

Papéis Avulsos de Zoologia

Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

Volume 49(33):459-466, 2009

www.mz.usp.br/publicacoes
www.revistasusp.sibi.usp.br
www.scielo.br/paz

ISSN impresso: 0031-1049
ISSN on-line: 1807-0205

ASPECTOS HISTOLÓGICOS DAS GÔNADAS HERMAFRODITAS DE *BIOMPHALARIA GLABRATA* E *BRADYBAENA SIMILARIS* (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA)

RINALDO FLORÊNCIO DA SILVA¹
JAIRO JOSÉ MATOZINHO CUBAS¹
JOSUÉ DE MORAES^{1,2}

ABSTRACT

Biomphalaria glabrata (Say, 1818) is a freshwater pulmonate gastropod that represents great medical importance. *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) is a terrestrial pulmonate gastropod and an important plague to the different plant cultures with economic interest. Both species are intermediate hosts of helminths. These molluscs have hermaphrodites gonads producing eggs and sperm. Here, we examined histomorphological aspects of hermaphrodites gonads of both *B. glabrata* and *B. similaris*. The gonad of *B. similaris* is subdivided into lobes and presence of glands in its interior, which was not observed in *B. glabrata*. Moreover, in *B. similaris* the germ cells are accumulated in some areas, and has one oocyte in each follicle in the gonad; however, in *B. glabrata* the germ cells are juxtaposed and more than one oocyte in each follicle.

KEYWORDS: Histology; Hermaphrodites gonads; *Biomphalaria glabrata*; *Bradybaena similaris*.

INTRODUÇÃO

Os moluscos pulmonados constituem um importante foco de estudo pela importância econômica e por atuarem como hospedeiros intermediários de helmintos que parasitam humanos e animais em diversas regiões no mundo.

Biomphalaria glabrata é um gastrópode pulmonado de água doce que possui um grande interesse médico por ser hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* e de outros trematódeos de importância veterinária; esta espécie é a mais estudada devido a sua ampla distribuição geográfica e eficiência na suscetibilidade pelos parasitas

(Morgan *et al.*, 2001, Paraense, 2001). *Bradybaena similaris* é um gastrópode pulmonado terrestre amplamente distribuído no Brasil, sendo considerada uma importante praga de culturas vegetais e, também, hospedeiros de helmintos (Leahy, 1984; Araújo, 1989; Amato & Bezerra, 1989; Picoral & Thomé, 1989; Rambo *et al.*, 1997); esta espécie tem sido utilizada como um modelo biológico devido sua distribuição e abundância.

Biomphalaria glabrata e *Bradybaena similaris* são gastrópodes hermafroditas, que possuem uma gônada em forma de cacho e de constituição acinar produtora de óvulos e espermatozoides em um mesmo folículo (Jong-Brink *et al.*, 1977; Furtado *et al.*, 2004). Para

1. Disciplina de Parasitologia e Zoologia, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdades Integradas Torricelli. Av. Papa Pio XII, 291, Campus IV, 07113-000, Guarulhos, SP, Brasil. E-mail: rinaldobio@bol.com.br; jairomatozinho@uol.com.br

2. Laboratório de Parasitologia, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: josuem@usp.br

Jong-Brink *et al.* (1977), a morfologia geral dos sucessivos estágios da espermatogênese em *B. glabrata* é bastante similar à de outros gastrópodos. Além disso, a histologia das gônadas de *B. similaris* mostra semelhança entre os moluscos (Furtado *et al.*, 2004). Por outro lado, os aspectos histomorfológicos das gônadas hermafroditas desses moluscos, principalmente *B. similaris*, foram pouco descritos.

O objetivo do presente estudo foi descrever os aspectos histomorfológicos das gônadas hermafroditas de *B. glabrata* e *B. similaris*. O estudo das estruturas que compõem o sistema reprodutor dos moluscos pode contribuir para o conhecimento da reprodução e comportamento desses animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Os exemplares de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) descendem de espécimes de Barreiros de Baixo (Belo Horizonte, MG) e foram cedidos pelo Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan. Os moluscos tinham em torno de 90 a 120 dias de vida e foram mantidos em aquários de polietileno (22 x 55 x 17 cm) com cerca de 20 litros de água filtrada e alimentados com alface fresca; os aquários foram arejados com bombas de 1,5 W e mantidos a 25°C de acordo com Moraes *et al.* (2009).

