (TPLV). (B) Fotomicrografia de seção sagital da porção proximal dos nervos pedais esquerdos, envolvidos por tecido conjuntivo (Δ), que se direcionam posteriormente no pé do caracol pulmonado *M. oblongus*, mostrando o VI tronco nervoso pedal (1), os nervos (NPL1-6) do IX tronco nervoso pedal (2) e os nervos NP1-10 do X tronco nervoso pedal (3). Os nervos selecionados ($*$) (NP7, NP8, NP9, NP10), foram os utilizados para os experimentos de marcação anterógrada e retrógrada. Barra: 200 μ m

Figura 7 - Vistas dorsais do complexo ganglionar subesofageal (S) do caracol pulmonado *M. oblongus*, o qual repousa sobre a glândula suprapediosa (GS), mostrando o conetivo cérebro-pleural (contorno de estrela) e o cérebro-pedal (estrela preta). (A) Nervo NAV1 do lado direito (seta) penetrando na porção anterior da glândula suprapediosa; asterisco: NAV2 e NAV4. (B) Nervos que emergem a partir dos troncos nervosos dorsais do gânglio pedal direito (setas a e b), identificando o I tronco nervoso pedal (a) e alguns de seus nervos (cabeças de seta) penetrando em fibras anteriores do músculo retrator do pé ipsilateral (MRP), e mostrando o VIII tronco nervoso pedal (b) e suas ramificações (cabeças de setas duplas) penetrando em fibras posteriores do músculo retrator do pé ipsilateral (MRP). Barra: 0,08 cm.

**INFUSÃO ATRAVÉS DE NERVOS
DO GÂNGLIO PEDAL ESQUERDO**

**INFUSÃO ATRAVÉS DE NERVOS
DO GÂNGLIO PEDAL DIREITO**

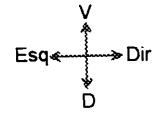
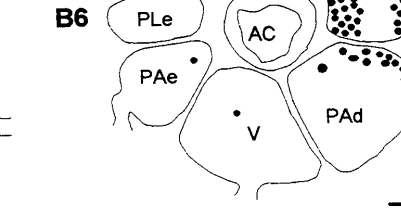
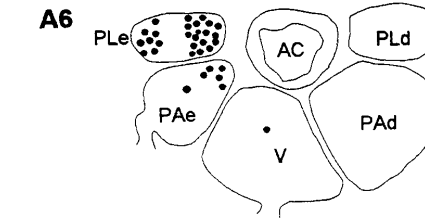
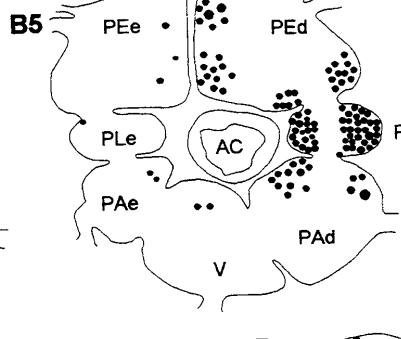
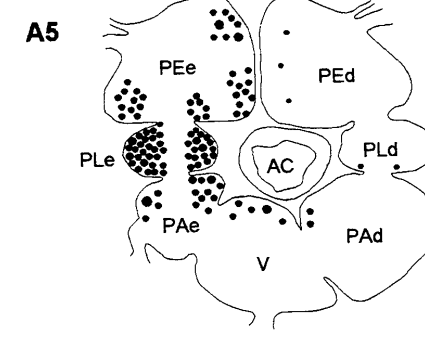
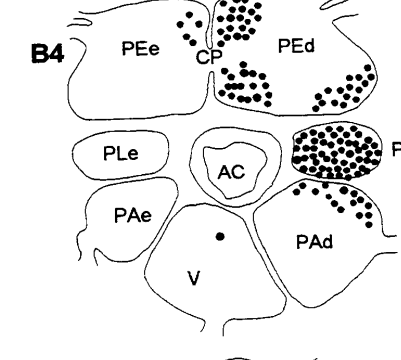
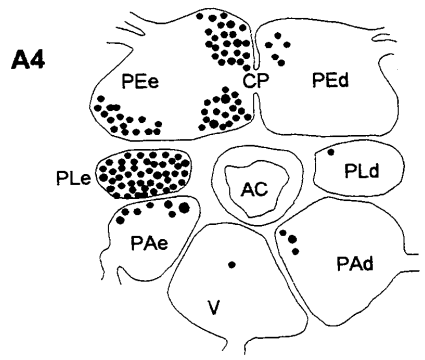
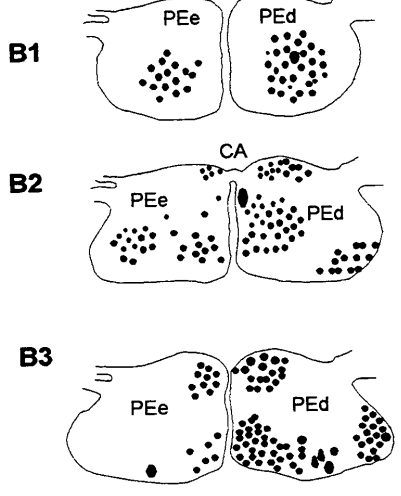
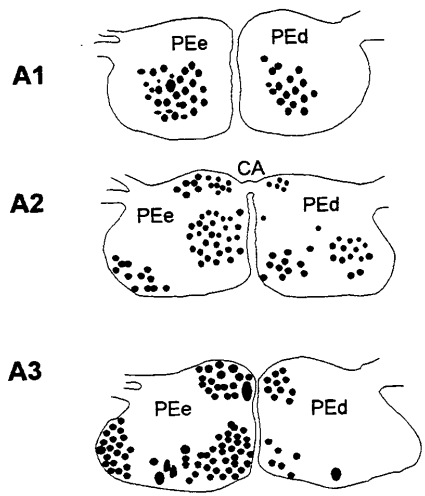


Figura 8 – Representação esquemática da distribuição dos neurônios marcados nos gânglios subesofageais de *Megalobulimus oblongus*, por infusão retrógrada de CoCl_2 a partir dos nervos posteriores NP7-NP10 dos gânglios pedais direito e esquerdo. A1-A6: marcação dos nervos do gânglio pedal esquerdo; B1-B6: marcação dos nervos do gânglio pedal direito. A1 e B1: cortes ventrais dos gânglios pedais; A2 e B2: cortes ao nível da comissura anterior dos gânglios pedais; A3 e B3: cortes médio-ventrais dos gânglios pedais;. A4 e B4: cortes ventrais dos gânglios pleurais, parietais e visceral e cortes ao nível da comissura principal dos gânglios pedais; A5 e B5: cortes ao nível dos conetivos nos gânglios pleurais, parietais e visceral e cortes dorsais dos gânglios pedais; A6 e B6: cortes dorsais dos gânglios pleurais, parietais e visceral; AC: artéria cefálica, PEd: gânglio pedal direito, PEe: gânglio pedal esquerdo, PLd: gânglio pleural direito, PLe: gânglio pleural esquerdo, PAd: gânglio parietal direito, PAe: gânglio parietal esquerdo, V: visceral, CA: comissura anterior, CP: comissura principal. Barra: 500 μm

Figura 9 - Fotomicrografia de secção horizontal do gânglio pedal esquerdo (PE) de *M. oblongus*, após infusão retrógrada de CoCl_2 através dos nervos pedais NP7-10, mostrando 3 cortes seqüenciais de uma região mais dorsal (A) para regiões mais ventrais (B,C), sendo todos em plano ventromedial (entre as duas comissuras). São demonstrados neurônios marcados na região ântero-medial (1), póstero-medial (2) e póstero-lateral (3) e marcação do neuropilo (estrela) que aumenta com a proximidade da área de origem dos nervos marcados, sendo mais intensa em C (mais ventral). Podem ser vistos neurônios de diferentes diâmetros; A: neurônios médios (setas) e pequenos (ponta de seta); B: um neurônio grande no bordo posterior do gânglio (seta larga), neurônios médios (seta) e pequenos (ponta de seta). C: um neurônio grande no bordo ântero-medial do gânglio (seta larga), neurônios médios (seta) e pequenos (ponta de seta). Barra: $90\mu\text{m}$

Figura 10 - Fotomicrografias de secções horizontais do gânglio pedal esquerdo (PE) de *M. oblongus*, após infusão retrógrada de CoCl_2 através dos nervos pedais NP7-10, mostrando 4 cortes seqüenciais da região mais dorsal (A) para a região mais ventral (D), sendo todas em plano ventral (pouco mais ventrais que os cortes da Figura 10). No gânglio pedal ipsilateral à marcação (1), podem ser visualizados os nervos marcados na região ântero-lateral (triângulo) (A e B), intensa marcação de fibras na região neuropilar (N) e alta concentração de neurônios pequenos e médios marcados (setas largas) (em menor número nos cortes C e D) sendo possível identificar também um neurônio grande marcado (seta fina) em D. Nos cortes B e C visualiza-se a comissura anterior (CA), evidenciando o grande número de fibras marcadas que passam por ela e penetram no gânglio pedal contralateral (2) mostrando maior número de neurônios pequenos e médios marcados (contorno de seta larga) neste gânglio em relação aos cortes mais dorsais. Barra: 180 μm

Figura 11 - Fotomicrografias de secções horizontais, no plano mediano, dos gânglios pedal esquerdo (pe), pleural esquerdo (pl), parietal esquerdo (pa) e visceral (v), após infusão retrógrada de CoCl_2 através dos nervos NP7-10 do gânglio pedal esquerdo de *M. oblongus*. (A) No gânglio pedal esquerdo (pe), podem ser visualizados corpos neuronais marcados na região pósteromedial (seta larga) e circundando a região do conetivo pedal-pleural (setas médias). Fibras marcadas no neuropilo deste gânglio (setas finas), no conetivo pedal-pleural (estrela), no neuropilo (ponta de seta) do gânglio pleural esquerdo no conetivo pleural-parietal (contorno de estrela), no neuropilo (ponta de seta) do gânglio parietal esquerdo (pa), na região mais anterior (ponta de seta) do conetivo parietal-visceral esquerdo (asterisco) e na região anterior do gânglio visceral (v), junto a um neurônio marcado (ponta de seta). No gânglio pleural esquerdo podem ser visualizados vários corpos celulares de neurônios marcados na região lateral e medial ao neuropilo e no gânglio parietal esquerdo é possível identificar dois neurônios médios marcados na região medial deste gânglio. (B) Os mesmos gânglios mostrados na figura A, porém contralaterais à marcação. Visualizam-se poucas fibras marcadas com maior quantidade no gânglio visceral (ponta de seta). Um neurônio médio aparece marcado (seta) na região anterior do gânglio parietal esquerdo (pa). Barra: 180 μm

Figura 12 - Fotomicrografia de secção horizontal no plano mediano, do complexo ganglionar subesofageal de *M. oblongus*, após infusão retrógrada de CoCl_2 através dos nervos NP7-10 do gânglio pedal direito. Os gânglios pedais direito e esquerdo (PED e PEE) apresentam-se unidos pela comissura principal (CP) (localizada em cortes dorsais deste gânglio) a qual mostra fibras marcadas passando do gânglio pedal ipsilateral à marcação para o contralateral (PEE) (ponta de setas duplas). O gânglio pedal direito (PED) apresenta maior quantidade de neurônios e fibras marcadas que o esquerdo (PEE). Notar neurônios marcados em grande quantidade na região ântero-medial do gânglio pedal ipsilateral (seta dupla - a), alguns marcados na região pósteromedial do gânglio pedal próxima à CP (seta dupla - b), e outros somas marcados localizados na região medial às fibras marcadas que se direcionam para a região do conetivo pedal-pleural direito (seta dupla - c); o neuropilo (N) apresenta marcação de fibras, com maior quantidade direcionando-se para o gânglio pleural direito através do conetivo (localizado em corte mais dorsal). O gânglio pleural direito (PLD) apresenta-se em corte mais ventral que o da esquerda, não sendo possível identificar os conetivos pedal-pleural e pleural-parietal. Neste gânglio observam-se neurônios pequenos e médios marcados e fibras marcadas penetrando em sua região anterior.

Notar alguns neurônios marcados no gânglio parietal direito na região próxima ao gânglio pleural direito (PAD) (contorno de seta larga), fibras marcadas mais concentradas na região anterior do conetivo parietal-visceral direito (seta), neurônios marcados na região anterior (triângulo) do gânglio visceral (V) e fibras finas marcadas nas regiões central e anterior deste gânglio (seta). O gânglio pedal contralateral exibe dois neurônios marcados (setas) em suas regiões ântero-medial e pósteromedial e fibras marcadas no neuropilo (N) que se direcionam para o gânglio pleural esquerdo (PLE) através do conetivo pedal-pleural esquerdo (asterisco), seguem ao longo do neuropilo deste gânglio e chegam até o conetivo pleural-parietal esquerdo (estrela) na região anterior do gânglio parietal esquerdo (PAE), o qual é unido ao visceral através do conetivo parietal-visceral esquerdo (contorno de estrela). Barra: 180 μm

Figura 13 - Fotomicrografia de secção horizontal no plano mediano, do complexo ganglionar subesofageal de *M. oblongus*, após infusão retrógrada de CoCl_2 através dos nervos NP7-10 do gânglio pedal esquerdo (PE). Podem ser visualizados neurônios marcados (ponta de seta maior) na região pósterolateral do gânglio pedal esquerdo (PE) e neurônios pequenos marcados (ponta de seta menor) no gânglio pleural (PL). Fibras marcadas (seta larga) podem ser visualizadas no PE, direcionadas para o conetivo pedal-pleural (asterisco); algumas fibras (setas finas) penetram e seguem ao longo do conetivo cérebro-pedal (estrela). Barra: 90 μm

Figura 14 - Fotomicrografia de secção horizontal do gânglio cerebral direito (GCD) no nível da comissura cerebral, após infusão de cloreto de cobalto nos nervos NP7 a NP10 do gânglio pedal direito. (A) fibras marcadas, próximas à comissura cerebral, na porção mais medial do mesocérebro direito (setas). O esquema representando a localização da fotomicrografia (representado por um retângulo) encontra-se no canto inferior direito desta figura. mc: mesocérebro; psc: pós-cérebro; cc: comissura cerebral. Barra: 35 μm .

Figura 15 - Fotomicrografias de uma mesma secção horizontal dos gânglios cerebrais ao nível da comissura cerebral (CC), após infusão de cloreto de cobalto nos nervos NP7 a NP10 do gânglio pedal direito. (A) Fibras marcadas, na comissura cerebral (setas largas), mostrando também fibras marcadas penetrando no pós-cérebro do gânglio cerebral esquerdo (contralateral à marcação) (setas finas). (B) Fibras marcadas (cabeças de seta), na região anterior do neuropilo do gânglio cerebral esquerdo entre o pró-cérebro e o mesocérebro. O esquema representando a localização de cada fotomicrografia (representado por um retângulo) encontra-se no canto superior direito desta figura. mc: mesocérebro; psc: pós-cérebro; cc: comissura cerebral. Barra: 35 μm .

Figura 16 - Fotomicrografias de secções transversais do lado direito da porção posterior do pé do caracol *M. oblongus*, após infusão anterógrada de CoCl_2 através dos nervos pedais NP7-NP10 ipsilaterais à marcação. A: feixe de fibras nervosas percorrendo a região central do pé (seta longa), passando entre fibras musculares do pé (estrela) direcionando-se para a extremidade lateral do pé (cabeça de seta). B: feixe de fibras nervosas direcionadas da região medial e central do corte para a superfície dorsal (seta curva), mostrando ramificações varicosas (setas pequenas). C: feixes maiores de fibras nervosas marcadas localizadas na região central do corte (seta larga) e um feixe mais fino de fibras musculares orientadas para a região subepitelial dorsal do pé. A e C: Barra 180 μm ; B: Barra: 17,5 μm .

Figura 17 - Fotomicrografias de secções transversais do lado direito da porção posterior do pé do caracol *M. oblongus*, após infusão anterógrada de CoCl_2 através dos nervos pedais NP7-NP10 ipsilaterais à marcação, mostrando feixes de fibras nervosas (seta larga) e suas ramificações na musculatura pediosa (estrela), e fibras nervosas passando entre as células musculares (cabeças de seta), localizadas na região central do corte. (A) Barra: 35 μm ; (B) Barra: 17,5 μm .

Figura 18 - Fotomicrografias de secções transversais do lado direito da porção posterior do pé do caracol *M. oblongus*, após infusão anterógrada de CoCl_2 através dos nervos pedais NP7-NP10 ipsilaterais à marcação. (A) notar um feixe de fibras nervosas, bifurcando-se em dois feixes menores direcionados para a região dorsal do pé (seta maior) e enviando ramificações colaterais para a musculatura pediosa (estrela) (seta menor); (B) Feixes de fibras musculares e suas finas ramificações localizadas entre as células musculares (estrela) (setas menores), na região central do corte. Barra: 17,5 μm

Figura 19 - Fotomicrografias de secções transversais do lado direito da porção posterior do pé do caracol *M. oblongus*, após infusão anterógrada de CoCl_2 através dos nervos pedais NP7-NP10 ipsilaterais à marcação. Observar fibras nervosas (setas curvas) no epitélio ventral do pé (X), com algumas fibras terminando na zona basal do epitélio (em B, seta reta). (A) Barra: 35 μm ; (B) Barra: 17,5 μm

Figura 20 - Fotomicrografia de secção transversal do lado direito da porção posterior do pé do caracol *M. oblongus*, após infusão anterógrada de CoCl_2 através dos nervos pedais NP7-NP10 ipsilaterais à marcação notar duas porções seccionadas de feixes de fibras nervosas (contorno de setas), feixes menores de fibras nervosas ramificando-se (seta larga), e um feixe longo mais fino (setas largas menores) direcionado, através da musculatura pediosa (estrela) para a superfície dorsal do pé (X) Barra: 35 μm

TABELA 1 - Troncos e Nervos que emergem de cada gânglio pedal do caracol pulmonado

Megalobulimus oblongus

TRONCOS	NERVOS	AREA INERVADA
I. TRONCO ÂNTERO-DORSAL (TAD)	NAD 1-5	Fibras mais anteriores do músculo retrator do pé.
II. TRONCO ÂNTERO-MÉDIO (TAM)	NAM 1-2	Musculatura ântero-lateral do pé do caracol
III. TRONCO ÂNTERO-VENTRAL (TAV)	NAV1	Glândula suprapediosa
	NAV2	Musculatura pediosa ântero-medial do pé
	NAV3	Musculatura pediosa anterior do pé
	NAV4	Musculatura pediosa anterior do pé
	NAV5	Musculatura pediosa ântero-lateral do pé
IV. TRONCO LÁTERO-ANTERIOR DORSAL (TLAD)	NLAD1-4	Musculatura pediosa e superfície corporal lateral
V. TRONCO LÁTERO-ANTERIOR VENTRAL (TLAV)	NLAV1-2	Musculatura pediosa ântero-lateral
VI. TRONCO LÁTERO-MÉDIO DORSAL (TLPD)		Musculatura e superfície corporal látero-posterior
VII. TRONCO LÁTERO-MÉDIO VENTRAL (TLPV)	NLMV1-5	Musculatura pediosa em sua porção látero-média (terço médio do pé)
VIII. TRONCO LÁTERO-POSTERIOR DORSAL (TLPD)		Fibras posteriores do músculo retrator do pé
IX. TRONCO LÁTERO-POSTERIOR VENTRAL (TLPV)	NLPV1-6	Terço central do pé, mais lateralmente
X. TRONCO POSTERIOR (TP)	NP1-4	Musculatura pediosa da região pósteromedial do terço central do pé e anterior do terço posterior do pé
	NP5-6	Metade posterior e medial do terço central do pé e metade anterior do terço posterior do pé
	NP7-10	Musculatura pediosa do terço posterior do pé

2. MARCAÇÃO RETRÓGRADA

A infusão de cloreto de cobalto foi realizada através dos nervos NP7, NP8, NP9 e NP10, os mais mediais do tronco posterior. Estes nervos marcados foram visualizados em cortes horizontais mais ventrais, na região ântero-lateral do gânglio pedal ipsilateral à marcação. Após a análise dos experimentos foi realizada a descrição do trajeto das fibras da distribuição dos corpos neuronais marcados no anel periesofageal do caracol pulmonado *M. oblongus*, através do gânglios pedais direito e esquerdo (Fig. 8; Fig.12; Tabela 3).