Os espécimes de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) foram coletados em hortas comunitárias e mantidos no Laboratório de Biociências das Faculdades Integradas Torricelli. Os moluscos foram mantidos à temperatura ambiente e com pouca luminosidade em aquário de vidro (22 x 55 x 17 cm), preenchido com terra úmida de procedência do mesmo local de coleta.

Procedimentos histológicos

Seis exemplares de *B. glabrata* e *B. similaris* foram sacrificados em câmara de gás de éter etílico e fixados com a concha em formaldeído a 10% durante 30 minutos e, posteriormente, submetidos à descalcificação com ácido nítrico a 10% por 30 minutos; os moluscos foram lavados em água corrente e novamente fixados (Furtado *et al.*, 2004). Após sacrifício e descalcificação, quatro exemplares de cada espécie foram fixados em formol a 10% por 12 horas, em seguida foram convenientemente desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanizados pelo xilol e impregnados pela parafina líquida (60°C), segundo a metodologia

preconizada por Michalany (1998). A inclusão foi realizada de tal maneira que se pudessem observar, nas lâminas histológicas, cortes longitudinais da estrutura corporal inteira do molusco. Posteriormente, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo Minot, ajustado para 4 µm. Os cortes assim obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidas durante 24 horas (46°C) para secagem e colagem. Quatro lâminas de cada animal foram então submetidas ao método de coloração pela hematoxilina-eosina (HE) para posterior análise histomorfológica. Após identificação, cinco conchas e lâminas histológicas foram depositados na Superintendência de Controle de Endemias de São Paulo (SUCEN-SP).

Análise morfológica

No estudo morfológico os cortes foram caracterizados nos padrões de aumentos crescentes para análise de estrutura geral e específica, sendo utilizado o microscópio de luz. A avaliação histológica foi feita por digitalização de imagem, com o auxílio do programa de análise gráfica (Imagelab, Softium). O microscópio de luz (Axiolab, Carl Zeiss) estava acoplado com uma videocâmera (Hyper Had SSC-DC 54, Sony).

RESULTADOS

Histologia da gônada de *Biomphalaria glabrata*

Pela análise histomorfológica da gônada hermafrodita de *B. glabrata* pode-se observar que esta se encontra parcialmente envolvida pela glândula digestiva (Fig. 1). Envolvendo a gônada há uma cápsula constituída em sua maior porção por epitélio pavimentoso simples e em pequenos trechos com estratificação cúbica. Abaixo da cápsula encontra-se tecido conjuntivo frouxo com fibrócitos e fibroblastos além de macrófagos com grande quantidade de grânulos citoplasmáticos. Há, ainda, a presença de capilares.

No interior da gônada hermafrodita de *B. glabrata* nota-se numerosos ácidos delimitados por epitélio pavimentoso simples (Fig. 2). Em cada ácido e adjacente a sua parede há células germinativas organizadas de forma linear. Essas células aparecem com diferentes tamanhos sugerindo estágios de desenvolvimento diferenciados da espermatogênese e algumas figuras mitóticas. Além disso, há mais de um ovócito em cada ácido, com tamanhos irregulares e sempre localizados na parede do ácido. Os ovócitos compreendem células com citoplasma claro, fortemente acidófilo e núcleo

com cromatina dispersa, pouco corada e, internamente, há a presença de nucléolo visível.

No corte longitudinal de um ácino da gônada hermafrodita de *B. glabrata* observa-se o agrupamento das células germinativas, as formações do ovócito e de espermatozoides. Estes gametas masculinos com longos flagelos encontram-se agrupados no lúmen folicular (Fig. 3).

Histologia da gônada de *Bradybaena similaris*

A análise histomorfológica mostra que a gônada hermafrodita de *B. similaris* apresenta-se subdividida em lobos, revestidos de epitélio pavimentoso simples (Fig. 4). Abaixo deste epitélio encontra-se uma fina camada de tecido conjuntivo denso seguido de tecido conjuntivo frouxo, que envolve glândulas internas e numerosos ácinos com células germinativas em seu interior. Mais internamente, e logo abaixo das glândulas, aparecem os ácinos com células germinativas revestidas por fino epitélio pavimentoso.

No interior de cada lobo há glândulas que também são revestidas por epitélio pavimentoso simples; células com núcleo em posição basal secretam para o lúmen uma secreção eosinófila. Nota-se, também, que a gônada hermafrodita de *B. similaris* está adjacente à glândula digestiva, embora com nítida delimitação entre ambos (Fig. 5).

Na Fig. 6 observa-se que no interior de um ácino da gônada hermafrodita há regiões de espermatogênese e espermiogênese em diferentes estágios de diferenciação. Entre os espaços de espermatogênese e localizado na parede do ácino há ovócitos com tamanhos irregulares e citoplasma intensamente acidófilo. No ovócito nota-se, ainda, o núcleo pouco corado e presença de eucromatina, heterocromatina; o nucléolo está pouco evidente.

DISCUSSÃO

Biomphalaria glabrata é o maior membro da família Planorbidae e distribui-se por muitos esta-



FIGURA 1: Fotomicrografia da gônada hermafrodita (GH) e glândula digestiva (GD) de *Biomphalaria glabrata*. Notar a glândula digestiva envolvendo a gônada hermafrodita e a ausência de glândulas no interior da gônada. Hematoxilina-eosina.

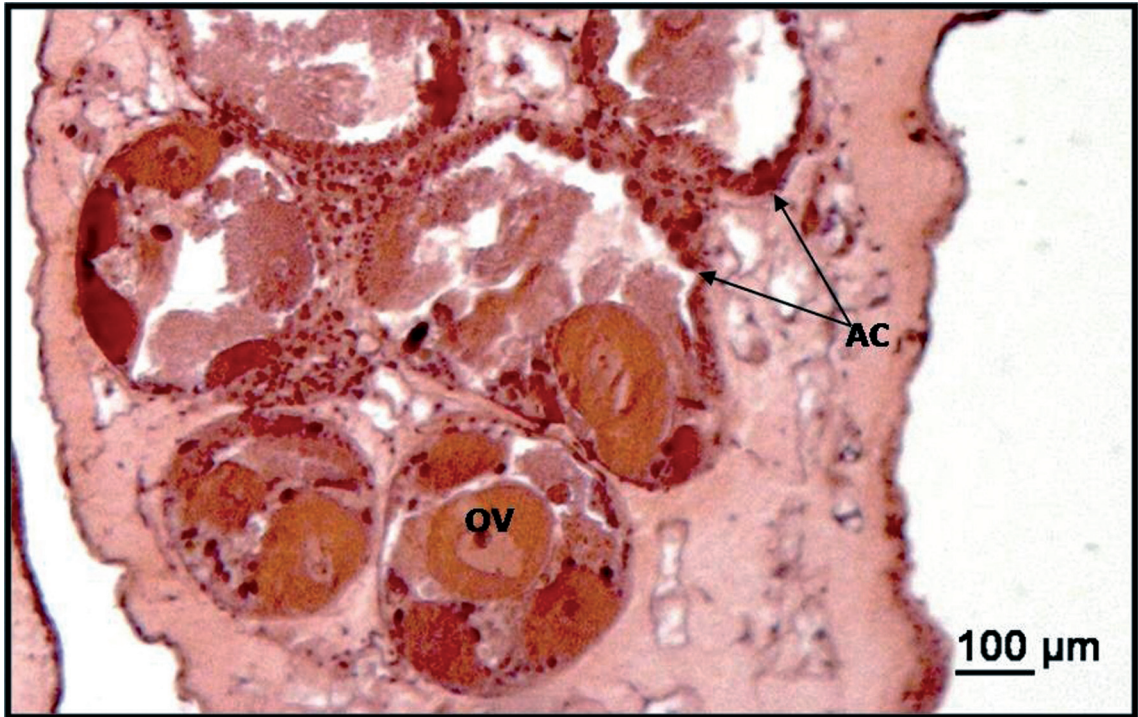


FIGURA 2: Visão parcial da gônada hermafrodita de *Biomphalaria glabrata*. Ácinos (AC) com ovócitos eosinófilos (OV), núcleo com cromatina frouxa e nucléolo evidente. Hematoxilina-eosina.