Os experimentos que apresentaram marcação de neurônios e fibras no controle, ou seja, os experimentos com suspeita de vazamento da área de contenção com vaselina, onde se encontrava o CoCl_2 , para o compartimento da solução fisiológica, foram desconsiderados. Assim, para este trabalho, foram utilizadas para a descrição, três preparações com os nervos marcados do lado direito e três do lado esquerdo, os quais não apresentaram as características citadas acima. Cabe ressaltar que os neurônios identificados e descritos a seguir também foram encontrados marcados nos experimentos em que ocorreram os supostos “vazamentos”, reforçando a consistência dos resultados apresentados.

O transporte de CoCl_2 nos nervos posteriores mediais de um dos lados, resultou na marcação de fibras nervosas e somas neuronais percorrendo todo o complexo ganglionar subesofageal. Esta marcação ocorreu principalmente nos gânglios pedais e no gânglio pleural ipsilateral à infusão de CoCl_2 , os quais apresentaram o mesmo número e distribuição de neurônios marcados, independente do lado da marcação. Nos gânglios parietais, visceral e pleural contralateral à marcação foi verificado menor número de neurônios marcados,

com pequenas variações referentes à distribuição e quantidade destes, dependentes do lado da infusão de CoCl_2 .

2.1 GÂNGLIOS PEDAIS

Foram visualizadas fibras nervosas penetrando no gânglio pedal ipsilateral à marcação dos nervos, e a partir deste, direcionando-se através do conetivo cérebro-pedal para o gânglio cerebral do mesmo lado, através do conetivo pedal-pleural para o gânglio pleural ipsilateral e através das comissuras pedais para o gânglio pedal contralateral à marcação (Fig.13). Também foram encontradas algumas fibras penetrando no gânglio pleural contralateral à marcação através do conetivo pedal-pleural contralateral. Porém, o número de fibras marcadas dirigidas ao gânglio pleural ipsilateral foi muito maior que as que percorreram o conetivo pedal-pleural contralateral ou até mesmo o conetivo cérebro-pedal ipsilateral.

Encontrou-se grande quantidade de neurônios marcados no gânglio pedal ipsilateral à marcação e, em menor quantidade, no gânglio pedal contralateral (Tabela 2). As regiões ventromedial e ventral do gânglio pedal ipsilateral e região ventral do gânglio pedal contralateral foram as que apresentaram maior número de neurônios marcados.

2.1.1 Gânglio pedal ipsilateral à marcação

Nos cortes horizontais do gânglio pedal ipsilateral, a distribuição de neurônios ocorreu em três grupos principais, o grupo ântero-medial, o grupo pósteromedial e o grupo látero-posterior (circundando a região do conetivo pedal-pleural; Fig. 9). Intensa marcação do neuropilo foi evidenciada em vias neurais que se dirigem para estes grupos.

No gânglio pedal ipsilateral ocorreu a maior concentração de corpos neuronais dentre os gânglios do anel periesofágico. Dorsalmente à comissura principal, foram encontrados cerca de 40 neurônios (\varnothing 15-30 μm) na margem látero-posterior do gânglio pedal, circundando o início do conetivo pedal-pleural, 24 neurônios (\varnothing 25-30 μm) localizados próximos à margem pósteromedial do gânglio pedal e cerca de 15 (\varnothing 25-40 μm) na região ântero-medial.

Ao nível da comissura principal, foram encontrados cerca de 26 neurônios (\varnothing 20-35 μm) marcados na região pósterolateral, próximos ao conetivo pedal-pleural, 28 neurônios (\varnothing 30-40 μm) na região pósteromedial (posterior à comissura principal) e 64 neurônios (\varnothing 25-40 μm) na região ântero-medial (anterior à comissura) (Fig.12).

Na região ventral à comissura principal, observou-se o maior número de neurônios no gânglio pedal ipsilateral à marcação (Fig. 9). Na região pósterolateral do gânglio pedal, foram encontrados cerca de 59 neurônios (\varnothing 20-35 μm) e um neurônio localizado no bordo lateral com cerca de \varnothing 45 μm de diâmetro. A região pósteromediana deste gânglio (próximo à margem posterior) apresentou dois corpos celulares de 55 μm de diâmetro (Fig. 09 A), um de 70 μm de diâmetro (Fig. 09B) e um de 40 μm de diâmetro, com axônios dirigindo-se anteriormente para o neuropilo. Na região pósteromedial foram encontrados aproximadamente 157 somas neuronais pequenos (\varnothing 20-35 μm) e na região mais central ao

gânglio 26 somas pequenos (\varnothing 20-30 μm) e 1 médio (\varnothing 45 μm). Na região ântero-medial cerca de 72 células médias (\varnothing 18-37 μm) marcadas e 16 células maiores (\varnothing 38-50 μm) foram observadas no ângulo ântero-medial do gânglio pedal ipsilateral.

Em cortes próximos à comissura anterior foi visualizado uma maior densidade de fibras na região central do gânglio com os neurônios localizando-se por toda a margem medial, principalmente posterior ao local da comissura anterior. Quando a marcação foi feita à esquerda, encontrou-se um neurônio grande marcado (\varnothing 150 μm), localizado na margem ântero-medial (Fig. 9C). Quando a marcação foi realizada à direita, um neurônio com o mesmo diâmetro e localização foi encontrado, também no gânglio ipsilateral à marcação, em cortes ao nível da comissura anterior.

Através da comissura anterior, muitas fibras nervosas marcadas cruzaram para o gânglio pedal contralateral. Em cortes ao nível desta comissura, na região medial do gânglio, foram encontrados cerca de 40 neurônios (\varnothing 30-40 μm) localizados anteriormente a esta comissura e cerca de 72 neurônios marcados (61 com \varnothing 20-40 μm ; 10 com \varnothing 40-50 μm e 1 com \varnothing 78 μm), localizados posteriormente à comissura. A região pósterio-lateral ao gânglio apresentou cerca de 40 neurônios (\varnothing 20-40 μm) marcados.

Em secções mais ventrais do gânglio pedal, onde o neuropilo desaparece, identificaram-se na região celular cortical cerca de 182 neurônios marcados (\varnothing 15-50 μm) e um neurônio grande de 100 μm de diâmetro.

2.1.2 Gânglio pedal contralateral à marcação

Em cortes mais dorsais, foram encontrados três neurônios marcados (\varnothing 20-30 μm) dispersos na região medial do gânglio pedal contralateral e algumas fibras marcadas.

Ao nível da comissura principal, foram visualizadas poucas fibras marcadas cruzando a comissura, vindas do gânglio pedal ipsilateral, e 5 neurônios marcados (\varnothing 20-30 μm) na região anterior, junto à margem medial.

Ventralmente à comissura principal, 11 corpos neuronais (\varnothing 15-25 μm) situados na região ântero-medial do gânglio pedal apresentaram marcação, na região póster-medial foram encontrados 6 neurônios marcados (\varnothing 20-25 μm) e um neurônio marcado na margem posterior do gânglio pedal contralateral à marcação com 115 μm de diâmetro.

Nas secções ao nível da comissura anterior, foi visualizada intensa marcação de fibras neuronais cruzando para o gânglio pedal contralateral a partir do gânglio pedal ipsilateral à marcação (Fig. 10). O número de neurônios em secções ventrais à comissura anterior no gânglio pedal contralateral foi muito maior que nos outros níveis de cortes horizontais, podendo afirmar que a maior parte das fibras que cruzaram esta comissura foram de neurônios do gânglio contralateral.

Ao nível da comissura anterior foram encontrados aproximadamente 53 neurônios marcados, sendo que 27 (\varnothing 20-30 μm) apresentaram-se localizados na região póster-medial e 20 (\varnothing 25-30 μm) na região central do gânglio e na região ântero-medial às fibras que cruzaram para este gânglio encontravam-se 6 corpos neuronais (\varnothing 20-30 μm).

Ventralmente a esta comissura encontrou-se a maior parte das células marcadas deste gânglio (Fig.. 10 D), cerca de 97 células marcadas com diâmetros

variando de 15 a 50 μm , sendo que as células com maior diâmetro estavam localizadas na região mais anterior do gânglio.

TABELA 2 - Número de somas neuronais marcados nos gânglios pedais de *M. oblongus* após infusão retrógrada de CoCl_2

LOCALIZAÇÃO	GÂNGLIO PEDAL IPSILATERAL	GÂNGLIO PEDAL CONTRALATERAL
Região dorsal	79	03
Nível da comissura principal	118	05
Região ventromedial	337	18
Nível da comissura anterior	132	53
Região ventral	195	97

2.2 GÂNGLIOS PLEURAIIS

As fibras axonais marcadas através dos nervos posteriores (NP7-NP10) do gânglio pedal chegaram até o gânglio pleural ipsilateral à marcação através do conetivo pedal-pleural, resultando em um grande número de fibras e células nervosas marcadas. Seguindo pelo gânglio pleural, as fibras penetraram no gânglio parietal e visceral, respectivamente através da região medial dos conetivos pleural-parietal e parieto-visceral (Fig. 11).

O número destas fibras que foram visualizadas percorrendo o complexo ganglionar a partir do gânglio pedal diminuiu ao longo do trajeto nos gânglios ipsilaterais à infusão de CoCl_2 , apresentando intensa marcação no conetivo pedal-

pleural, menor marcação no conetivo pleural-parietal e, poucas fibras marcadas no conetivo parietal-visceral.

2.2.1 Gânglio pleural ipsilateral à marcação

Em cortes dorsais foram observados cerca de 32 neurônios marcados sendo que, ao longo da região medial foram marcados 21 neurônios (\varnothing 20-35 μm) e na região lateral 11 neurônios (\varnothing 15-45 μm). Na região média, ao nível dos conetivos, foram encontrados cerca de 80 corpos neuronais marcados (\varnothing 15-50 μm) e na região lateral aproximadamente 118 corpos celulares de neurônios (\varnothing 15-50 μm) (Fig. 11A). Na região ventral foram encontrados cerca de 132 neurônios (\varnothing 15-50 μm), distribuídos no gânglio sem uma divisão clara entre medial e lateral.

2.2.2 Gânglio pleural contralateral à marcação

Neste gânglio foram encontradas algumas diferenças quanto ao número e localização dos neurônios marcados, de acordo com o lado dos nervos pedais em que foi realizada a infusão de cloreto de cobalto. Independente do lado do nervo marcado, o gânglio pleural contralateral à marcação apresentou fibras marcadas advindas do gânglio pedal também contralateral à marcação através do conetivo pedal-pleural (Fig., 11B).

Em cortes mais dorsais, foram vistas raras fibras marcadas direcionadas para a região lateral e medial do gânglio pleural sem somas marcados, em ambos os lados dos nervos marcados (Fig. 11B).

Ao nível dos conetivos, quando a marcação foi realizada à esquerda, foram encontrados 2 neurônios (\varnothing 15 e 20 μm) localizados no gânglio pleural direito, próximos ao conetivo pleural-parietal direito. E, quando a marcação foi realizada à direita, encontrou-se somente um neurônio com 20 μm de diâmetro na margem ântero-lateral do gânglio pleural esquerdo.

Nos cortes ventrais, quando a marcação foi realizada à esquerda encontrou-se um neurônio de 20 μm de diâmetro na margem ântero-medial do gânglio pleural direito, e quando esta foi realizada à direita, não houveram somas marcados.

2.3 GÂNGLIOS PARIETAIS

Estes gânglios também apresentaram algumas diferenças quanto ao número, diâmetro e localização dos neurônios marcados, de acordo com o lado dos nervos pedais em que foi realizada a infusão de cloreto de cobalto.

As fibras marcadas advindas do gânglio pleural ipsilateral à marcação penetraram no gânglio parietal também ipsilateral através do conetivo pleural-parietal, marcando somas neuronais e fibras neste gânglio. Algumas das fibras marcadas que percorriam este gânglio chegaram até o gânglio visceral e, através do conetivo parietal-visceral contralateral penetraram, embora em número

bastante reduzido, no gânglio parietal contralateral, o qual também recebe poucas fibras marcadas através do gânglio pleural contralateral (Fig. 11).

2.3.1 Gânglio parietal ipsilateral à marcação

No gânglio parietal direito, em cortes horizontais mais dorsais, foram encontrados aproximadamente 11 neurônios, sendo um com 50 μm de diâmetro, localizado próximo à margem medial do gânglio, 7 na faixa de 35 a 45 μm de diâmetro e 3 entre 25 e 30 μm de diâmetro, todos eles localizados ao longo da margem anterior do gânglio, próximos ao gânglio pleural direito.

Ao nível dos conetivos, na região ântero-lateral foram encontrados 4 neurônios sendo 3 deles com diâmetro entre 20-40 μm e um de 60 μm . Na região ântero-medial próximo ao conetivo pleural-parietal direito foram encontrados cerca de 11 neurônios marcados (\varnothing 15-40 μm).

Em cortes ventrais, foram marcados 15 neurônios com diâmetro entre 20–30 μm e um neurônio com 50 μm de diâmetro, localizados ao longo da margem anterior, próximos ao gânglio pleural direito.

No gânglio parietal esquerdo, em cortes horizontais mais dorsais, foram encontrados 6 neurônios, sendo um com 40 μm de diâmetro, localizado na região central ganglionar e 5 na faixa de 20 a 30 μm de diâmetro localizados principalmente na região ântero-medial encontrando-se um na região pósteromedial.

Ao nível dos conetivos, na região ântero-lateral foram encontrados 4 neurônios, três deles possuindo diâmetro entre 20-25 μm e um com 60 μm , e, na

região ântero-medial, próximo ao conetivo pleural-parietal direito, foram identificados 10 neurônios marcados (8 com \varnothing 15-40 μm e 2 com \varnothing 40 μm) sendo que destes, dois estavam mais localizados na região medial do gânglio parietal próximo ao gânglio visceral.

Em cortes ventrais, foram marcados 6 neurônios (\varnothing 25-40 μm) localizados ao longo da margem anterior, próximo ao gânglio pleural e um neurônio com diâmetro de 50 μm encontrados na região na margem ântero-medial do gânglio.

2.3.2 Gânglio parietal contralateral à marcação

Após a infusão de cloreto de cobalto através dos nervos posteriores pedais direitos (NP7-NP10) foi visualizado, na região medial do gânglio parietal esquerdo, um neurônio (\varnothing 35 μm) em cortes dorsais do gânglio e dois neurônios (\varnothing 20 e 30 μm) em cortes ao nível dos conetivos. Em cortes ventrais, foram encontradas somente algumas fibras marcadas percorrendo o gânglio.

Quando a marcação foi realizada à esquerda não houveram neurônios marcados em cortes dorsais do gânglio parietal direito, mas ao nível dos conetivos foram encontrados dois neurônios (\varnothing 20 e 25 μm) e em cortes ventrais três neurônios (\varnothing 25, 30 e 40 μm), sendo que todos estavam localizados na região medial do gânglio, próximos ao conetivo parietal-visceral direito.

2.4 GÂNGLIO VISCERAL

Neste gânglio foram visualizadas fibras percorrendo a área medial do neuropilo, projetando-se em direção ao conetivo parieto-visceral do lado contralateral à marcação (Fig. 11A). O número de fibras marcadas no conetivo parieto-visceral ipsilateral ao nervo pedal marcado foi maior do que no conetivo parieto-visceral contralateral (Fig. 11).

Em cortes horizontais mais dorsais foi encontrado um neurônio de 25 μm de diâmetro localizado na região ântero-mediana do gânglio visceral, tanto com marcação dos nervos posteriores pedais (NP7-NP10) à direita quanto à esquerda.

Em cortes ao nível dos conetivos e ventrais, foi encontrado um padrão de distribuição não simétrica em relação aos lados de infusão de cloreto de cobalto. Ao nível dos conetivos, quando a marcação foi realizada à direita, na região ântero-mediana foram encontrados 2 neurônios (25 e 30 μm), enquanto que, quando esta foi feita à esquerda, marcou 4 neurônios com 20 μm de diâmetro cada e um com 40 μm de diâmetro, localizados na região anterior do gânglio visceral. Em cortes ventrais, com marcação dos nervos realizada à direita, foi encontrado, na região ântero-mediana do gânglio visceral, um neurônio de 40 μm de diâmetro, e com marcação à esquerda, foi encontrado um neurônio de 30 μm de diâmetro, na mesma região de localização.

2.5 GÂNGLIOS CEREBRAIS

Foram encontradas fibras nervosas marcadas percorrendo os conetivos cérebro-pedal (Fig. 13) e cérebro-pleural, vindas dos gânglios pedal e pleural ipsilateral à marcação, dos nervos NP7-NP10.

Este gânglio não apresentou corpos celulares marcados, todavia, fibras marcadas foram detectadas em regiões médias dos gânglios, em cortes ao nível da comissura cerebral.

No neuropilo dos gânglios cerebrais, encontraram-se poucas fibras marcadas, principalmente na região anterior, entre a região neuropilar ventral ao pró-cérebro e o lateral ao mesocérebro (Fig. 15 B). O gânglio cerebral ipsilateral à marcação apresentou maior quantidade de fibras marcadas direcionando-se para a comissura cerebral.