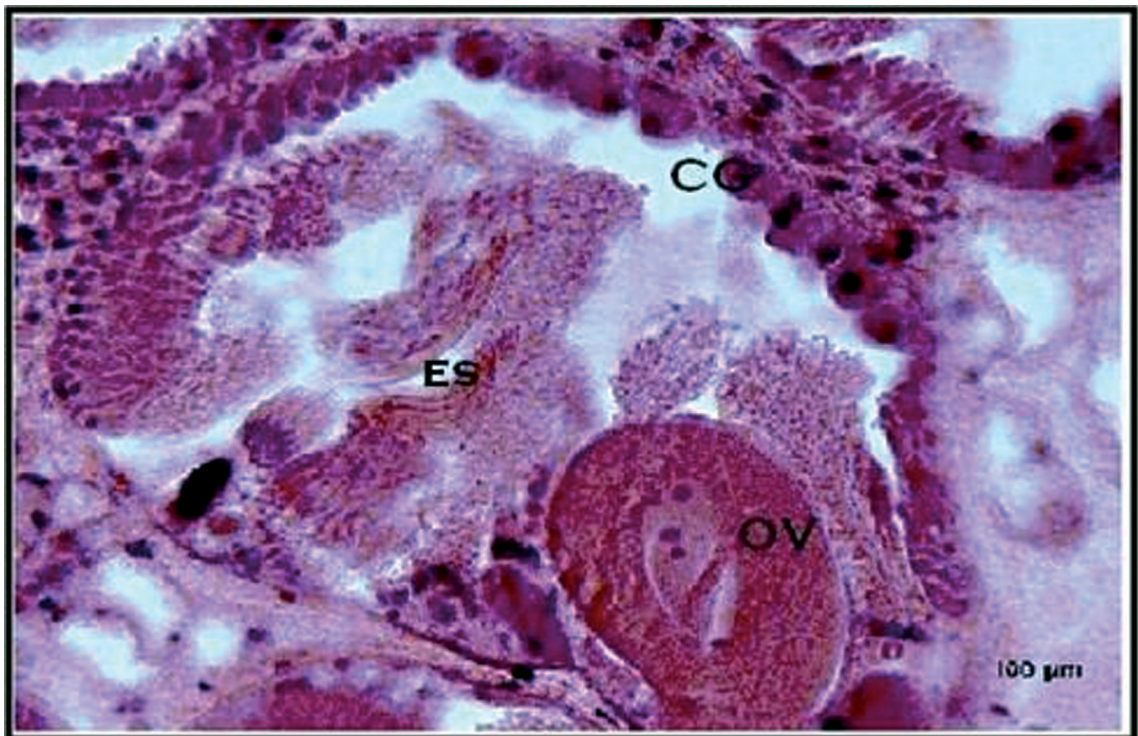


FIGURA 3: Corte longitudinal de um ácino da gônada hermafrodita de *Biomphalaria glabrata*. Agrupamento linear das células germinativas (CG), formação de ovócito (OV) e espermatozoides agrupados no lúmen do folículo (ES). Hematoxilina-eosina.

dos brasileiros. As espécies de *Biomphalaria* vivem em ambientes aquáticos, mas são capazes de resistir por longos períodos de estiagem em seus criadouros (Morgan *et al.*, 2001; Paraense, 2001). *Bradybaena similaris* é um caracol exótico terrestre, que também é encontrado em muitos estados brasileiros (Araújo, 1989; Simone, 2006). Ambos os gastrópodes pulmonados possuem uma gônada hermafrodita em forma de cacho e apresenta numerosos ácinos, onde ocorre a produção de óvulos e espermatozóides simultaneamente (Baker, 1945).