Foram encontradas fibras com terminações ramificadas na comissura cerebral, mais próximas ao gânglio cerebral ipsilateral à marcação, assim como fibras que deste gânglio passam através da comissura, para o lobo pleural do pós-cérebro do gânglio cerebral contralateral à marcação (Fig. 15 A).

Também foram detectadas, no gânglio cerebral ipsilateral à marcação, no mesmo plano em que se encontra o neurônio gigante, terminações de fibras nervosas na região do mesocérebro (Fig. 14).

Em cortes ventrais e dorsais destes gânglios, não foram visualizados corpos celulares e fibras nervosas marcadas.

TABELA 3 - Número de somas neuronais marcados nos gânglios parietais, pleurais, visceral e cerebrais de *M. oblongus* após infusão retrógrada de CoCl_2 dos nervos posteriores mediais NP7-NP10

GÂNGLIO		REGIÃO DORSAL		NÍVEL DOS CONETIVOS		REGIÃO VENTRAL	
		DIR	ESQ	DIR	ESQ	DIR	ESQ
PLEURAL	IPSILATERAL	32	32	198	198	132	132
	CONTRALATERAL	0	0	1	2	0	1
PARIETAL	IPSILATERAL	11	6	15	14	15	7
	CONTRALATERAL	1	0	2	2	0	3
VISCERAL		1	1	2	5	1	1
CEREBRAIS		0	0	0	0	0	0

3. MARCAÇÃO ANTERÓGRADA

De acordo com os resultados referentes à distribuição anatômica dos nervos pedais, previamente descritos, os nervos mediais do tronco posterior direito e esquerdo (NP7-NP10), os quais emergem na porção ventral dos gânglios pedais, se dirigem para o terço posterior do pé do caracol pulmonado *M. oblongus*. Após a infusão anterógrada de CoCl_2 através destes nervos, foram realizados cortes transversais da porção posterior do músculo, onde pode ser visualizado o trajeto das fibras nervosas marcadas.

Os feixes nervosos mais calibrosos marcados, foram identificados ao longo da região medial da musculatura pediosa dirigindo-se para a extremidade posterior do pé. Ao longo do trajeto destes feixes, foi possível visualizar ramificações originando grupos de fibras cada vez menores as quais se apresentaram direcionadas para uma região muito próxima à borda lateral do pé (Fig. 16A).

Observou-se fibras nervosas marcadas passando entre as fibras musculares (Figs. 17 e 18), entre as quais foi possível examinar a presença de varicosidades (Fig. 16B).

Fibras muito finas marcadas foram encontradas no epitélio ventral, alcançando a superfície pediosa ventral (Fig.19). Não foi observado nenhum corpo celular marcado ao longo do segmento distal das fibras que se estendem entre as células epiteliais.

Apesar de muitas fibras direcionarem-se para a região subepitelial dorsal (Fig. 16B, 16C e 20), não foi possível verificar claramente fibras marcadas no epitélio dorsal do pé deste animal, devido a sua ausência ou por sua presença ter sido mascarada pela intensa reação inespecífica das glândulas exócrinas, as quais se localizam em maior número nesta região do integumento.

Não foi possível verificar a presença de terminações de fibras nervosas marcadas nos gânglios dos plexos pedioso e subepitelial. Não se pode afirmar, pela espessura dos cortes escolhida para observar a distribuição da inervação da musculatura pediosa e do integumento, que as fibras marcadas que foram encontradas juntas aos agrupamentos celulares que constituem os gânglios periféricos, estivessem exatamente nos mesmos planos horizontais ou coronais, ou seja, que as fibras estivessem passando por dentro dos gânglios periféricos e fazendo conexões com estes neurônios.

Também não foram encontrados corpos celulares marcados em gânglios periféricos, os quais poderiam estar enviando projeções através dos nervos pedais posteriores NP7-NP10, para os gânglios centrais.

DISCUSSÃO

1 INERVAÇÃO PEDIOSA DE *MEGALOBULIMUS OBLONGUS*

Em *M. oblongus*, os gânglios pedais encontram-se na região cefálica do corpo do animal, posicionados ventralmente no complexo ganglionar subesofageal, repousando sobre a glândula suprapediosa, de maneira muito similar à descrita em *Strophocheilus lorentzianus* (SCOTT, 1939) e em *Helix* (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; KERKUT; WALKER, 1975).

Em gastrópodes, a maioria dos nervos emergem lateralmente a partir dos gânglios pedais e dirigem-se para o interior do pé suprindo as regiões anterior, média e posterior da musculatura pediosa e do integumento, alguns nervos direcionam-se para a parede corporal dorsal à borda do pé e para o sistema reprodutivo (HYMAN, 1967; DORSETT, 1986; LUCHTEL et al., 1997).

Muitos autores descreveram os nervos que emergem dos gânglios pedais, em várias espécies de moluscos gastrópodes, demonstrando grande divergência quanto ao número e áreas inervadas pelos mesmos em diferentes espécies (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). Estas diferenças quanto ao número de nervos que emergem dos gânglios pedais podem ter relação com o processo evolutivo, com a variação de locais de origem dos nervos nos gânglios nas diferentes espécies e com o fato de que muitos nervos não possuem seus nomes estabelecidos. Assim como, podem ser decorrentes de denominações não

uniformes utilizadas pelos autores em suas descrições, por considerar os nervos em troncos ou separadamente. Ressalta-se que sequer as convenções referentes à nomenclatura dos nervos são padronizadas (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; GRASSÉ, 1968; ROSENBERG, 1996)

Dentro de uma ampla variedade de convenções para a nomenclatura dos nervos, pode-se utilizar numerais romanos para identificar os principais nervos que emergem do gânglio e números arábicos ou letras na seqüência para identificar as ramificações de primeira ordem. De acordo com a origem dos nervos em cada gânglio, estes devem ser numerados de maneira seriada crescente de anterior para posterior (em uma direção horária do lado direito e anti-horária do lado esquerdo) (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; WILLOWS et al., 1973) e com o mais dorsal assumindo numeração maior que o mais ventral (ROSENBERG, 1996).

No presente estudo, foi adotada a seguinte nomenclatura para os troncos e nervos pedais, de acordo com sua origem em cada gânglio pedal. Os troncos nervosos foram identificados por letras, de acordo a região de origem no gânglio, e foram ordenados de anterior para posterior e de dorsal para ventral, através de números romanos. Da mesma forma, as ramificações ocorridas na porção proximal da maioria dos troncos nervosos, foram identificadas dentro de seu subgrupo, através de letras indicando a localização, seguidas por números arábicos para diferenciar os nervos de uma mesma região.

Em geral, os nervos pedais dos gastrópodes pulmonados, assim como em *M. oblongus*, são bilateralmente simétricos, partindo dos gânglios pedais também simétricos. A existência de alguns casos de assimetria, ocorre devido a um nervo que supre órgãos presentes em um só lado do corpo, como é o caso do pênis,

presente somente do lado direito do animal, o que favorece o desenvolvimento maior do gânglio pedal direito (DORSETT, 1986; LAWRENZ-MILLER, 1977; BULLOCK; HORRIDGE, 1965). A presença deste foi descrita em gastrópodes prosobrânquios como truncatelídeos (ROSENBERG, 1996) e opistobrânquios como *Tritonia* (WILLOWS et al., 1973) e *Aplysia punctata* (EALES, 1921 apud BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

Em *Lymnaea stagnalis* (gastrópode, pulmonado, basomatóforo), foram encontrados três nervos pediosos oriundos ventralmente de cada gânglio pedal, suprindo as regiões anterior, central e posterior da musculatura pediosa e integumento, e três nervos com emergência mais dorsal, dois deles inervando o integumento da parte da região cefálica (próxima aos tentáculos e aos lábios) e à região ântero-lateral da parede corporal, e um inervando o músculo columelar e integumento da parte póstero-lateral da parede corporal do pé, o qual foi descrito emergindo medialmente em relação ao nervo pedioso posterior (JANSE, 1974; DE VLIÉGER, 1968; GRASSÉ, 1968).

Em gastrópodes pulmonados estilomatóforos o número de nervos pedais e suas áreas de inervação aparecem descritos em vários trabalhos. Segundo Essawy (1994) a partir de cada gânglio pedal de *Eremina ehrenbergi*, emergem muitos nervos que inervam todas as partes do pé. Embora o número destes nervos seja difícil para estimar, a maioria dos animais dissecados apresentou 7 nervos principais de cada lado, alguns dos quais demonstraram mais de uma ramificação principal, e várias outras menores.

Em *Helix* foram descritos, no gânglio pedal, três nervos cutâneos pedais com origem na porção ântero-dorsal do gânglio, de 9 a 10 nervos originando-se ventralmente e se dirigindo para a musculatura pediosa inferior (este número

pode variar ligeiramente), um nervo que se originou um pouco mais dorsal que os outros inervando a musculatura pediosa superior e dois nervos para a artéria pedal (anterior e posterior) (BANG, 1916; BULLOCK; HORRIDGE, 1965; HYMAN, 1967; GRASSÉ, 1968; KERKUT; WALKER, 1975).

Em *Stenogyra decollata* foram descritos 8 nervos pedais emergindo de cada gânglio pedal (WILLE, 1915 apud HYMAN, 1967), porém, neste mesmo molusco, Grassé (1968) identificou a presença de 11 a 13 nervos pedais. Em *Achatina fulica* e *Acavus phoenix* foram encontrados 15 nervos e 11 nervos pedais, respectivamente (WIGNARAJAH, 1960 apud HYMAN, 1967).

Scott (1939) descreveu os nervos que partem dos gânglios pedais em *Strophocheilus lorentzianus* (pulmonata, stylommatophora). Um conjunto de vários nervos passa ventral ao músculo retrator tentacular primeiro e inervam o extremo anterior do pé e a zona vizinha à saída da glândula suprapediosa; um grupo de nervos no lado direito passa ventral ao oviduto e chega até a área genital; outro conjunto de nervos também originados na porção anterior do gânglio que acompanha a artéria cervical penetrando na musculatura à da frente à complexo ganglionar subesofageal; lateralmente, um nervo que passa dorsal ao oviduto (à direita) penetrando na musculatura pediosa e inerva a porção lateral do pé; outro nervo que penetra na musculatura pediosa medialmente ao anterior ventral ao oviduto (à direita); ainda vários nervos posteriores que se fundem na musculatura entre os fascículos dos retratores do pé em ambos os lados da glândula suprapediosa; outras raízes posteriores dão nervos que penetram na musculatura atrás dos anteriores, concentrada próxima a linha mediana; finalmente, o pacote de nervos posteriores, corresponde aos últimos nervos posteriores mediais do pé.

Os nervos de *M. oblongus* foram visualizados penetrando em diferentes áreas do pé, fornecendo inervação para toda a musculatura pediosa e integumento pedioso, musculatura retratora do pé e glândula suprapediosa. Estes nervos partem ao longo da superfície ventral e dorsal dos gânglios pedais, como também foi visto em *Lymnaea stagnalis* (JANSE, 1974; DE VLIEGER, 1968; GRASSÉ, 1968) e em *Helix* (KERKUT; WALKER, 1975; BULLOCK; HORRIDGE, 1965; BANG, 1916).

Em *M. oblongus* foram encontrados 10 troncos nervosos emergindo de cada gânglio pedal, sendo que a maioria ramificou-se em sua porção mais proximal, originando um total de 41 nervos pedais. Com base no grande número de nervos originados a partir dos troncos supomos que as descrições dos nervos pedais de diferentes espécies descritas acima se referem-se a troncos nervosos. Sendo assim, o número de troncos encontrados em *M. oblongus* está próximo ao número descrito para outros gastrópodes pulmonados terrestres, 7 em *Eremina ehrenbergi* (ESSAWY, 1994), 15-16 em *Helix* (KERKUT; WALKER, 1975; BULLOCK; HORRIDGE, 1965; BANG, 1916), 8-13 em *Stenogyra decollata* (WILLE, 1915 apud HYMAN, 1967; GRASSÉ, 1968), 15 em *Achatina fulica* e 11 em *Acavus phoenix* (WIGNARAJAH, 1960 apud HYMAN, 1967). Em *Strophocheilus lorentzianus* (SCOTT, 1939) o número de nervos não é definido, mas o trajeto deles é muito semelhante ao dos nervos de *M. oblongus*.

Em cada gânglio pedal, o tronco posterior ramifica-se proximalmente, originando dez nervos. Dentre estes, quatro estão mais próximos da linha mediana do pé, sendo dois nervos mais calibrosos (NP9, NP10) e dois mais finos (NP7, NP8). Estes foram utilizados para a realização de experimentos com marcação anterógrada e retrógrada, do presente trabalho, escolhidos dentre os

outros, devido a algumas facilidades em relação aos outros, como o calibre e a localização do grupo de nervos, facilitando a identificação e acesso; o comprimento dos nervos, chegando a dois terços do pé em NP10 e a sua provável importância funcional por inervar uma grande área pediosa.

Como em *M. oblongus*, muitos moluscos apresentaram estes nervos posteriores descritos como os mais calibrosos do pé, seguindo o mesmo trajeto (paralelo à linha mediana do pé) e inervando a mesma região pediosa. Este é o caso de *Phylloculis variegatus* (SOARES, 2001), *V. solea* (GRASSÉ, 1968), *Lymnaea stagnalis* (JANSE, 1974; DE VLIÉGER, 1968; GRASSÉ, 1968), *Eremina ehrenbergi* (ESSAWY, 1994), *Strophocheilus lorentzianus* (SCOTT, 1939) e *Helix* (KERKUT; WALKER, 1975; BULLOCK; HORRIDGE, 1965; BANG, 1916).

Os troncos nervosos pedais de *M. oblongus* que emergem do gânglio pedal, originaram nervos de diâmetros variados, com os mais calibrosos na superfície ventral do gânglio. Dos cinco troncos ventrais partem 27 nervos para todas as regiões da musculatura e do integumento pedioso e um para a porção anterior da glândula suprapediosa. Dentre os nervos dorsais, seis nervos finos enviam suas ramificações para o músculo retrator do pé e sete para musculatura pediosa e superfície corporal dorsal, os quais geralmente apresentam uma coloração do tecido conjuntivo mais escura e penetram em local mais distante do gânglio, quando comparado a muitos nervos ventrais.

Conforme o estudo anatômico previamente realizado por Peres (1994), foram descritos 15 nervos emergindo de cada gânglio pedal de *M. oblongus*. Destes, 13 dirigem-se para a musculatura pediosa, sendo dois para a região anterior, cinco para a região ântero-medial, quatro para a região pósteromedial e dois para a região posterior. Esta descrição apresenta muitas divergências em

relação aos dados encontrados no presente trabalho, sugerindo que tenham sido considerados somente os nervos mais calibrosos que emergem da superfície ventral do gânglio. Os outros dois nervos descritos pela mesma autora, neste animal, são nervos finos responsáveis pela inervação da glândula suprapediosa. No entanto, o que encontramos, neste mesmo animal, foi que a glândula suprapediosa é inervada por um nervo (NAV1) o qual é o primeiro nervo que se origina do tronco nervoso ântero-ventral de cada gânglio pedal.

Scott (1939) também encontrou em *Strophocheilus lorentzianus* um nervo que se origina entre as raízes anteriores e supre a glândula suprapediosa. Em Veronicellidae, este nervo direciona-se para os bordos anteriores da glândula suprapediosa, partindo também região anterior do gânglio pedal (GRASSÉ, 1968). O suprimento nervoso através do nervo pedal para a glândula suprapediosa também foi encontrado em *Cyclophorus* (BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

Conforme o estudo anatômico realizado por Peres (1994) no caracol pulmonado *M. oblongus*, não foram descritos nervos pedais penetrando na musculatura retratora do pé. Entretanto, foram encontrados, a partir do presente trabalho, dois troncos nervosos (um anterior e um látero-posterior) que enviam nervos, direcionados lateralmente, para as fibras da musculatura retratora do pé. O número maior de nervos foi encontrado inervando as fibras anteriores desta musculatura. Conforme Faccioni-Heuser (1999), o músculo columelar deste animal, inserido na columela da concha, direciona-se para a porção anterior do pé, dividindo-se em vários fascículos musculares, sendo que a maioria destes projeta-se ventralmente para inserir-se na musculatura pediosa. Assim, estes fascículos musculares, denominados retratores do pé, apresentam uma estrutura mais compacta, posteriormente, e mais ramificada anteriormente. Esta

distribuição dos feixes musculares e uma maior ramificação dos troncos anteriormente, indicam um suprimento nervoso mais específico a grupos de células musculares, o que sugere movimentos mais finos de controle muscular da região anterior do pé deste caracol. Os movimentos de retração corporal fazem parte do comportamento aversivo de *Megalobulimus oblongus*, cujo estudo farmacológico foi descrito por Penha (2001).

Os nervos pedais que suprem o músculo columelar também foram descritos em *Cyclophorus* (BULLOCK; HORRIDGE, 1965) e *Lymnaea stagnalis* (JANSE, 1974; DE VLIET, 1968; FERGUSON; BENJAMIN, 1991), assim como em *Aplysia*, suprimindo o músculo retrator da cabeça (BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

Os nervos possuem a função de conduzir, através de suas fibras, impulsos nervosos centrais para a periferia ou órgão efetor (impulsos eferentes) e da periferia, através dos receptores, para o sistema nervoso central (impulsos aferentes) (BERRY et al., 1995). Em gastrópodes ficou demonstrado que os nervos que emergem dos gânglios pedais são geralmente mistos, contendo unidades motoras e sensitivas (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; JAHAN-PARWAR; FREDMAN, 1978a; KANEKO; KATER, 1973).

Em *Helix*, os nervos mais dorsais que emergem dos gânglios pedais possuem funções essencialmente sensoriais e os nervos de origem ventral estão envolvidos diretamente com a locomoção do animal (BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

Embora em *M. oblongus*, ainda não se tenham bases suficientes para caracterizar os nervos dorsais e ventrais como sensoriais ou motores, pode-se inferir possíveis funções destes grupos, baseados nas áreas de inervação. Assim,

como os nervos ventrais mostraram-se direcionados para toda a extensão da musculatura e integumento pedioso, e para a glândula suprapediosa, estes podem estar envolvidos diretamente na locomoção, a qual é mantida por ondas pedais (envolvendo a contração da musculatura pediosa) e secreção de muco para aderência e deslizamento do pé sobre o substrato. Estes nervos ventrais também podem estar transmitindo informações sensoriais oriundas do integumento do pé e plexo periférico. Alguns nervos dorsais podem ter função predominantemente sensitiva, já que penetram na parede corporal podendo estar inervando o integumento dorsal do pé. Porém, não é provável que os outros nervos dorsais que inervam os músculos retratores pedais, tenham papel essencialmente sensitivo, já que as ramificações nervosas penetram em células musculares, sugerindo isto uma função motora.

Deve-se reconhecer, entretanto, que a anatomia não é em si uma base segura para deduções das funções, pois é importante considerar, por exemplo, que embora os ramos ventrais estejam direcionando-se e penetrando na musculatura, estes podem ainda assim, representar uma inervação sensorial proprioceptiva. Apenas estudos neurofisiológicos, associados aos achados anatômicos, poderiam assegurar estas suposições, como as expostas acima.

Em gastrópodes, as fibras nervosas percorrem trajeto entre as células musculares, e à medida que ocorre a aproximação, apresentam intensa ramificação, originando várias fibras nervosas terminais que contactam com uma ou mais células musculares adjacentes, embora uma única célula muscular pode apresentar várias terminações nervosas. Estas terminações nervosas possuem aparência de grande continuidade protoplasmática com o tecido muscular,

visualizadas como espessamentos das fibras nervosas, próximos às células musculares (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; FACCIONI-HEUSER et al., 1999a).

No presente trabalho, em *M. oblongus*, através da marcação anterógrada dos nervos pedais NP7-NP10, foi possível mapear o trajeto das fibras nervosas e visualizar a localização das terminações nervosas. Os feixes nervosos, emitiam ao longo de seu trajeto, várias ramificações, cada vez de menor diâmetro, as quais se apresentaram muito finas em sua porção terminal, algumas demonstrando a presença de varicosidades e terminando muito próximas às células musculares. Este padrão foi descrito de forma semelhante por Faccioni-Heuser et al. (1999a) em terminações neuromusculares, sugerindo que feixes nervosos vindos diretamente do complexo ganglionar subesofageal em direção à sola do pé de *M. oblongus*, possuem fibras que inervam diretamente as células musculares.

Os nervos pedais freqüentemente comunicam-se com outras ramificações de nervos vizinhos, formando os plexos (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). Em *M. oblongus* foi identificado um plexo subepitelial dorsal e um ventral e um plexo pedioso localizado mais medialmente. Na região dorsal da musculatura pediosa, ramos nervosos formam um plexo de fibras menos apertadas que na região ventral da musculatura pediosa (FACCIONI-HEUSER et al., 1995; RIGON et al., 1998; FACCIONI-HEUSER, 1999; MORIGUCHI-JECKEL, 2001).

A sensibilidade a vários estímulos químicos e mecânicos é propriedade do integumento localizado sobre a superfície dos moluscos, e com isso em todas as regiões do pé e parede corporal dorsal (LUCHEL et al., 1997). Abaixo do epitélio em todas as áreas do integumento, podem ser encontrados corpos neuronais de células receptoras sensoriais, as quais podem apresentar uma ou mais

ramificações dendríticas, que se estendem para a superfície entre as células epiteliais e formam terminações nervosas livres na superfície do epitélio, e uma fibra proximal, simples ou ramificada para dentro de um plexo nervoso subepitelial (HYMAN, 1967; BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

Conforme Luchtel et al. (1997), além de células aferentes primárias localizadas nos gânglios dos plexos subepiteliais, existem também células ganglionares que podem ser motoneurônios, os quais enviam seus processos para células musculares (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). No presente estudo, através da técnica utilizada e pela espessura dos cortes, não foi possível comprovar a presença de fibras nervosas terminando diretamente nos gânglios periféricos de *M. oblongus*. Mas, a aparente organização ramificada das fibras nervosas marcadas encontradas no pé, sejam subepiteliais ou musculares, permitem sugerir que provavelmente os gânglios periféricos, os quais também fazem parte desta rede, devem estar relacionados aos nervos oriundos dos gânglios pedais. Outras técnicas de marcação e cortes histológicos com espessuras menores serão realizadas para testar esta hipótese.

A intensa inervação serotoninérgica no pé *M. oblongus*, demonstrada tanto em fibras nervosas quanto em gânglios periféricos (FACCIONI-HEUSER, 1999), e o grande número de neurônios serotoninérgicos encontrados nos gânglios pedais deste animal (ZANCAN, et al. 1997), também reforçam a sugestão de que os neurônios destes gânglios inervem gânglios periféricos, através dos nervos pedais, mesmo que o procedimento técnico realizado no presente trabalho não permita esta verificação.

A inervação do pé (integumento + musculatura) de *M. oblongus*, também mostrou intensa imunorreatividade à neuropeptídios, tais como substância P e

FMRF-amida (RIGON et al., 1998; MORIGUCHI-JECKEL, 2001). Não se pode descartar assim a possibilidade de que algumas fibras marcadas com cloreto de cobalto sejam peptidérgicas.

Corpos de células nervosas centrais com processos sensoriais distais não são conhecidos em gastrópodes, mas como sua ocorrência foi vista em anelídeos e artrópodes, não seria surpresa encontrá-las (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). Conforme Luchtel et al. (1997), já foram identificados axônios sensoriais de quimiorreceptores tentaculares projetando-se diretamente para o gânglio cerebral de pulmonados aquáticos.

Neste estudo, fibras nervosas vindas diretamente dos nervos posteriores mediais (NP7-NP10), sem contato sináptico com gânglios periféricos, apresentaram-se marcadas pelo transporte anterógrado de cloreto de cobalto, na região subepitelial ventral, chegando até a superfície pediosa ventral. A presença de axônios constituintes dos nervos pedais posteriores terminando diretamente na periferia do integumento, entre as células epiteliais indica que também seguem pelos nervos pedais fibras sensoriais primárias.

Assim pode-se inferir que a partir das células neuronais de gânglios centrais de *M. oblongus*, partem fibras aferentes, as quais chegam até a superfície subepitelial ventral e fibras eferentes as quais inervam diretamente as células musculares.

2 MARCAÇÃO RETRÓGRADA

Com a realização da infusão retrógrada de CoCl_2 através dos nervos NP7, NP8, NP9 e NP10 seccionados, dos gânglios pedais direito e esquerdo, foi possível demonstrar a organização dos corpos celulares e fibras nervosas marcadas em gânglios do SNC de *Megalobulimus oblongus*.

Com a utilização deste tipo da infusão de cloreto de cobalto, foi possível identificar neurônios isolados os quais enviam projeções para os nervos seccionados (ALTRUP; PETERS, 1982; DAVIES, 1982). Assim, os corpos neuronais marcados no SNC de *M. oblongus*, enviam fibras nervosas diretamente para os nervos pedais NP7-NP10, através das quais o transporte de cloreto de cobalto foi realizado.

As projeções que aparecem marcadas nos gânglios centrais e não terminam em somas neuronais, podem ser advindas de corpos de neurônios localizados ao longo dos nervos, em receptores subepiteliais das regiões do integumento (FACCIONI-HEUSER, 1999), nos gânglios periféricos ou em diferentes gânglios centrais. Estas fibras provavelmente terminam no neuropilo dos gânglios, onde ocorre o maior número de sinapses (BULLOCK; HORRIDGE, 1965), e assim, podem estar integrando informações aferentes vindas de corpos neuronais localizados ao longo dos nervos, nos gânglios periféricos e entre os diferentes gânglios centrais, através de corpos celulares localizados em um gânglio e que enviam projeções para outro gânglio central. Como pode ser o caso das fibras nervosas marcadas isoladamente nos gânglios cerebrais de *M. oblongus*, através da marcação dos nervos pedais, as quais podem ser advindas

de somas neuronais localizados em gânglios subesofageais que emitem projeções através dos conetivos cérebro-pedais e/ou cérebro-pleurais.

Em *M. oblongus*, através da infusão de CoCl_2 nos nervos pedais NP7-NP10, encontraram-se neurônios (somas e projeções) marcados em todos os gânglios, exceto nos gânglios cerebrais, os quais demonstraram somente a presença de fibras nervosas marcadas.

2.1 COMPLEXO GANGLIONAR SUBESOFAGEAL

Foi observado grande número de neurônios marcados, ao longo de todo o complexo ganglionar subesofageal deste animal. Os corpos celulares marcados foram encontrados em maior número nos gânglios pedais, pleural e parietal ipsilaterais à marcação e, em menor número no gânglio visceral e nos gânglios pleural e parietal contralaterais à marcação. A grande quantidade de neurônios marcados encontrados em todo o complexo ganglionar subesofageal deste animal, pode ser um forte indício sobre a importância funcional destes nervos em *M. oblongus*.

Semelhantemente, a marcação de nervos pedais de *Lymnaea stagnalis* (FERGUSON; BENJAMIN, 1991), os quais suprem os músculos longitudinal dorsal e columelar, muito importantes na retração do animal para dentro da concha, revelou neurônios localizados em todos os gânglios do SNC deste animal, especialmente nos gânglios ipsilaterais à marcação.

Em *M. oblongus*, as fibras neuronais marcadas por cloreto de cobalto apresentaram-se distribuídas por todo o complexo ganglionar subesofageal,

localizadas no neuropilo dos gânglios, comissuras pedais e conetivos. A quantidade destas fibras mostrou-se proporcional ao número de corpos neuronais marcados nos diferentes gânglios. No gânglio visceral e nos gânglios parietal e pleural contralaterais à marcação, poucos corpos de neurônios assim como poucas fibras apresentaram marcação. Estas fibras mostraram-se em maior quantidade, próximas às regiões de corpos neuronais marcados, como aconteceu com fibras marcadas que passam do gânglio parietal ipsilateral à marcação para o gânglio visceral, através da região anterior do conetivo parieto-visceral, região do gânglio visceral que apresenta maior número de células marcadas.

Nos moluscos, os gânglios pedais estão envolvidos na geração e controle dos padrões locomotores (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; DORSETT, 1986; BULLOCK; RIDGWAY, 1995; PANCHIN et al. 1995a).

Os estudos referentes à locomoção de moluscos indicam os neurônios localizados nos gânglios pedais como os responsáveis pelo programa motor pedioso. Estes neurônios, através de suas projeções em nervos pedais, transmitem impulsos gerados espontaneamente, cuja frequência tem sido correlacionada com ondas pedais em *Helix* (SCHÜTT et al., 2000), *Melampus* (MOFFETT, 1990) e *Aplysia* (JAHAN-PARWAR; FREDMAN, 1980).

Em *M. oblongus*, grande número de neurônios localizados nos gânglios pedais foram identificados com a infusão de CoCl_2 nos cotos de nervos NP7-NP10 que penetram no terço posterior do pé. O gânglio pedal ipsilateral à marcação foi o que mostrou maior número de somas neuronais marcados. Embora em menor quantidade, no gânglio pedal contralateral à marcação também foi encontrada intensa marcação de somas e fibras neuronais, principalmente em

regiões ventrais deste gânglio. O padrão de marcação dos dois gânglios pedais não mostrou diferenças em relação ao lado da marcação dos nervos, isto é, a distribuição de fibras e corpos celulares marcados nos gânglios pedais ipsilateral e contralateral à marcação foi o mesmo, independente dos nervos marcados (NP7-10 direitos ou esquerdos).

Muitos autores identificaram corpos celulares de neurônios nos gânglios pedais de espécies distintas de moluscos, através da marcação retrógrada de nervos pedais. De uma maneira geral, ficou evidenciado que em nervos distintos de diversos animais, a marcação retrógrada também demonstrou simetria no padrão de marcação dos gânglios pedais, entre a marcação realizada com nervos da esquerda e a realizada com os mesmos nervos da direita. Os autores também evidenciaram menor número de neurônios marcados no gânglio contralateral à marcação e intensa marcação no gânglio ipsilateral. Este foi o caso da marcação realizada em nervos pedais de *Clione* (ZAKHAROV; IERUSALIMSKY, 1992) e *Tritonia* (WILLOWS et al., 1973), em nervos columelares pedais (FERGUSON; BENJAMIN, 1991) e troncos pedais de *Lymnaea stagnalis* (SLADE et al., 1981), nervos pedais de *Eremina ehrenbergi* (ESSAWY, 1994), nervo parapodial (McPHERSON; BLANKENSHIP, 1991a) e nervos pedais de *Aplysia*, a partir dos quais também foi verificada a presença de fibras marcadas no conetivo pedal-pleural e na comissura pedal (HENING et al., 1979).

Em *Megalobulimus oblongus*, as comissuras pedais apresentaram marcação de fibras nervosas, as quais eram advindas do gânglio pedal ipsilateral à marcação passando através destas para o gânglio pedal contralateral à marcação. A quantidade de fibras marcadas foi maior na comissura anterior, provavelmente devido à sua maior proximidade com região de emergência dos

nervos marcados no gânglio pedal e com o grande número de neurônios marcados na região ventral do gânglio pedal contralateral à marcação, sugerindo que as fibras marcadas na comissura anterior sejam projeções destes neurônios.

As comissuras pedais possuem um importante papel de mediação da coordenação entre o gânglio pedal direito e esquerdo, e logo, sobre o padrão locomotor pedal (SLADE, 1981, ESSAWY, 1994, JAHAN-PARWAR; FREDMAN, 1980; FREDMAN; JAHAN-PARWAR, 1980). Segundo Willows et al., (1973), a comissura pedal contém axônios de numerosos neurônios que carregam impulsos sensoriais, motores e associativos através da linha mediana para o gânglio pedal oposto. Quando a comissura pedal é seccionada, deixando os gânglios pedais sem conexão entre si, ocorre perda da coordenação entre os dois lados do pé (FREDMAN; JAHAN-PARWAR, 1980). Com isso podemos sugerir que em *M. oblongus*, os corpos neuronais e fibras nervosas que apareceram marcados no gânglio pedal contralateral tenham importante papel na coordenação entre os gânglios pedais e, logo, entre os dois lados musculatura pediosa posterior do caracol durante a locomoção deste animal. Isto explicaria parcialmente o fato de que em situações normais, as ondas pedais ocorrem coordenadamente e simetricamente em ambos os lados do pé.

O controle de movimentos unilaterais pediosos de *Tritonia* é promovido principalmente por neurônios localizados no gânglio pedal ipsilateral (WILLOWS, et al., 1973). Em *Aplysia*, apesar da maioria dos motoneurônios pedais projetarem-se ipsilateralmente para a musculatura parapodial, foram também encontrados motoneurônios pedais que se projetam diretamente para a musculatura parapodial contralateral (McPHERSON; BLANKENSHIP, 1991b). Isto sugere a possível existência de neurônios motores no gânglio pedal contralateral

à marcação de *M. oblongus*.

Os neurônios do gânglio pedal que enviam projeções através de nervos pedais, estão localizados em maior quantidade próximos à emergência dos nervos. Os nervos com origem na superfície ventral dos gânglios pedais possuem funções essencialmente motoras (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). Este pode ser um indício da presença de intensa atividade motora na região ventral dos gânglios pedais de *M. oblongus*, nos quais foram identificados grande número de neurônios marcados (ipsilaterais e contralaterais à marcação) que se projetam para a musculatura pediosa posterior deste caracol. Apesar de um extenso grupo de neurônios pedais com atividade acetilcolinesterásica (AChE) terem sido descritos por Zancan et al., (1994) também localizados em regiões ventrais e medioventrais dos gânglios pedais, não projetam fibras pelos nervos NP7-NP10.

No gânglio pedal ipsilateral à marcação, os neurônios marcados concentraram-se em três grupos principais, o grupo ântero-medial, o grupo pósteromedial e o grupo pósterolateral (região próxima ao conetivo pedopleural). Similarmente, no gânglio pedal contralateral à marcação, estes apresentaram-se dispostos principalmente na região pósterocentral e pósteromedial do gânglio, mas alguns neurônios marcados também puderam ser visualizados na região ântero-medial. No neuropilo dos gânglios pedais foi possível observar a marcação intensa das fibras nervosas que se dirigem para estes grupos, a qual se apresentou maior no gânglio pedal ipsilateral.

Em *M. oblongus*, além de intensa marcação no neuropilo e nas comissuras pedais, grande número de neurônios serotoninérgicos médios foi identificado nos gânglios pedais circundando as comissuras, organizados ao longo da margem medial de cada gânglio, prevalecendo em maior número, entre a comissura

principal e a anterior (ZANCAN, 1996; ZANCAN et al. 1997). Parte destes neurônios identificados coincidem com a localização de neurônios marcados no gânglio pedal ipsilateral de nervos posteriores pedais. No gânglio contralateral, muitos neurônios possuem distribuição semelhante, porém em menor número.

Além de outros neurônios médios imunorreativos à 5-HT terem sido encontrados nesta mesma região descrita em *Lymnaea*, em *M. oblongus*, um neurônio de 156 μm , fracamente imunorreativo à serotonina, foi encontrado junto à margem ântero-medial em cortes ventrais de cada gânglio pedal. Este neurônio apresenta-se colocalizado com um neurônio grande com aproximadamente o mesmo diâmetro, marcado com cobalto, no gânglio pedal ipsilateral aos nervos marcados, em cortes próximos ou ao nível da comissura anterior, sugerindo que este par de neurônios seja serotoninérgico, assim como muitos neurônios também marcados com cobalto nesta mesma região.

Neurônios pedais moduladores da natação em *Aplysia* (McPHERSON; BLANKENSHIP, 1991c) mostraram imunorreatividade à 5-HT. Em *Tritonia*, a serotonina aumenta a atividade locomotora (McCLELLAN et al., 1994), assim como em *Clione* (ARSHAVSKY et al., 1993) e *Melampus* (SNYDER; MOFFETT, 1989). Em *Helix aspersa*, ficou demonstrado que um grupo de neurônios 5-HT pedais tem ação facilitadora na retração corporal (BALABAN; CHASE, 1990). Nos gânglios pedais de *Lymnaea* foi identificado um conjunto neuronal simétrico, serotoninérgico, nos limites ântero-mediais, o qual responde à estimulação com excitação dos cílios pedais e aumento na produção de muco, o que ocorre também quanto a serotonina é injetada no pé deste animal (SYED et al., 1988). Situação semelhante foi encontrada em *M. oblongus*, onde a aplicação de um derivado análogo da serotonina no pé deste caracol aumentou o número de

ondas pedais (ZANCAN et al., 1997) e a injeção de 5-HT no pé aumento das ondas pedais e na quantidade de secreção de muco (PENHA, 2001).

Segundo Faccioni-Heuser (1999), tanto em fibras nervosas pedais quanto em gânglios periféricos do pé deste caracol, foram detectadas fibras serotoninérgicas. Estes fatores, somados às indicações referentes ao papel da serotonina em outros moluscos, fornecem fortes indicações sobre o envolvimento de neurônios serotoninérgicos na atividade locomotora pedal em *M. oblongus*.