De acordo com Furtado *et al.* (2004), a gônada hermafrodita de *B. similaris* está localizada em meio a uma glândula digestiva, constituído por unidades tubulares e circundadas por células fusiformes, as quais sustentam as células da linhagem germinativa em diferentes estágios de desenvolvimento. Além disso, os autores descrevem os ovócitos como células grandes e localizadas na base da parede do ácino, apresentando

citoplasma granular e núcleo esférico com nucléolo evidente; enquanto que as células masculinas estão sempre localizadas no lúmen do ácino. Furtado *et al.*, (2004) relatam que seus resultados correspondem as gônadas hermafroditas das espécies de *Biomphalaria* (Marcuzzi & Pífano, 1950; Barth & Jansen, 1959; Jong-Brink *et al.*, 1976), *Lymnaea stagnalis* (Joosse & Reitz, 1969) e *Helix aspersa* (Griffond *et al.*, 1991). Para Jong-Brink *et al.* (1977), a morfologia geral dos sucessivos estágios da espermatogênese em *B. glabrata* é bastante similar à de outros gastrópodes. Não obstante, os aspectos morfológicos de alguns segmentos do sistema reprodutor de *Achatina fulica* e *Achatina monochromatica* diferem macroscopicamente, porém, a disposição e a localização destes segmentos são idênticas (Teixeira *et al.*, 2008).

Segundo Baker (1945), a gônada hermafrodita está envolvida pelo fígado (glândula digestiva) e localizado muito próximo da superfície interna da

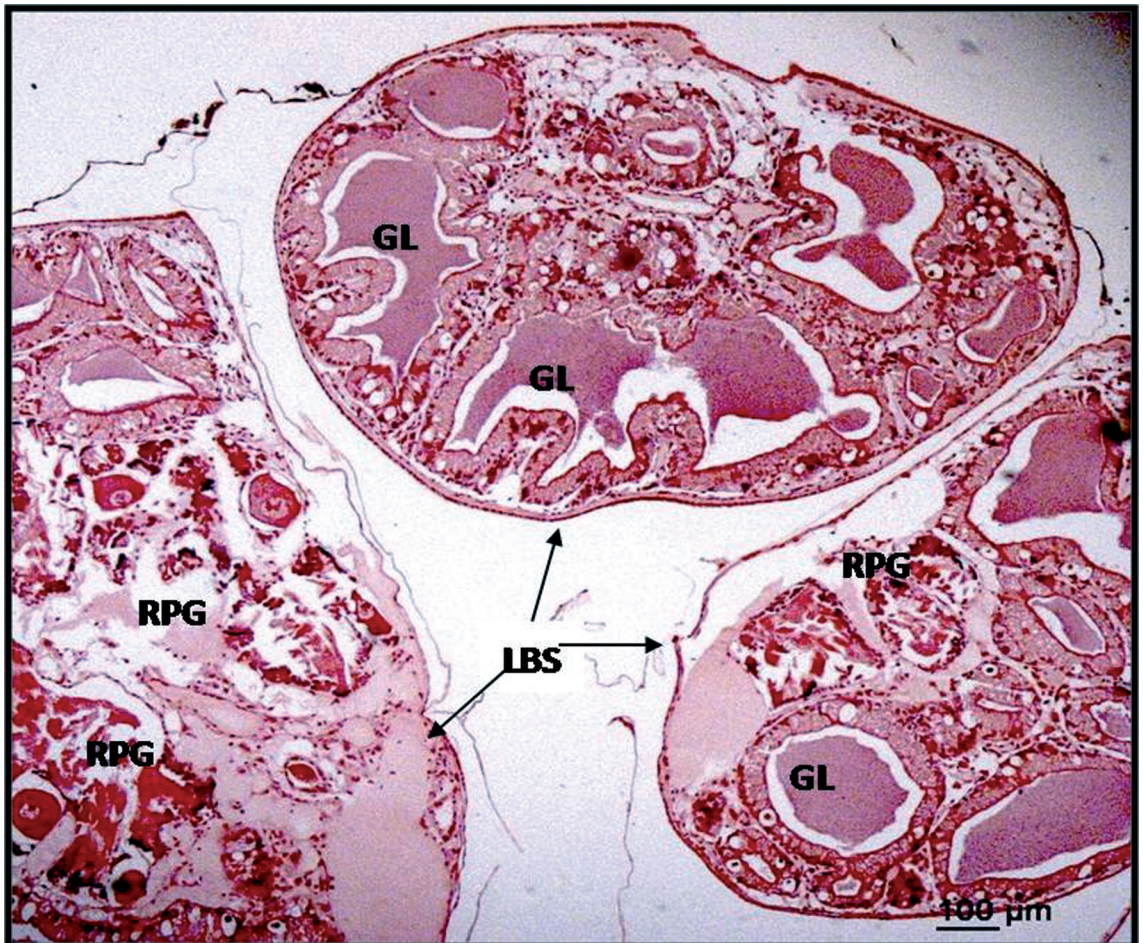


FIGURA 4: Gônada hermafrodita de *Bradybaena similaris*. Gônada dividida em lóbulos (LBS). Glândulas (GL) com grande quantidade de secreção no lúmen glandular e regiões produtoras de gametas (RPG), também denominadas de ácinos. Hematoxilina-eosina.