Dentre os neuropeptídeos, foram identificados nos gânglios pedais de *M. oblongus*, neurônios imunorreativos a substância P, metionina-encefalina e FMRF-amida (ZANCAN, 1996; MORIGUCHI-JECKEL, 2001). Os gânglios pedais apresentaram intensa reação à substância P (SP-ir) tanto em corpos celulares quanto em fibras do neuropilo (ZANCAN, 1996). Na região ântero-medial à comissura principal (em planos ventrais e ventromediais dos gânglios) e lateralmente aos conetivos pedais-pleurais foram detectados vários neurônios reativos à substância P. Esta grande concentração de células SP-ir na região ventral do gânglio pedal, coincide com a região próxima à penetração das numerosas fibras nervosas marcadas com CoCl_2 através dos nervos pedais.

Também foram observadas projeções MENk-ir (imunorreativas a metionina-encefalina) em direção aos nervos pedais ventrais. Assim como grande número de neurônios MENk-ir dos gânglios pedais foram localizados em sua maioria em cortes entre as comissuras principal e anterior (ventromediais), nas regiões mediais de cada gânglio (ZANCAN, 1996). No presente estudo, nestas regiões e no neuropilo do gânglio pedal ipsilateral à marcação, foi encontrada intensa marcação por cloreto de cobalto, sugerindo que muitos destes podem coincidir com os SP-ir e os MENk-ir.

Em *M. oblongus*, tanto fibras nervosas quanto os pequenos gânglios que constituem os plexos periféricos, revelaram a presença de fibras SP-imunorreativas (RIGON et al., 1998). Poucos estudos fisiológicos e comportamentais têm sido realizados, referentes ao papel da substância P no sistema nervoso de moluscos, apesar de existirem indícios baseados na distribuição desta substância na medula espinhal de mamíferos, que esta substância esteja envolvida em mecanismos de percepção sensorial. Contudo, informações a cerca da distribuição de neurônios SP-ir, no sistema nervoso central e periférico de *M. oblongus* e sua possível relação com a inervação pediosa posterior, podem servir de indícios para a compreensão a cerca de sua função.

Muitos dos vários neurônios MEnk-ir encontrados nos gânglios centrais de *M. oblongus* podem estar envolvidos em funções modulatórias no amplo repertório comportamental aversivo, pelo qual os animais detectam e reagem aos estímulos nociceptivos (ZANCAN, 1996). O mapeamento dos somas que enviam projeções para nervos responsáveis pela inervação da musculatura e integumento pedioso posterior deste animal, realizada no presente trabalho, pode fornecer embasamento referente à organização anátomo-funcional para trabalhos referentes ao envolvimento de neuropeptídeos opióides no comportamento aversivo.

Os neurônios imunorreativos a FMRF-amida identificados em cortes dorsais e ao nível da comissura anterior dos gânglios pedais, na margem pósterolateral, próxima ao conetivo pedal-pleural (MORIGUCHI-JECKEL, 2001), estão localizados em regiões onde também ocorreu grande concentração de neurônios marcados com cloreto de cobalto. Muitas fibras nervosas imunorreativas também

foram encontradas no neuropilo dos gânglios pedais e nas comissuras pedais, em regiões similares às mostradas com marcação com cobalto. Fibras com imunorreatividade à FMRF-amida, também foram localizadas na musculatura pediosa e nos plexos subepiteliais e pedioso de *M. oblongus*. Este neuropeptídeo proporcionou a identificação do plexo subepitelial dorsal, o qual não havia sido localizado através de estudos com substância P (RIGON et al., 1998), monoaminas e AChE (FACCIONI-HEUSER, 1999). A realização de técnicas que permitam a utilização simultânea de traçadores neurais e anticorpos pode esclarecer sobre a possível identidade química dos neurônios que inervam o pé.

Neurônios em outros gânglios centrais têm sido mostrados com axônios nos nervos pedais, e podem ter um papel importante na locomoção (MOFFETT, 1990). Após a infusão de cobalto por nervos pedais, alguns autores relataram a presença de neurônios marcados em outros gânglios do complexo ganglionar subesofageal além dos gânglios pedais. Em *Eremina ehrenbergi* (ESSAWY, 1994), *Tritonia* (WILLOWS et al., 1973) e *Aplysia* (HENING et al., 1979; MCPHERSON; BLANKENSHIP, 1991a), foram encontrados neurônios marcados também no gânglio pleural ipsilateral à marcação. Em *Clione* além de marcação no gânglio pleural ipsilateral, Zakharov; Ierusalimsky (1992), encontraram neurônios marcados no gânglio parietal ipsilateral à marcação. Da mesma forma, foi verificado a presença de neurônios marcados também no gânglio parietal ipsilateral à marcação e no gânglio visceral de *Lymnaea stagnalis* (SLADE et al., 1981).

Assim como ficou demonstrado em *Lymnaea stagnalis* (KYRIAKIDES et al., 1989; FERGUSON; BENJAMIN, 1991), em *Clione* (ZAKHAROV; IERUSALIMSKY, 1992), e em *Eremina ehrenbergi* (ESSAWY, 1994), como também nos gânglios

pedais de *M. oblongus*, os neurônios marcados no gânglio pleural ipsilateral à marcação, apresentaram simetria tanto para a marcação realizada a partir dos nervos pedais direitos quanto para aquela realizada a partir dos nervos pedais esquerdos. Esta simetria não foi observada para os gânglios parietais, como discutido adiante.

Em *M. oblongus*, os gânglios pleurais não emitem nervos e apresentam-se unidos com os gânglios pedais pelos conetivos pedais-pleurais, com os cerebrais pelos conetivos cérebro-pleurais e com os parietais através dos conetivos pleuro-parietais (PERES, 1994). Com isso, devido ao fato de não possuírem nervos é provável que os neurônios localizados nestes gânglios enviem seus prolongamentos para outros gânglios e/ou nervos de outros gânglios. De acordo com este estudo, grande quantidade de neurônios pleurais ipsilaterais à marcação enviam seus prolongamentos para os nervos pedais NP7 e NP10, o que foi demonstrado pela intensa marcação de fibras e corpos celulares neuronais nestes gânglios.

Em *Aplysia* foi evidenciado que o gânglio pleural serve para modular neurônios pedais envolvidos no padrão gerador locomotor. Este sistema modulador pleural ajusta a resposta motora através do conetivo pedal-pleural, atuando nos neurônios pedais geradores de padrões locomotores, influenciando a frequência da locomoção. Através dos conetivos cérebro-pleurais, os neurônios pleurais atuam sobre os neurônios comando cerebrais para iniciar a locomoção para fuga ou para fazer a transição da locomoção normal para a fuga. Os neurônios comando dos gânglios cerebrais também interferem no sistema modulador da locomoção, controlado pelos gânglios pleurais, através de conexões sinápticas excitatórias e inibitórias localizadas em ambos os gânglios,

entre neurônios cerebrais e neurônios pleurais (JAHAN-PARWAR; FREDMAN, 1978b; 1979; 1980; FREDMAN; JAHAN-PARWAR, 1983; 1979; McPHERSON; BLANKENSHIP, 1991a).

Em gastrópodes pulmonados, os nervos pedais possuem fibras de conexão também com o gânglio pleural do lado oposto, indicando o gânglio pleural fornece um importante centro de correlação para aferências e eferências pedais (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). Isto explicaria o fato de terem sido encontradas fibras marcadas em *Megalobulimus oblongus*, no gânglio pleural contralateral à marcação, as quais penetraram neste gânglio através do conetivo pedal-pleural contralateral à marcação.

Em *M. oblongus*, foi identificado grande número de neurônios imunorreativos a FMRF-amida nos gânglios pleurais, os quais estavam distribuídos de maneira uniforme ao redor do neuropilo e praticamente simétrica nos gânglios pleurais esquerdo e direito (MORIGUCHI-JECKEL, 2001). Nesta mesma espécie, através da marcação de nervos pedais, foram identificados neurônios marcados em grande número no gânglio pleural ipsilateral à marcação, distribuídos lateral e medialmente ao neuropilo, da mesma forma que os neurônios imunorreativos a FMRF-amida. O neurônio gigante imunorreativo à FMRF-amida identificado no gânglio pleural esquerdo não foi marcado por cobalto.

Segundo Small et al. (1992, apud MORIGUCHI-JECKEL, 2001), em *Aplysia* foi demonstrado o envolvimento de neurônios FLI no comportamento reflexo de retirada do sifão, quando submetido a estímulos nocivos. Os gânglios pleurais de *Tritonia*, estão envolvidos em amplos movimentos corporais, principalmente nos que envolvem contrações musculares bilaterais para iniciar movimentos bruscos

(WILLOWS et al., 1973). O envolvimento dos gânglios pleurais no comportamento aversivo de *Lymnaea stagnalis* também é ressaltado por Ferguson; Benjamin (1991).

Estas evidências sugerem fortes indícios do envolvimento dos neurônios pleurais de *M. oblongus*, que se projetam para nervos posteriores pedais, em alguma etapa do repertório comportamental aversivo deste animal. Esta reação aversiva também envolve neurônios parietais (FERGUSON; BENJAMIN, 1991).

Em *M. oblongus*, os gânglios parietais apresentam-se unidos aos pleurais através dos conetivos pleuro-parietais e ao visceral através dos conetivos parieto-viscerais. O gânglio parietal direito apresenta-se maior que o esquerdo, com tamanho similar ao visceral (PERES, 1994). A marcação realizada através dos nervos pedais do gânglio pedal direito demonstrou diferenças entre o número de neurônios marcados nestes gânglios, quando comparado com a marcação realizada à esquerda.

Na marcação realizada à esquerda, devido ao fato do gânglio parietal esquerdo ser menor que o direito, a distância entre o gânglio pedal esquerdo e o gânglio visceral é menor do que a distância do gânglio pedal direito ao visceral. Com a infusão realizada à esquerda, ocorreu um menor número de células marcadas no gânglio parietal esquerdo e maior marcação de células no gânglio visceral, do que nos gânglio parietal direito e visceral, em marcação através do gânglio pedal direito. Esta assimetria pode ser resultado do processo de torção dos gastrópodes na evolução. Após a torção corporal foram suprimidas algumas estruturas de um dos lados do corpo (brânquias, por exemplo), e é discutida a possibilidade de fusão ganglionar resultante deste processo nos gastrópodes (BULLOCH; HORRIDGE, 1965). Isto explicaria a diferença de tamanho dos

gânglios parietal esquerdo e direito mostrados pelos moluscos pulmonados e a assimetria que estes gânglios mostram na inervação.

Nos gânglios parietais contralaterais à marcação de nervos pedais direitos e esquerdos, escassos corpos celulares apareceram marcados, assim como poucas fibras nervosas. Estas fibras podem ser advindas do gânglio visceral, e portanto do gânglio pedal ipsilateral à marcação, ou do gânglio pleural contralateral à marcação, e portanto do gânglio pedal contralateral à marcação.

Segundo Dorsett (1986) os neurônios do complexo de gânglios visceral e parietais direito e esquerdo inervam o coração, o intestino, as gônadas, as glândulas anexas do aparelho reprodutor, a região do pneumóstoma e o manto. Segundo Peres (1994), em *M. oblongus*, a partir dos gânglios viscerais partem quatro nervos que suprem o intestino, coração, rim, gônadas, manto e músculo columelar. E, a partir do gânglio parietal direito partem 3 nervos que inervam a cavidade palial direita, e do gânglio parietal esquerdo partem 2 nervos que inervam a cavidade palial esquerda.

No gânglio parietal direito e esquerdo, com a marcação com cloreto de cobalto através de nervos pediosos, os neurônios marcados apresentaram-se concentrados ao longo da região anterior, próximos ao gânglio pleural direito e esquerdo. E, no gânglio visceral a marcação ocorreu em maior quantidade na região anterior do gânglio. Nessas regiões, também foram encontrados neurônios com tamanho similar aos descritos apresentando imunorreatividade a FMRF-amida (MORIGUCHI-JECKEL, 2001) e à metionina-encefalina (ZANCAN, 1996).

Estas evidências, somadas a presença muitas fibras MEnK-ir nos conetivos pedais-pleurais e muitos corpos celulares imunorreativos nos gânglios pedais, próximos à emergência dos nervos pedais ventrais (ZANCAN, 1996) e, à

presença de muitos somas neuronais imunorreativos à FMRF-amida em gânglios pleurais e gânglios pedais, podem fornecer indícios referentes à presença de neurônios neuropeptidérgicos em projeções nos nervos pedais NP7-NP10 e envolvimento de diferentes gânglios.

Assim, neurônios localizados nestes gânglios e que enviam projeções para outros gânglios centrais, inclusive para nervos pedais, podem estar promovendo função integrativa entre funções viscerais e de retração do animal para dentro da concha através da contração do músculo columelar (FERGUSON; BENJAMIN, 1991), associadas às várias funções pedais, inclusive o comportamento aversivo.

Muitos pesquisadores descrevem o envolvimento de uma circuitaria de vários gânglios durante o processamento de informações. A hipótese é que exista um forte mecanismo de retro-ação entre estes centros (SCHÜTT et al., 2000). Estudos têm sido realizados sobre conexões sinápticas de neurônios dos diferentes gânglios envolvidos no padrão gerador central do comportamento respiratório de *Lymnaea stagnalis* (SYED et al., 1990; SYED et al., 1991; SYED; WINLOW, 1991a; 1991b; INOUE et al., 1996), no envolvimento do sistema nervoso no aumento da frequência cardíaca associada com a locomoção de *Megalobulimus sanctipauli* (ROMERO; HOFFMANN, 1991) e no comportamento aversivo de *Lymnaea stagnalis* o qual conta com a participação dos gânglios centrais, especialmente nos gânglios pleurais, cerebrais e parietal esquerdo (FERGUSON; BENJAMIN, 1991).

2.2 GÂNGLIOS CEREBRAIS

Em gastrópodes, os gânglios cerebrais apresentam-se localizados anteriormente no animal, e em posição dorso-mediana sobre o esôfago. Os gânglios cerebrais estão unidos através da comissura cerebral, e conectados com os gânglios pedais e pleurais, através dos conetivos cérebro-pedais e cérebro-pleurais. Os nervos cerebrais partem da região ventral destes gânglios e os conetivos emergem na região medial, próximos à comissura cerebral (PERES, 1994).

Os nervos cerebrais são mistos, contendo axônios derivados de receptores primários localizados centralmente e periféricamente e interneurônios de primeira ordem os quais analisam os estímulos táteis e quimiosensoriais e enviam a informação para outros gânglios (DORSETT, 1986; SCOTT, 1939; KERKUT; WALKER, 1975).

Em pulmonados, assim como em *M. oblongus*, os gânglios cerebrais são divididos em pró-cérebro, mesocérebro e pós-cérebro. O pós-cérebro é subdividido nas seguintes regiões: o lobo comissural localizado na porção póstero-medial; o lobo pleural situado entre a área comissural e a emergência do conetivo cérebro-pleural; e o lobo pedal, entre as emergências dos conetivos cérebro-pleural e cérebro-pedal (BULLOCK; HORRIDGE, 1965; PERES, 1994).

Os gânglios cerebrais são estruturas nervosas onde as informações sensoriais são integradas e as ações motoras desencadeadas e moduladas (RATTE; CHASE, 1997). Podem ser considerados como centro de integração nervosa, através conexões diretas com outros gânglios como o pleural, pedal e bucal. Devido à grande quantidade de informações recebidas, os gânglios

cerebrais são capazes de processá-las e gerar impulsos motores de comando, podendo servir como centro de diferentes comportamentos. Como a via de translação dos sinais sensoriais para impulsos de comando não é bem conhecida, tornam-se necessários os estudos sobre o princípio de organização do sistema nervoso central (HERNÁRDI, 1992).

Muitos autores relacionam os gânglios cerebrais de gastrópodes com os comportamentos alimentar (BULLOCH; RIDGWAY, 1995) e locomotor (CHASE; TOLLOCZKO, 1989; DELIAGINA; ORLOVSKY, 1990b, GAMKRELIDZE et al., 1995), de orientação espacial (PANCHIN et al., 1995b), comportamento sexual (CHASE, 1986) e funções sensoriais olfativas (CHASE; TOLLOCZKO, 1993).

A realização de marcação retrógrada através dos nervos pedais NP7-NP10, em *M. oblongus*, não revelou corpos celulares marcados no gânglio cerebral. Porém, foram encontradas fibras marcadas em cortes horizontais ao nível da comissura cerebral destes gânglios, advindas dos conetivos cérebro-pedal e cérebro-pleural, concentradas principalmente em áreas mediais destes gânglios.

Embora tenham sido visualizadas poucas fibras marcadas no neuropilo dos gânglios cerebrais, estas apresentaram-se mais concentradas na região neuropilar ventral ao pró-cérebro e lateral ao mesocérebro.

O pró-cérebro é considerado um alto centro sensorial especialmente de receptores tentaculares, os quais são provavelmente quimiorreceptores (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). O pró-cérebro em pulmonados terrestres apresenta envolvimento no processo olfatório (CHASE, 1986; CHASE; TOLLOCZKO, 1989; RATTE; CHASE, 1997). Estudos em *Achatina fulica* revelaram que o pró-cérebro recebe aferências pelo nervo tentacular e emite

projeções para um grupo de neurônios no gânglio pedal, através do conetivo cérebro-pedal. Esta conexão poderia representar um papel do pró-cérebro na intermediação da informação olfativa como um determinante do comportamento locomotor (CHASE; TOLLOCZKO, 1989). As fibras identificadas nos gânglios cerebrais, através da marcação retrógrada dos nervos pedais posteriores NP7-NP10, localizadas próximas ao pró-cérebro, poderiam estar conectadas com axônios de neurônios desta região que se projetam para a região neuropilar do pró-cérebro, sugerindo uma integração de informações advindas de estruturas cefálicas, com informações ou comandos motores pedais.

A comissura cerebral e a região anterior do neuropilo dos gânglios cerebrais foram as áreas que apresentaram intensa imunorreatividade ao peptídeo substância P (ZANCAN, 1996). Esta localização coincidiu com as fibras marcadas por cloreto de cobalto, nestes gânglios, sugerindo a possibilidade de que estas possam ser de neurônios SP-ir.

Também foram encontrados neurônios pedais imunorreativos à SP, localizados na região lateral dos conetivos pedais-pleurais, os quais emitem fibras SP-ir para o conetivo cérebro-pedal, o qual se encontra exatamente no limite entre os gânglios pedal e pleural (ZANCAN, 1996). Da mesma forma, os neurônios pedais SP-ir estão localizados na mesma região em que foram encontrados somas neuronais marcados por CoCl_2 nos gânglios pedais ipsilaterais à marcação. Assim como, as fibras SP-ir que se projetam para os conetivos cérebro-pedais, também estão localizadas na mesma região que as fibras marcadas com CoCl_2 , no conetivo cérebro-pedal ipsilateral à marcação. Assim, sugere-se que neurônios pedais póstero-laterais reativos à substância P, possuam projeções na musculatura pediosa posterior e nos gânglios cerebrais, e

que possam estar, assim participando da integração entre diferentes centros.

Na região do mesocérebro de *M. oblongus* onde foram encontradas fibras marcadas por CoCl_2 , foi coincidente com a localização de corpos celulares reativos a FMRF-amida (MORIGUCHI-JECKEL, 2001) descritos nos gânglios cerebrais deste animal. O mesocérebro é bem desenvolvido somente em estilomatóforos adultos (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). De acordo com estudos realizados em *Helix aspersa*, referentes ao comportamento sexual, o mesocérebro estaria envolvido com esta atividade, possuindo neurônios que direcionam suas fibras para o nervo peniano (CHASE, 1986). Conforme relatado, em *M. oblongus*, fibras marcadas com CoCl_2 ascendem de nervos pedais do mesmo lado passando pelo gânglio pedal e/ou pleural ipsilateral à marcação, e através de vias ipsilaterais diretas até o gânglio cerebral do mesmo lado marcando fibras localizadas no mesocérebro. A presença destas vias marcadas no mesocérebro pode estar indicando uma possível atividade aferente integrativa da atividade locomotora com o comportamento sexual de *M. oblongus*.

No presente estudo, foram identificadas fibras marcadas nos conetivos cérebro-pedal e cérebro-pleurais, no neuropilo do pós-cérebro ipsilateral à marcação de nervos pedais, assim como cruzando a comissura cerebral e enviando projeções para o pós-cérebro contralateral. Em *Helix*, foram observadas fibras ascendentes do gânglio pedal percorrendo vias aferentes ipsilaterais a nervos pedais e terminando no pós-cérebro de gânglio cerebral. Também foram observadas fibras de origem desconhecida, mas possivelmente advindas do pleural ou outros gânglios subesofageais, que percorrem o conetivo cérebro-pleural e enviam colaterais para o neuropilo do pós-cérebro ipsilateral e também no contralateral, passando através da comissura (BULLOCK; HORRIDGE, 1965).

Foram identificados neurônios localizados no pós-cérebro de *Helix* que enviam projeções eferentes para os conetivos cérebro-pedal e cérebro-pleural (BULLOCK; HORRIDGE, 1965). Estes neurônios poderiam estar conectados com fibras aferentes pedais do pós-cérebro, marcadas com cloreto de cobalto e também descritos em *Helix*, porém, com os experimentos realizados não foi possível marcar neurônios pós-sinápticos, já que a técnica marca apenas corpos celulares e projeções de neurônios isolados.

Foram encontrados vários neurônios imunorreativos a FMRF-amida do pós-cérebro de *M. oblongus* (MORIGUCHI-JECKEL, 2001) assim como muitos neurônios SP-ir na região pósteromedial do pós-cérebro deste animal, o que reforça indicações de envolvimento destes neuropeptídeos em vias cerebrais envolvidas na locomoção deste caracol.

A existência de neurônios do pós-cérebro que enviam projeções para os tentáculos e palpos labiais de *M. oblongus* (STABILE et al., 1998) sugere uma possível relação de envolvimento de vias possivelmente locomotoras que ascendem do complexo ganglionar subesofageal (marcadas com cloreto de cobalto no presente estudo) com neurônios do pós-cérebro que inervam tentáculos e palpos labiais.

Em *Clione limacina* os neurônios cerebrais que afetam o controle da locomoção estão localizados na zona rostromedial, caudomedial e central do gânglio cerebral (PANCHIN et al., 1995b; ARSHAVSKY, et al., 1993). Neste gânglio foram identificados grupos de neurônios distintos que enviam fibras nervosas através dos conetivos cérebro-pedal e/ou cérebro-pleural ipsilateral, contralateral ou ambos. Similarmente, em *M. oblongus*, fibras marcadas nos gânglios cerebrais, através de nervos pedais, foram encontradas principalmente

em regiões mediais dos gânglios, comissura, mesocérebro e pós-cérebro.

Existem evidências sugerindo que as fibras que seguem do complexo ganglionar subesofageal para os gânglios cerebrais são aferentes. Segundo Panchin et al. (1995a), a maioria das informações sensoriais que afetam os movimentos das nadadeiras e da cauda de *Clione limacina* projeta-se para o gânglio cerebral. Em *Aplysia*, os conetivos cérebro-pedal e cérebro-pleural conduzem informações aferentes para os neurônios comando cerebrais e eferentes, destes para o complexo subesofageal, possuindo papel fundamental no início e término da locomoção. Quando os conetivos entre o gânglio cerebral e os outros gânglios periesofageais foram seccionados, a locomoção é eliminada tanto no rastejamento (*A. californica*) quanto na natação (*A. brasiliana*), mas os animais lesionados continuam sendo capazes de gerar ocasionais ondas pedais ou parapodiais (JAHAN-PARWAR; FREDMAN 1979), com os impulsos dos nervos mais lentos, menos vigorosos e menos freqüentes, sugerindo que os gânglios cerebral e pleural afetam o controle do gânglio pedal e logo da locomoção (JAHAN-PARWAR; FREDMAN, 1980). Em *Planorbis corneus*, os conetivos cérebro-pedais funcionam como "vias de comando", as quais transmitem informações dos neurônios cerebrais para neurônios efetores pedais (McPHERSON; BLANKENSHIP, 1991a).

Em *Melampus*, eletrodos colocados nos conetivos cérebro-pedais e cérebro-pleurais revelaram que durante o início da locomoção, a maior parte da atividade nos conetivos cérebro-pedais segue em direção ao gânglio pedal, possivelmente por atuação de neurônios "comando cerebrais". E a maioria da atividade do conetivos cérebro-pleural é seguida em direção ao gânglio cerebral, intensamente durante a locomoção, refletindo o ritmo pedal (MOFFETT, 1990;

SNYDER; MOFFETT, 1990).

Estas relações entre diferentes centros ganglionares do SNC têm estimulado muitos pesquisadores a relacionar projeções de neurônios dos nervos pedais, especialmente com os gânglios cerebrais.

A marcação retrógrada com cloreto de níquel através do nervo parapodial de *Aplysia*, revelou a presença de fibras marcadas ascendendo para o gânglio cerebral através do gânglio pleural (McPHERSON; BLANKENSHIP, 1991a). Essawy (1994) por meio da mesma técnica aplicada ao nervo mais calibroso e posterior do gânglio pedal de *Eremina ehrenbergi*, detectou alguns axônios traçados no conetivo cérebro-pleural, sem a marcação de somas neuronais no gânglio cerebral. Com a marcação do nervo pedal N9 (o nervo mais posterior) de *Clione limacina*, o qual supre o grupo ventral de células musculares e o epitélio, também não foram encontrados neurônios marcados no gânglio cerebral. Porém, através da marcação de outros nervos pedais desta mesma espécie foram identificados neurônios marcados no gânglio cerebral (ZAKHAROV; IERUSALIMSKY, 1992). Slade et al. (1981) encontraram células marcadas no gânglio cerebral ipsilateral e algumas ocasionais no contralateral à marcação de nervos pedais de *Lymnaea stagnalis*. Demonstrou-se a existência de neurônios localizados no gânglio cerebral e no conetivo cérebro-pedal, os quais enviam seus processos através de um nervo pedal responsável pela inervação do músculo retrator do pênis de *Helix pomatia* (EBERHARDT; WABNITZ, 1979). Em *Lymnaea stagnalis*, quando os nervos columelares são marcados, ocorre marcação similar dos lados direito e esquerdo, como uma imagem em espelho, corando neurônios no gânglio cerebral ipsilateral à marcação (FERGUSON; BENJAMIN, 1991). Segundo Hening et al. (1979), através dos nervos pedais de *Aplysia*, foram

marcadas fibras no conetivo cérebro-pedal e somas no gânglio cerebral.

Os experimentos de marcação realizados no presente trabalho forneceram diversas suposições sobre as relações anátomo-funcionais entre os gânglios centrais de *M. oblongus*. Com base nas hipóteses sugeridas, trabalhos futuros que enfoquem estudos sobre os circuitos neurais subjacentes às rotinas comportamentais que envolvam os mecanismos locomotores pedais, poderão ser desenvolvidos.

CONCLUSÕES

A descrição anatômica dos nervos que emergem dos gânglios pedais de *Megalobulimus oblongus* permitiu concluir que:

1. O número, a projeção e as áreas de inervação dos nervos pedais a partir dos gânglios pedais direito e esquerdo, são simétricas. Pequenas variações foram encontradas na posição e número das ramificações dos nervos do lado esquerdo e direito.
2. Os nervos pedais projetam-se ipsilateralmente de cada gânglio pedal e inervam a musculatura e integumento pedioso, músculo retrator do pé e glândula suprapediosa.
3. Dez troncos nervosos emergem de cada gânglio pedal, sendo cinco dorsais e cinco ventrais. Os troncos ventrais dividem-se logo após a sua emergência originando um grande número de nervos. Esta situação ocorre também com alguns troncos originados na superfície dorsal, porém, outros dividem-se mais distalmente. À medida que os troncos nervosos afastam-se dos gânglios, se direcionando para o órgão efector, seus diâmetros diminuem (em diferentes níveis, dependendo do nervo) e a ramificação aumenta.

4. O primeiro tronco nervoso pedal (TADS), logo após sua emergência na superfície dorsal na região anterior do gânglio pedal, origina cinco nervos finos (NADS1-5) que suprem as fibras mais anteriores da musculatura retratora do pé.
5. O segundo tronco nervoso pedal (TADI) logo após sua emergência na superfície dorsal na região anterior do gânglio pedal, origina dois nervos (NADI1-2) que suprem a musculatura pediosa e integumento da região ântero-lateral do terço anterior do pé.
6. O terceiro tronco nervoso pedal (TAV), logo após sua emergência na superfície ventral na região anterior do gânglio pedal, origina cinco nervos (TAV1-5) que suprem a porção anterior da glândula suprapediosa (NAV1) e a musculatura pediosa anterior (NAV2-4).
7. O quarto tronco nervoso pedal (TLAD), logo após sua emergência na superfície dorsal na região látero-anterior do gânglio pedal, origina quatro nervos (NLAD1-4) que suprem a musculatura e o integumento pedioso desta região no terço anterior do pé.
8. O quinto tronco nervoso pedal (TLAV), logo após sua emergência na superfície ventral na região látero-anterior do gânglio pedal, origina dois nervos (NLAV1-2) que suprem a musculatura pediosa desta região, no terço anterior do pé.
9. O sexto tronco nervoso pedal (TLPD), logo após sua emergência na superfície dorsal na região látero-posterior do gânglio pedal, origina várias ramificações distais ao gânglio pedal que suprem a musculatura e integumento pedioso da região pósterolateral, no terço médio do pé.
10. O sétimo tronco nervoso pedal (TLPV), logo após sua emergência na superfície ventral na região látero-posterior do gânglio pedal, origina cinco nervos

(NLPV1-5) que suprem a musculatura pediosa desta região, entre o terço anterior e o médio do pé .

11. O oitavo tronco nervoso pedal (TPLD), origina-se na superfície dorsal e região póstero-lateral do gânglio pedal, próximo ao gânglio pleural, e inerva a região mais posterior do músculo retrator do pé

12. O nono tronco nervoso pedal (TPLV), logo após sua emergência na superfície ventral na região póstero-lateral do gânglio pedal, origina seis nervos, (NPLV1-6) que suprem a musculatura desta região, no terço médio do pé.

13. O décimo tronco nervoso pedal (TP) após sua emergência na superfície ventral e posterior do gânglio pedal, origina dez nervos (NP1-10) que suprem a musculatura pediosa posterior. Destes nervos os NP1-NP6 penetram no terço médio do pé e N7-NP10, seguem ao longo da linha média do pé e inervam o terço posterior do pé deste caracol.

Através da infusão de cloreto de cobalto através de coto distal e proximal dos nervos NP7-NP10 seccionados de *M. oblongus*, foi possível concluir que:

14. Estes nervos seguem através da região medial do pé passando entre as células musculares, direcionando-se para a extremidade posterior do pé e enviando ramificações laterais ao longo do trajeto. A partir destas, as fibras inervam a musculatura pediosa e a região do integumento dorsal e ventral.

15. Fibras nervosas advindas destes nervos inervam diretamente células musculares pedais e integumento pedioso ventral.

16. As fibras axonais que constituem os nervos NP7 a NP10 originam-se de neurônios de todos os gânglios centrais, exceto dos cerebrais.

17. Os neurônios dos gânglios pedais e pleurais que se projetam pelo tronco nervoso posterior estão distribuídos de forma simétrica nestes gânglios, ou seja um número igual de somas de neurônios, localizados simetricamente nestes gânglios, possuem projeções que seguem pelo tronco nervoso posterior direito e esquerdo. Isto sugere uma inervação de forma simétrica para a porção posterior do pé.

18. Os nervos NP7 a NP10 originam-se principalmente de neurônios ipsilaterais à região de inervação do pé, embora um pequeno número de neurônios que inervam o pé por estes nervos estão localizados em gânglios contralaterais à região de inervação do pé.

19. Os neurônios dos gânglios pedais que se projetam para o pé através do tronco nervoso posterior estão principalmente localizados nas regiões ventromedial e ventral destes gânglios. Os neurônios do gânglio pedal contralateral ao lado inervado do pé estão localizados principalmente na porção mais ventral do gânglio pedal e projetam-se para os nervos contralaterais provavelmente pela comissura pedal anterior, deduzido pela quantidade bem maior de fibras marcadas nesta comissura em comparação à comissura principal medial. Esta inervação realizada pelos gânglios contralaterais sugere um papel importante na coordenação bilateral dos movimentos do pé.

20. Grande número de corpos celulares neuronais distribuídos em toda a região cortical dos gânglios pleurais, enviam suas projeções ipsilateralmente, para a região pediosa inervada pelos nervos NP7-NP10. Esta inervação fornecida pelos gânglios pleurais ipsilaterais à inervação sugere sua participação na modulação dos movimentos do pé e no repertório comportamental aversivo.

21. Neurônios localizados principalmente na região ântero-medial dos gânglios parietais e visceral enviam projeções que seguem um trajeto ipsilateral através dos conetivos e neuropilo dos gânglios parietal, pleural e pedal e penetram em nervos pedais do mesmo lado (NP7-NP10), innervando a região posterior do pé de *M. oblongus*. Estes neurônios podem estar integrando funções viscerais à atividade locomotora pediosa.

22. Os gânglios cerebrais recebem aferências advindas de neurônios com projeções dos nervos NP7-NP10 através dos conetivos cérebro-pedal e cérebro-pleural ipsilateral à innervação pediosa. Estas fibras terminam no mesocérebro ipsilateral à innervação pediosa, pós-cérebro de ambos os gânglios cerebrais, no neuropilo ganglionar e comissura cerebral. Estas fibras sugerem que as informações recebidas através das fibras nervosas sejam aferentes e estejam relacionadas com vias neurais envolvidas no repertório comportamental deste animal.

23. Em função do aspecto calibroso e longo do conjunto de nervos pedais NP7 a NP10 em comparação aos demais nervos pedais e pelo fato de sua marcação ter resultado na identificação de um número consideravelmente grande de somas neuronais ganglionares e de terminações nervosas em fibras musculares e regiões subepiteliais do pé de *Megalobulimus oblongus*, pode-se concluir que estes nervos possuem importante papel no suprimento nervoso de uma extensa área do pé deste caracol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTRUP, U., PETERS, M. 1982. Procedure of intracellular staining of neurons in the snail *Helix pomatia*. *Journal of Neuroscience Methods*, 5, 161-165.

ARBAS, E.A.; LEVINE, R.B., STRAUSFELD, N.J. 1997. Invertebrate nervous system. In: DANTZLER, W.H. (ed.). *Handbook of physiology: comparative physiology*. New York: Oxford University Press, Section 13, v.II, cap. 11, p. 751-852.

ARSHAVSKY, Y.I., ORLOVSKY, G.N., PANCHIN, Y.V., ROBERTS, A., SOFFE, S.R., 1993. Neuronal control of swimming locomotion: analysis of the pteropod mollusc *Clion* and embryos of the amphibian *Xenopus*. *TINS*, v. 116, n.6, 227-233.

BALABAN, P.M.; CHASE, R. 1990. Stimulation of mesocerebrum in *Helix aspersa* inhibits the neural network underlying avoidance behavior. *J. Comp. Physiol. A*, 166: 421-427.

BANG, T. 1916. Zur morphologie des nervensystems von *Helix pomatia* L. *Zool. Anz.*, 48:381-292.

BARNES, R.S.K.; CALOW, P.; OLIVE, P.S.W.; GOLDING, D.W., 1993. *The invertebrates: a new synthesis*: Oxford, Blackwell Science, 488p.

BARNES, R.D., HARRISON, F.W. 1994. Introduction to the mollusca. In: *Microscopic Anatomy of Invertebrates*, v.5: *Mollusca* I, p.1-12.

BENJAMIN, P.R., ROSE, R.M., SLADE, C.T., LACY, M.G. 1979. Morphology of identified neurons in the buccal ganglia of *Lymnaea stagnalis*. *J. exp. Biol.* 80, 119-135.

BERRY, M.M., STANDRING, S.M., BANNISTER, L.H. (editors). 1995 Nervous System. In: WILLIAMS, P.L (org), et al. *Gray's anatomy: the anatomical basis of medicine and surgery*. 38.ed. Churchill Livingstone: New York, 1995, p. 901-1367.

BISHOP, M.J. 1978. The value of the pulmonate central nervous system in phylogenetic hypothesis. *J. Moll. Stud*, 44, 116-119.

BLANKENSHIP, J.E.; LAURIENTI, P.J., GAMKRELIDZE, G.N. 1993. Candidate command neurons for *Aplysia* are tentatively identified in cerebral ganglion. *Soc. Neurosci. Abstr.* 19: p. 1599

BONGA, S.E.W. 1970. Ultrastructure and histochemistry of neurosecretory cells and neurohaemal areas in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Zellforschung und mikroskopische anatomie.* 108, 190-224.

BULLOCH, A.G.M.; RIDGWAY, R.L. 1995. Comparative aspects of gastropod neurobiology. *The Nervous Systems of Invertebrates: An Evolutionary and Comparative Approach*. Ed. by O. Breidbach; W. Kutsch, 89-113.

BULLOCK, T.H.; HORRIDGE, G.A. 1965. *Structure and Function in the Nervous System of Invertebrates*. Vol 1e 2. San Francisco, Freeman and Co.