concha. No presente estudo, a análise microscópica permitiu verificar que as gônadas hermafroditas das espécies estudadas encontram-se muito próximas anatomicamente a glândula digestiva sendo envolta por essa, corroborando com Baker (1945). Além disso, foi possível notar as gônadas hermafroditas de ambas as espécies estudadas mergulhadas em meio a um tecido conjuntivo frouxo, o que de acordo com Marcuzzi & Pífano (1950), a disposição da gônada hermafrodita de *B. glabrata* em meio a um tecido conjuntivo frouxo, constitui uma reserva cujas proporções relativas diminuem ao longo do desenvolvimento. De fato, em *Megalobulimus abbreviatus* (Gastropoda, Pulmonata) foi demonstrado que variações morfológicas significativas relacionadas a massa e ao tamanho da gônada hermafrodita podem ocorrer ao longo do ciclo reprodutivo do animal (Horn *et al.*, 2005).

A descrição histológica da gônada hermafrodita de *B. similaris* observada neste trabalho corrobora, em

parte, com as observações de Furtado *et al.* (2004). Os autores assinalam que seus resultados correspondem com a das gônadas hermafroditas de outros gastrópodes. Não obstante, essa similaridade é apenas em parte, quando se compara as gônadas hermafroditas das espécies estudadas neste trabalho. Desta forma, nossos resultados mostram algumas diferenças morfológicas entre a gônada hermafrodita de *B. glabrata* quando comparada com *B. similaris*. De fato, em *B. glabrata* as células germinativas encontram-se justapostas e de forma lineares na periferia dos ácinos, enquanto que em *B. similaris* as células germinativas estão acumuladas em determinados pontos, mas sem essa disposição linear.

A gônada hermafrodita de *B. similaris* mostrou-se dividida em lobos. Essa divisão em lobos, também foi observada por Baker (1945) em planorbídeos e Horn *et al.* (2005) em *Megalobulimus abbreviatus*. No interior dos lobos da gônada hermafrodita de *B. similaris* verificou-se a presença de glândulas nos



FIGURA 5: Corte longitudinal da gônada hermafrodita (GH) e glândula digestiva (GD) de *Bradybaena similaris*. Notar as glândulas no interior da gônada e o material de secreção no lúmen da glândula. Hematoxilina-eosina.

espaços entre os ácinos, o que não foi observada em *B. glabrata*. Essas glândulas poderiam estar envolvidas na síntese de material nutritivo para a produção de gametas às células germinativas e posterior diferenciação das mesmas. No entanto, os motivos da presença dessas glândulas nos folículos de *B. similaris* merecem maiores investigações. De acordo com Baker (1945), diferenças de forma e tamanho entre as gônadas hermafroditas servem como importante critério de classificação entre esses animais.

Durante a estação reprodutiva, cada ácino se apresenta com muitos óvulos e espermatozoides (Baker, 1945). Nossa análise histomorfológica mostra muitos óvulos e espermatozoides nos ácinos das gônadas hermafroditas das duas espécies. Na gônada hermafrodita de *B. similaris*, observou-se a ocorrência de um ovócito em cada ácino. Por outro lado, na gônada hermafrodita de *B. glabrata* há a presença de mais de um ovócito, sugerindo que exista uma diferença proporcional na produção de óvulos e espermatozoides entre as duas espécies estudadas. Tais

distinções podem estar relacionadas a diferenças no decorrer do desenvolvimento embrionário e maturação sexual entre as gônadas hermafroditas das espécies estudadas.