CHASE, R. 1986. Brian cells that command sexual behavior in the snail *Helix aspersa*. *J. Neurobiol.*, 17: 669-679.

CHASE, R.; TOLLOCZKO, B. 1989. Interganglionic dendrites constitute an output pathway from the procerebrum of snail *Achatina fulica*. *J. Comp. Neurol.*, 283: 143-152.

CHASE, R.; TOLLOCZKO, B. 1993. Tracing neural pathways in snail olfaction: from the tip of the tentacles to the brain and beyond. *Microsc. Res. Tech.* 24: 214-230.

CROSBY, E.C., HUMPHREY, T., LAUER, E.W. 1962 *Correlative anatomy of the nervous system*. New York: The Macmillan Company.

DAL PIVA, M.M., STABILE, V.C., ACHAVAL, M. ZANCAN, D.M. 1998. Neurônios envolvidos na inervação dos palpos labiais do caracol *Megalobulimus oblongus*. *X Salão de Iniciação científica*, UFRGS, Porto Alegre.

DA SILVA, R.S.M; ZANCAN, D.M. 1994. Seasonal variations of the carbohydrate and lipid metabolism in a land pulmonate gastropod *M. oblongus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 108A, 337-341.

DAVIS, N.T. 1982. Improved methods for cobalt filling and silver intensification of insect motor neurons. *Stain Technol.*, 57: 239-244.

DE FRAGA, L. S., ACHAVAL, M., ZANCAN, D. M. 1998. Efeito da anoxia sobre a atividade da glicogênio fosforilase e da lactato desidrogenase no sistema nervoso central de *Megalobulimus oblongus*. In *VII Congresso Ibero-Americano de Biologia Celular*. Anais do VII Congresso Ibero-Americano de Biologia Celular, Montevideo

DE FRAGA, L.S, DIAS, G.S., ACHAVAL, M., ZANCAN, D.M. 2001. Quantificação do glicogênio do sistema nervoso central do caracol *Megalobulimus oblongus* submetido à anoxia. Anais da XVI reunião anual da FESBE, Caxambú (MG), agosto de 2001, p.150.

DE JORGE, F.B., CINTRA, A.B.U., HAESER, P.E. & SAWAYA, P. 1965. Biochemical studies on the snail *Strophocheilus oblongus* musculus (Becquaert). *Comp. Biochem. Physiol.* 14: 35-42.

DE LANGE, R.P.J., DE BOER, P.A.C.M., TER MAAT, A., TENSEN, C.P., VAN MINNEN, J., 1998. Transmitter identification in neurons involved in male copulation behavior in *Lymnaea stagnalis*. *J. Comp. Neurol.*,395: 440-449

DELIAGINA, T.G.; ORLOVSKY, G.N. 1990a. Control of locomotion in the freshwater snail *Planorbis corneus*. I Locomotory repertoire of the snail. *J. exp. Biol.*, 152: 389-404.

DELIAGINA, T.G.; ORLOVSKY, G.N. 1990b. Control of locomotion in the freshwater snail *Planorbis corneus*. II Differential control of various zones of the ciliated epithelium. *J. exp. Biol.*, 152: 405-423.

DENNY, M. 1980a. Locomotion: the cost of gastropod crawling. *Science*, 208: 1288-1290

DENNY, M. 1980b. The role of pedal mucus in locomotion. *Nature* v.285, p.160-161.

DE VLIETGER, T.A. 1968 Na experimental study of the tactile system of *Lymnaea stagnalis* (L.). *Netherlands Journal of Zoology*, 18 (2): 105-154.

DONELLI, D.C.; ZANCAN, D.M.; FACCIONI-HEUSER, M.C., ACHAVAL, M. 1998. Localization of acid phosphatase activity in the central nervous system of the pulmonate snail *Megalobulimus oblongus* (Müller, 1774). *Braz. J. Morphol Sci.* (no prelo).

DORSETT, D.A. 1986. Brain to cells: the neuroanatomy of selected gastropod species. In: *The Mollusca: neurobiology e behavior*, v.9, part.2, p.101-177.

DORSETT D.A. 1967. Giant Neurons and Axon Pathways in the Brain of *Tritonia*. *J.Exp.Biol.* 46, 137-151.

EALLES, N.B., 1921. *Aplysia*. *Proc.Ipool. Biol.Soc.*, 35: 183-266.

EBERHARDT, B. e WABNITZ, R.W. 1979. Morphological identification and functional analysis of central neurons innervating the penis retractor muscle of *Helix pomatia*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 63A: 599-613.

ELEKES, K.; ROZSA, K.S., VEHOVSKY, A., HERNARDI, L. SALNKI,J.1985. Nerve cells and synaptic connections in the intestinal nerve of the snail, *Helix pomatia* L. *Cell Tissue Res*, v.239, p. 611-620

ESSAWY, A. E. 1994. The neural organization of the paired pedal ganglia of the desert snail *Eremina eherenbergi*. *Func. Devel. Morphol.*, v.4, n.1, p. 9-15.

FASSIONI-HEUSER, M.C.; ZANCAN, D.M. & ACHAVAL, M. 1995. Monoaminas e acetilcolinesterase na musculatura pediosa do caracol pulmonado *Megalobulimus oblongus*. XXIV ENCONTRO ANUAL DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS, Rio Grande, de 16 a 18 de novembro.

FACCIONI-HEUSER, M.C.; ZANCAN, D.M.; ACHAVAL, M. 1997. Ultrastructure of the pedal muscle of the snail *Megalobulimus oblongus*. *Braz. J. Morphol. Sci.*, 14: 105.

FACCIONI-HEUSER, M. C., ZANCAN, D. M., RIGON, P., LOPES, C., ACHAVAL, M. 1998. Ultra-estrutura das células gliais do plexo pedioso do caracol *Megalobulimus oblongus*. In *VII Congresso Ibero-Americano de Biologia Celular*. Anais do VII Congresso Ibero-Americano de Biologia Celular, Montevideo

FACCIONI-HEUSER, M.C. 1999. Aspectos histofisiológicos da musculatura e do plexo pedioso do caracol pulmonado *Megalobulimus oblongus*. Porto Alegre, 1999. 284f. Ciências Biológicas: Fisiologia – UFRGS.

FACCIONI-HEUSER, M. C., ZANCAN, D. M., LOPES, C., ACHAVAL, M.. 1999a. The pedal muscle of the land snail *Megalobulimus oblongus* (Gastropoda, Pulmonata): an ultrastructure approach In *Acta Zoologica*. , 80, 325-357

FACCIONI-HEUSER, M. C., ZANCAN, D. M., LOPES, C., ACHAVAL, M.. 1999b. The ultrastructural features of the neuromuscular junctions of the pedal muscle of the snail *Megalobulimus oblongus* (Gastropod, Pulmonate) In *Acta Microscópica* . no. suppl. C, 8, 661-662

FACCIONI-HEUSER, M. C., ZANCAN, D. M., LOPES, C., ACHAVAL, M.. 1999c. The ultrastructure of the neurones of the neural plexus in the pedal muscle of the snail *Megalobulimus oblongus* In *Acta Microscópica* . no. suppl. C, 8, 663-664

FERGUSON, G.P; BENJAMIN, P.R. 1991. The whole-body withdrawal response of *Lymnaea stagnalis*.I. Identification of central motoneurons and muscles. *J. exp. Biol.*, 158: 63-95.

FREDMAN, S.M., JAHAN-PARWAR, 1983. Command neurons of locomotion in *Aplysia*. *J. Neurophysiology*, 49, n.5, 1092-1117.

FREDMAN, S.M.; JAHAN-PARWAR, B. 1979. Intra- and Interganglionic Synaptic Connections in CNS of *Aplysia*. *Brain Research Bulletin*, 4, p. 393-406.

FREDMAN, S.M.; JAHAN-PARWAR, B. 1980. Role of Pedal Ganglia Motor Neurons in Pedal Wave Generation in *Aplysia*. *Brain Research Bulletin*, 5, p. 179-193.

FULL, R.F. 1997 Invertebrate locomotor system. In: DANTZLER, W.H. (ed.). *Handbook of physiology: comparative physiology*. New York: Oxford University Press, Section 13, v.II, cap. 12, p. 853-928.

GAMKRELIDZE, G.N., LAURIENTI, P.J. BLANKENSHIP, J.E. 1995. Identification and characterization of cerebral ganglion neurons that induce swimming and

modulate swim-related pedal ganglion neurons in *Aplysia brasiliana*. *J. Neurophysiol.*, 74: 1444-1462.

GETTING, P.A. 1983. Mechanisms of pattern generation underlying swimming in *Tritonia*. II. Network reconstruction. *Journal of Neurophysiology*, 49, 1017-1034.

GILLETTE, R. 1991. On the significance of neuronal gigantism in gastropods. *Biol. Bull.*, 180: 234-240.

GRASSÉ, P.P. (Dir.) 1968. *Traité de Zoologie: anatomie, systématique, biologie*. Paris: Masson et C^e Éditeurs – Librairies de L'académie de médecine. Tome V (Mollusques Gasterópodes et Scaphopodes) – Fascicule III, p. 308-607

HASZPRUNAR, G., HUBER, G. 1990. On the central nervous system of Smeagolidae and rhodopidae, two families questionably allied with the gymnomorpha (gastropoda: euthyneura). *J. Zool. Lond.* 220, 185-199.

HENING, W.A., WALTERS, E.T., CAREW, T.J., KANDEL, E.R. 1979. Motorneuronal control of locomotion in *Aplysia*. *Brain Research*, 179, 231-253.

HERNÁDI, L. 1992. Somatotopic representation of the head areas in the cerebral ganglion of the snail *Helix pomatia*. *Acta Biol. Hung.* 43 (1-4), p. 221-230.

HYMAN, L.H. 1967. *The invertebrates, USA: McGraw-Hill*, v.6., Mollusca I, p.549-769.

INOUE, T., TAKASAKI, M., LUKOWIAK, K., SYED, N.I. 1996. Inhibition of the respiratory pattern-generating neurons by an identified whole-body withdrawal interneuron of *Lymnaea stagnalis*. *Journal Exp. Biol.* 199, 1887-1898.

JAEGER, C.P. 1961. Action of acetylcholine on the heart of *Strophocheilus oblongus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 4: 30-32.

JAEGER, C.P. 1965. Giant snail is used for muscle studies. *Nat. Hist.*, 74: 26-27.

JAHAN-PARWAR, B.; FREDMAN, S.M., 1978a. Control of pedal and parapodial movements in *Aplysia*. I. Proprioceptive and Tactile Reflexes. *Journal of Neurophysiology*. 4, p. 600-608.

JAHAN-PARWAR, B.; FREDMAN, S.M., 1978b. Pedal locomotion in *Aplysia californica*. I. Sensory and motor fields of pedal nerves. *Comp. Bioch. Physiol.* 60A, p. 459-465.

JAHAN-PARWAR, B.; FREDMAN, S.M., 1979. Role of Interganglionic Synaptic Connections in the Control of Pedal and Parapodial Movements in *Aplysia*. *Brain Research Bulletin*, 4, p. 407-420.

JAHAN-PARWAR, B.; FREDMAN, S.M. 1980. Motor program for pedal waves during *Aplysia* locomotion is generated in the pedal ganglia. *Brain Res. Bulletin*, 5: 169-177.

JANSE, C., 1974. A neurophysiological study of the peripheral tactile system of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Netherlands Journal of Zoology* 24(2): 93-161.

JECKEL, C.M.M. 2001. Imunorreatividade a FRMF-amida no sistema nervoso central e na musculatura pediosa de *Megalobulimus oblongus*. [Dissertação de Mestrado] Porto Alegre, 90f. Ciências Biológicas: Neurociências – UFRGS.

JING, J.; GILLETTE, R. 1995. Neuronal elements that mediate escape swimming and suppress feeding behavior in the predatory sea slug *Pleurobranchaea*. *J. Neurophysiol.*, 74: 1900-1910.

KANEKO, C.R.S.; KATER, S.B. 1973. Intracellular staining techniques in gastropod molluscs. In: KATER, S.B. & NICHOLSON, C. *Intracellular staining in neurobiology*. Berlin, Springer-Verlag. pp.151-156.

KATZ, P.S.; FROST, W.N. 1997. Removal of spike frequency adaptation via neuromodulation intrinsic to the *Tritonia* escape swim central pattern generator. *J. Neuroscience*, 17: 7703-7713.

KAVALIERS, M., CHOLERIS, E., PRATO, F.S., OSSENKOPP, K.-P. 1998. Evidence for the involvement of nitric oxide synthase in the modulation of opioid-induced antinociception and the inhibitory effects of exposure to 60-Hz magnetic fields in the land snail, *Brain Res.*, 809: 50-57

KEMENES, G., S.-RÓZSA, K., CARPENTER, D.O. 1993. Cyclic-AMP-mediated excitatory responses to leucine-enkephalin in *Aplysia* neurones. *J. exp. Biol.*, 181: 321-328.

KERKUT, G. A., WALKER, R.J. 1975. Nervous System, Eye and Statocyst. IN: FRETER, V. PEAKE, J. *Pulmonates: Functional Anatomy and Physiology*, London: Academic Press, v.1, cap.5, p. 165-244.

KERKUT, G.A., LAMBERT, J.D.C., GAYTON, R.J., LOKER, J.E., WALKER, R.J. 1975. Mapping of nerve cells in the subesophageal ganglia of *Helix aspersa*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 50A: 1-25.

KYRIAKIDES, M., McCROHAN, C.R., SLADE, C.T., SYED, N.I., WINLOW, W. 1989. The morphology and electrophysiology of the neurones of the paired pedal ganglia of *Lymnaea stagnalis* (L.) *Comp. Biochem. Physiol.*, 93A: 861-876

LAWRENZ-MILLER, S. 1977. Locomotion in gastropod molluscs and evolution of the brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 299, 26-34.

LOHMANN, K., WILLOWS, A.O.D., PINTER, R. 1991. Identifiable molluscan neuron responds to changes in Earth-strength magnetic fields. *J. exp. Biol.*, 161: 1-24.

LONGO, D., ACHAVAL, M., ZANCAN, D. 2000. Neurônios cerebrais envolvidos na inervação do tentáculo anterior do caracol *Megalobulimus oblongus*. XII Salão de Iniciação Científica – UFRGS.

LUCHEL, A. et al. 1997. Gastropoda: Pulmonata. In: HARRISON, F.W., KOHN, A.J., 1997. *Mollusca I – Microscopic Anatomy Of Invertebrates*, Wiley-Liss, Inc. USA: Copyright, v.5, 390p.

MANUAL of histologic and special staining technics. 1960. 2.ed. Ed. New York, McGraw-Hill, 207p.

McCLELLAN, A.D., BROWN, G.D., GETTIN, P.A., 1994. Modulation of swimming in *Tritonia*: excitatory and inhibitory effects of serotonin. *J. Comp. Physiol. A*, 174: 257-266.

McPHERSON, D.R.; BLANKENSHIP, J.E. 1991a. Neural control of swimming in *Aplysia brasiliana* I. Inervation of parapodial muscle by pedal ganglion motoneurons. *J. Neurophysiol.*, 66: 1338-1350.

McPHERSON, D.R.; BLANKENSHIP, J.E. 1991b. Neural control of swimming in *Aplysia brasiliana* II. Organization of pedal motoneurons and parapodial motor fields. *J. Neurophysiol.*, 66: 1352-1365.

McPHERSON, D.R.; BLANKENSHIP, J.E. 1991c. Neural control of swimming in *Aplysia brasiliana* III. Serotonergic modulatory neurons. *J. Neurophysiol.*, 66: 1366-1379.

McPHERSON, D.R.; BLANKENSHIP, J.E. 1992. Neuronal modulation of foot and body-wall contractions in *Aplysia californica*. *J. Neurophysiol.*, 67: 23-28.

MOFFETT, S.B. 1990. Locomotion in the pulmonate snail *Melampus* – I. The motor pattern. *Comp. Biochem. Physiol.* 96A. 3, p. 399-406, 1990.

NICHOLSON, C., KATER, S.B. 1973. The development of intracellular staining. In: KATER, S.B. & NICHOLSON, C. *Intracellular staining in neurobiology*. Berlin, Spriger-Verlag. pp.1-19.

OSIPENKO, O.N., KEMENES, G. 1991. Interneuronal monosynaptic peptidergic contact responsible for the bursting activity generation in the Rpa1 neuron of the snail *Helix pomatia* L. is axo-axonal. *Comp. Biochem. Phys.* 99A, 3, 371-373.

PALOVCIK, R.A., BASBERG, B.A. RAM, J.L. 1982. Behavioral state changes induced in *Pleurobranchae* and *Aplysia* by serotonin. *Behav. Neural. Biol.* 35: 383-394.

PANCHIN, Y.V., POPOVA, L.B., DELIAGINA, T.G., ORLOVSKY, G.N., ARSHAVSKY, Y.I. 1995a. Control of locomotion in marine mollusk *Clione limacina*. VIII. Cerebropedal neurons. *J. Neurophysiol.*, 73: 1912-1923.

PANCHIN, Y.V., ARSHAVSKY, Y.I., POPOVA, L.B., DELIAGINA, T.G., ORLOVSKY, G.N., 1995b. Control of locomotion in marine mollusk *Clione limacina*. VIII. Neuronal Mechanisms of spatial orientation. *J. Neurophysiol.*, 73: 1924-1937.

PARSONS, D.W., PINSKER, 1988. Swimming in *Aplysia brasiliana*: identification of parapodial opener-phase and closer-phase neurons. *Journal of Neurophysiology*, 59, 717-739.

PENHA, M.A.P. 2001. Um modelo de comportamento aversivo térmico em *Megalobulimus oblongus* e a ação de fármacos nos sistemas opióide e serotoninérgico envolvidos na nocicepção. [Dissertação de Mestrado], UFRGS.

PERES, T.M.S. 1994. *Anatomia do sistema nervoso central de Megalobulimus oblongus*. Porto Alegre, 48 p. [Dissertação do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, ênfase em Fisiologia-UFRGS].

PERES, T.M.S.; ZANCAN, D.M.; ACHAVAL, M. 1993. Morfologia do sistema nervoso central do *Megalobulimus oblongus*. VIII Congresso Luso-Brasileiro de Anatomia; XVI Congresso Brasileiro de Anatomia, São Paulo, 11 a 15 de julho.

PITMAN, R.M., TWEEDLE, C.D., COHEN, M.J. 1973. The form of nerve cells: determination by cobalt impregnation. In: KATER, S.B. & NICHOLSON, C. *Intracellular staining in neurobiology*. Berlin, Spriger-Verlag. pp.83-97.

RATTE, S.; CHASE, R. 1997. Morphology of interneurons in the procerebrum of the snail *Helix aspersa*. *J. Comp. Neurol.* 384, 359-372

RIGON, P.; OLIVEIRA, A.H.; FACCIONI-HEUSER, M.C.; ZANCAN, D.M.; ACHAVAL, M. 1998. Imunorreatividade à substância P no plexo pedioso do caracol terrestre *Megalobulimus oblongus*. VII CONGRESSO IBERO-AMERICANO DE BIOLOGIA CELULAR. Montevideo, Uruguai.

ROMERO, S.M.B., HOFFMANN, A. 1991. Heart rate and behavioral patterns of *Megalobulimus sanctipauli* (mollusca, gastropoda, pulmonata). *Braz. J. Med. Biol Res* 24: 223-227.

ROMERO, S.M.B., HOFFMANN, A., MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L. 1994. Is there an opiate receptor in the snail *Megalobulimus sanctipauli*? Action of morphine and naloxone. *Comp. Biochem. Physiol.* V. 107 C, n.1, p. 37-40.

ROSENBERG, G. 1996. Anatomy and morphometric analysis of the truncatellid nervous system (gastropoda: rissoidae). *J. Moll. Stud.*, 62, 507-516.

RUPPERT, E.E., BARNES, R.D. 1994. The Molluscs. In: _____ *Invertebrate Zoology*, 6.ed., USA: Suders College Publishing, cap. 10, p. 361-498.

SANTOS, E.D., LIU J.G., TAKEUCHI, H., HASHIMOTO, K., DEURA, S. 1992. Further identification of giant neurones in the pedal ganglia of *Achatina fulica ferussac*. *Comp. Biochem. Physiol.* V. 102C, n.3, 373-377.

- SANTOS, P.; GEHLEN, G.; FACCIONI-HEUSER, M.C., ZANCAN, D. M., ACHAVAL, M.. 2001. The distribution of glial cells in the central nervous system of the pulmonate snail *Megalobulimus oblongus* identified by means of a glial fibrillary acidic protein marker In *Acta Zoologica*.
- SATTERLIE, R.A. 1993. Neuromuscular organization in the swimming system of the pteropod mollusc *Clione limacina*. *J. Exp. Biol.*, 181: 119-140.
- SATTERLIE, R.A.; NOREKIAN, T.P.; JORDAN, S.; KAZILEK, C.J. 1995. Serotonergic modulation of swimming speed in the pteropod mollusc *Clione limacina*. I. Serotonin immunoreactivity in the central nervous system and wings. *J. Exp. Biol.*, 198: 895-904.
- SATTERLIE, R.A.; NOREKIAN, T.P.; ROBERTSON, K.J. 1997. Startle Phase of escape swimming is controlled by motoneurons in the pteropod mollusk *Clione limacina*. *J. Neurophysiol.* 77: 272-280.
- SAWAYA, P. e PETERSEN, J.A., 1962. Sobre a ocorrência de Strophochellidae (Molusco, Gastropode) no Rio Grande do Sul. *Bol. Fac. Filos. Cienc. Letr. S. Paulo*, 261: 31-42.
- SCHÜTT, A., BULLOCK, T.H., BASAR, E. 2000. Odor input generates ~1.5 Hz e ~3 Hz spectral peaks in the *Helix* pedal ganglion. *Brain Research* 879, p. 73-87.
- SCOTT, M.I.H. 1939. Estudio anatómico del Borus *Strophocheilus lorentzianus*. Revista del museo de la plata, *Zoologia*, n.7, 217-278.
- SHEPHERD, G.M. 1994. *Neurobiology*. New York, Oxford University Press, 760 p.
- SLADE, C. T.; MILLS, J.; WINLOW, W. 1981. The neuronal organisation of the paired pedal ganglia of *Lymnaea stagnalis*. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 69A. pp.789-803.
- SMALL, S.M.; COHEN, T.E.; KANDEL, E.R. et al. 1992. Identified FMRF-amide immunoreactive neuron LPL 16 in the left pleural ganglion of *Aplysia* produces presynaptic inhibition of siphon sensory neurons. *J. Neurosc.* V. 12, n.5, p. 1616-1627.
- SNYDER, K.A., MOFFETT, S.B. 1990. Locomotion in the pulmonate snail *Melampus* – II. Recovery after pedal ganglion excision. *Comp. Biochem. Physiol.* 96A, n.3, p. 407-414, 1990.
- SOARES, B.M. Variabilidade morfológica de *Phylloculis variegatus* (Semper 1885) (Mollusca, Gastropoda, Veronicellidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de Mestrado, PUCRS, 2001, 86p.
- STABILE, V. C., DAL PIVA, M. M. D., ACHAVAL, M., ZANCAN, D. M. 1998. Neurônios cerebrais envolvidos na inervação dos tentáculos ópticos e palpos labiais do caracol *Megalobulimus oblongus*. . In *VII Congresso Ibero-Americano*

de Biologia Celular. Anais do VII Congresso Ibero-Americano de Biologia Celular, Montevideo

SYED, N.I., ROGER, I., RIDGWAY, R.L., BAUCE, L.G., LUKOWIAK, K., BULLOCH, A.G.M. 1993. Identification, characterisation and in vitro reconstruction of an interneuronal network of the snail *Heliosoma trivolvis*. *J. Exp. Biol.*, 174, 19-44.

SYED, N.I.; HARRISON, D.; WINLOW, W. 1988. Locomotion in *Lymnaea* - role of serotonergic motoneurons controlling the pedal ganglia. *Symposia Biologica Hungarica.*, 36: 387-402.

SYED, N.I.; HARRISON, D.; WINLOW, W. 1991. Respiratory behaviour in the pond snail *Lymnaea stagnalis* I. Behavioral analysis and the identification of motor neurons. *J. Comp. Physiol A*, 169: 541-555.

SYED, N.I.; WINLOW, W. 1989. Morphology and electrophysiology of neurons innervating the ciliated locomotor epithelium in *Lymnaea Stagnalis* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.* Vol.93A, n. 3, pp. 633-644

SYED, N.I.; WINLOW, W. 1991a. Coordination of locomotor and cardiorespiratory networks of *Lymnaea stagnalis* by a pair of identified interneurons. *J. exp. Biol.* 158, 37-62

SYED, N.I.; WINLOW, W. 1991b. Respiratory behaviour in the pond snail *Lymnaea stagnalis* II. Neural elements of the central pattern generator. *J. Comp. Physiol A*, 169: 557-568.

SYED, N.I., BULLOCH, A.G.M., LUKOWIAK, K. 1990. In vitro reconstruction of the respiratory central pattern generator of the mollusk *Lymnaea*, *Science*, 250, 282-285.

TAKEDA, N., OZAKI, T. 1986. Induction of locomotor behaviour in the giant african snail, *Achatina fulica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 83 A, 77-82.

TAKEUCHI, H., ARAKI, Y. EMADUDDIN, M., ZHANG, M. XY, HAN, SALUNGA, T.L., WONG, S.M. 1996. Identifiable *Achatina* giant neurones: their localizations in ganglia, axonal pathways and pharmacological features. *Gen. Pharmacol.* 27 (1) 3-32.

THOMÉ, J.W. 1976. Revisão do gênero *Phyllocaulis* COLOSI, 1922 (Mollusca; Verocicellidae), *Iheringia* (49): 67-90.

TRUEMAN, E.R. 1983. Locomotion in Molluscs. In: WILBW, K.M.; SALLUDDIN, A.S.M., *The Mollusca – Physiology*, v.4, part.1, p. 155-198.

TURNER, R.S., NEVIUS, D. B. 1951. The organization of the nervous system of *Ariolimax columbianus*. *The journal of comparative neurology*, v. 94. p. 239-253

VOLTZOW, J. 1990. The functional morphology of the pedal musculature of the marine gastropods *Ibussycon contrarium* and *Ihaliotis kamtschatkana*. *Veliger*, 33: 1-19.

VOLTZOW, J. 1994. Gastropoda: Prosobranchia. In: HARRISON, F.W. e KOHN, A. J. (eds). *Microscopic Anatomy of Invertebrates*. New York, Wiley-Liss, Inc. Vol.5, p. 111-252.

WALKER, R.J, 1986. Transmitter and modulators. In. *The mollusca*, v.9 Neurobiology and Behaviour, part.2 (Willows, A.O.D. ed.) Academic Press, New York, p. 279-485.

WIGNARAJAH, S. 1960. The nervous system of *Acavus phoenix* (Mollusca Pulmonata). *Ceylon Jour. Sci. Biol. Sci.* 3.

WILLE, J. 1915. Untersuchungen über den anatomischen bau der lungenschnecke *Stenogyra decollata* L. *Jena. Z. Naturw.* 53: 717:804.

WILLOWS, A., DORSETT, D.A., HOYLE, G. 1973. The neuronal basis fo behaviour in *Tritonia*. I. Functional organization of the central nervous system. *Journal of Neurobiology*, v.4, n.3, p. 207-237.

WINLOW, W., HAYDON, P.G., BENJAMIN, P.R. 1981. Multiple postsynaptic actions of the giant dopamine-containing neurone R.Pe.D.I of *Lymnaea stagnalis*. *J. exp. Biol.*, 94, 137-148.

WINLOW, W., HAYDON, P.G., 1986. A behavioural and neuronal analysis of the locomotory system of *Lymnaea stagnalis*. *Comp. Bio. Physiol.* 83A, 1, 13-21.

ZAKHAROV, I.S., IERUSALIMSKY, V.N. 1992. The neuroanatomical basis of feeding behaviour in the pterodop mollusc, *Clione limacina* (Phipps). *J. Comp. Physiol. A.*, 170: 525-532.

ZANCAN, D.M. 1996. *Localização de mediadores químicos nos gânglios nervosos centrais e tentaculares e inervação da glândula corpo dorsal do caracol pulmonado *Megalobulimus oblongus**. Porto Alegre, 379 p. [Tese de doutorado apresentada ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas-Fisiologia, UFRGS].

ZANCAN, D.M. e ACHAVAL, M. 1995. Morphology of the dorsal body of the pulmonate mollusk *Megalobulimus oblongus* (Müller, 1774) and its seasonal variations. *Rev. Brasil. Biol.*, 55: 1-11.

ZANCAN, D.M. e ACHAVAL, M. 1997. Cellular localization of serotonin by immunohistochemical and neurotoxin-induced pigmentation in the nervous system of the snail *Megalobulimus oblongus*. *Braz, J. Morphol. Sci.*, 14:103.

ZANCAN, D.M.; BRAUER, M.; ACHAVAL, M. 1997. Monoamine-containing neurons in the central nervous system of *Megalobulimus oblongus* (Gastropoda, Pulmonata). *Comp. Biochem. Physiol. A*, 118 (3): 765-772.

ZANCAN, D.M.; NÓBLEGA, H.G.; SEVERINO, A.G. e ACHAVAL, M. 1994. Acetylcholinesterase distribution in the central nervous system of the *Megalobulimus oblongus* (Gastropoda, Pulmonata). *Arch. Anat. Hist. Embr. norm. exp.*,75: 75-86.

ZANCAN, D.M., DAL PIVA, M.M., FIORENTINI, M.R., SCHEWEIGER, C. PUPERI, C., LOPES, C. ACHAVAL, M. 2001. Estrutura dos palpos labiais do caracol terrestre *Megalobulimus oblongus* (gastropoda, pulmonata). Anais da XVI reunião anual da FESBE, Caxambú (MG), agosto de 2001, p.149.

APÊNDICE

Relação das espécies ou grupos de espécies citadas no trabalho, de acordo com a classificação zoológica (HYMAN, 1967, BARNES et al. 1993, RUPPERT e BARNES, 1994). Alguns grupos de seres vivos não citados no trabalho podem constar nesta listagem apenas para auxiliar na posição dos animais citados na escala zoológica. Ao lado do nome dos grupos segue, entre parênteses, descrição geral e nomes populares ou científicos, como exemplos de seus representantes mais conhecidos.

SUPER-REINOS

Procariote

- Bactérias, vírus, cianofíceas.

Eucariote

REINOS

Protistas (unicelulares)

Plantae (multicelulares)

Fungi

Animalia

FILOS

Porifera (esponjas)

Cnidaria = Celenterados (simetria radial. hidras, medusas, anêmonas, corais)

Platyhelminthe (vermes achatados. planúrias., *Schistosoma*, *Taenia*)

Nematoda (verme com simetria radial no eixo longitudinal; *Caenorhabditis*)

Echiura (vermes celomados não-segmentados, marinhos, *Urechis*)

Annelida (corpo vermiforme dividido em segmentos)

CLASSES

Polycheta (corpo com cerdas; marinhos. *Nereis*)

Clitellata

SUBCLASSE

Oligocheta (predominantemente terrestre ou de água doce, minhocas, *Lumbricus*)

Hirudinea (sanguessugas, *Hirudo*; *Haemopsis*)

Mollusca

- Corpo altamente variável em forma, mas frequentemente côncavo e alongado no plano dorsoventral, formando uma "corcunda visceral"; com uma cabeça anterior que origina os olhos e tentáculos sensoriais e um grande pé ventral achatado. Mas todas estas características estão sujeitas a consideráveis modificações. Possui 8 classes, das quais 2, gastrópodes e bivalvos, possuem 98% das espécies vivas de moluscos. Algumas destas classes são citadas abaixo.

CLASSES

Polyplacophora (corpo achatado dorsoventralmente, alongado; a concha dorsal constitui-se de 8 placas seriadas superpostas; cabeça pouco desenvolvida; quíton)

Gastropoda (maior número de representantes; o plano básico corporal é constituído de um pé ratejador bem desenvolvido, cabeça bem definida, contendo uma rádula (aparelho mastigador), um par de olhos e um ou mais pares de tentáculos sensoriais. A cabeça e o pé são completamente retráteis para dentro de uma concha em forma hélico-espiral)

SUBCLASSE

Prosobranchia (a cavidade do manto está localizada anteriormente)

Ordem Archeogastropoda (*Haliothis*, marinho)

Ordem Mesogastropoda (*Pomacea*, ág. doce; *Littorina*, mar.; *Cicloforos* (terrestres), *Truncatélídeos* (terrestres))

Ordem Neogastropoda (*Murex*, *Rapana*, *Buccinum*, *Conus*)

Opisthobranchia (redução ou perda da concha e da cavidade do manto, com 2 pares de tentáculos, marinhos)

Ordem Cephalaspidea (*Philine*, *Bulla*)

Ordem Aplysiacea (*Aplysia*)

Ordem Notaspidea (*Pleurobranchea*)

Ordem Nudibranchia (*Tritonia*, *Clione*, *Hermisenda*)

Pulmonata (brânquias ausentes, cavidade do manto no lado direito e

convertida em uma câmara vascularizada para trocas gasosas com o ar; maior centralização do SN)

Ordem Basommatophora (com um par de tentáculos, olhos situados próximos à base do tentáculo; a maioria de água doce; possui 11 famílias)

Superfamília Lymnaeacea

Família Lymnaeidae (*Lymnaea*)

Superfamília Ancylocephala

Família Planorbidae (*Biomphalaria*, *Planorbarius*, *Planorbis*, *Helisoma*)

Ordem Systellomatophora

Família Verocinellidae (*Laevicaulis altae*)

Ordem Stylommatophora (terrestres, com ou sem concha; 2 pares

de tentáculos, sendo que o par posterior sustenta o olho

na extremidade; possuem 58 famílias. A classificação é

baseada na morfologia do sistema excretor, o qual

define 4 subordens)

Subordem Orthurethra

Subordem Mesurethra

Família Megalobulimidae (*Megalobulimus oblongus*)

Família Strophocheilidae (*Strophocheilus*)

Subordem Heterurethra

Família Succineidae (*Succinea*, *hábito anfíbio*)

Subordem Sigmurethra

Família Achatinidae (*Achatina*)

Família Bulimulidae (*Bulimus*)

Família Arionidae (*Arion*, *Ariolimax* - concha reduzida, envolvida pelo manto; lesmas)

Família Limacidae (*Limax*, *Agriolimax* ou *Deroceras*, *Cryptozona*)

Família Helicidae (*Cepeaea*, *Helix*, *Theba*, *Hellicela*)

Bivalvia (corpo completamente contido dentro de um par de conchas ou

relativamente valvas articuladas ao longo da linha médio-dorsal,

sedentários ou sésseis, não existe cefalização (sem rádula,

do olhos ou tentáculos); poucos possuem olhos na margem

manto)

mexilhões, mariscos, *Mytilus* (marinho), *Anodonta* (água doce), *Unio*, *Macoma*, *Pactinopecten*, *Mercenaria*

Cephalopoda (marinhos, podem atingir grande comprimento, possui

o

SN mais desenvolvido dentre os invertebrados, ao invés de pé, possui vários tentáculos prênseis ao redor da boca. Animais pelágicos que nadam por jato-propulsão, predadores)

lulas e polvos, Sepia; Loligo, Octopus

Os três filos listados abaixo constituem os artrópodos, invertebrados com patas articuladas. Possuem corpo revestido por exoesqueleto com cutícula endurecida e articulado. Possuem o maior número de espécies dentre os invertebrados.

Chelicerata (corpo dividido em apenas 2 regiões: cefalotórax e abdome)

CLASSES

Merostomata (a maioria fósseis, *Limulus*)

Arachnida (constitui 98% dos quelicerados; aranhas, escorpiões, ácaros)

Uniramia

SUBFILO

Myriapoda (centopéias, milipede)

Hexapoda (insetos; 6 classes)

CLASSE

Pterygota (insetos com asas; *Calliphora*, *Drosophila*, *Locusta*,
Leucophaea)

Crustacea (10 classes)

CLASSE

Malacostraca (a mais importante em número de espécies;
caranguejos, *Uca*, *Carcinus*, lagostins e lagostas, *Procambarus*,
Homarus, camarões)

Os próximos filios constituem os deuterostomados, os quais se caracterizam, entre tantos aspectos desenvolvimentais, estruturais e bioquímicos distintos dos filios listados acima, pelo fato de no desenvolvimento embriológico inicial, o blastóporo não formar a boca, a qual se origina de uma abertura secundária do intestino (daí o nome "deuterostomado").

Echinodermata (estrela-do-mar, ourigo-do-mar, pepino-do-mar)

Chordata (presença, em algum estágio da vida, de notocorda e de parede da faringe perfurada por fendas para o exterior. Possui 3 subfilios, sendo 2 dos quais constituído de animais invertebrados e um de vertebrados)

SUBFILO

Urochordata = Tunicados (corpo revestido por uma túnica ou cobertura secretada de celulose e proteína; a maioria são sésseis)

CLASSE

Ascidiacea (*Ascidea*, *Ciona*)

Cephalochordata (corpo lateralmente comprido, forma de peixe, notocorda por toda a vida, vida livre; *Amphioxo*)