Finalmente, neste trabalho conclui-se que as gônadas hermafroditas nas duas espécies possuem algumas características morfológicas distintas. Entretanto, *B. glabrata* e *B. similaris* são espécies pertencentes a ordens distintas; a primeira pertence à ordem Basommatophora; a outra pertence à ordem Stylommatophora. Portanto, as diferenças morfológicas entre as gônadas de espécies evolutivamente distantes são esperadas. Além disso, *B. glabrata* é uma espécie de água doce, enquanto que *B. similaris* é uma espécie terrestre, o que também pode explicar as diferenças histomorfológicas nas gônadas dos dois gastrópodes pulmonados estudados. A gônada hermafrodita de *B. similaris*, que pouco havia sido descrita na literatura, possui alguns segmentos iguais, outros semelhantes e outros, ainda, distintos da *B. glabrata*.

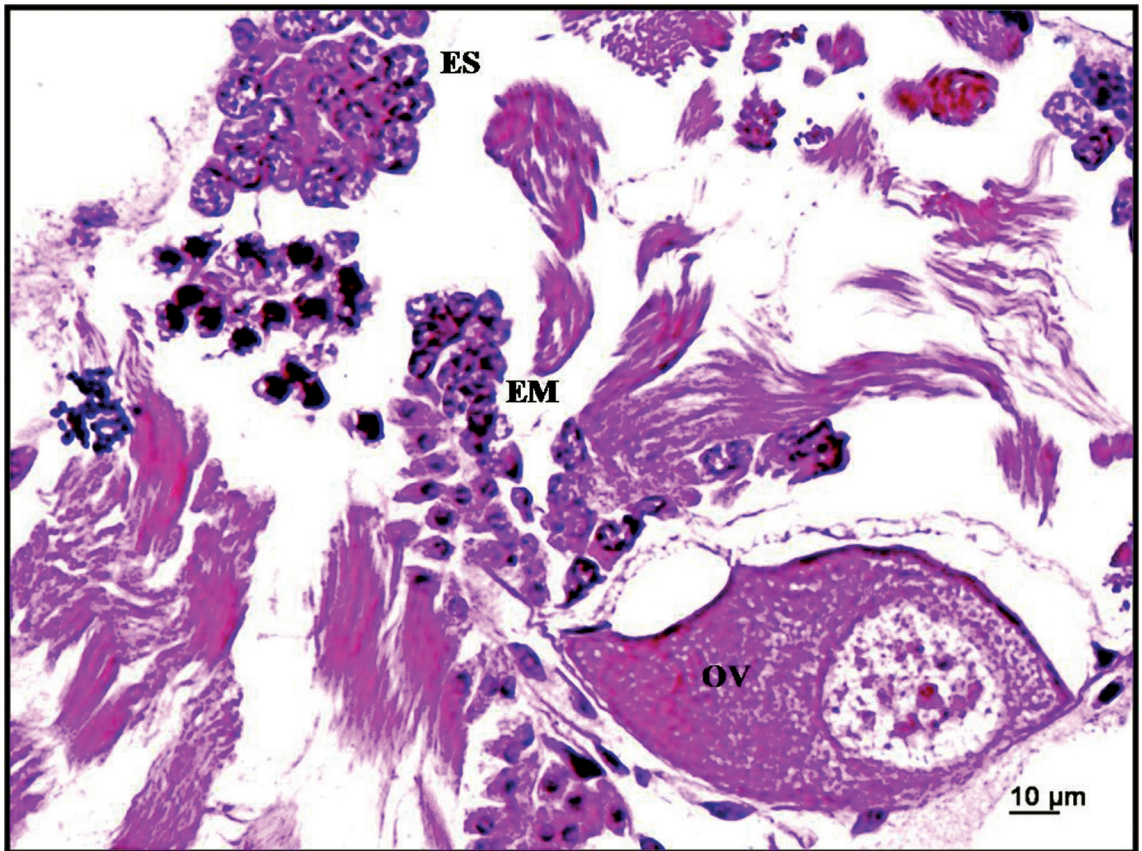


FIGURA 6: Fotomicrografia de um ácino da gônada hermafrodita de *Bradybaena similaris*. Grande ovócito (OV) com citoplasma fortemente acidófilo, núcleo com cromatina frouxa e heterocromatina. Regiões de espermatogênese (ES) e espermiogênese (EM). Hematoxilina-eosina.

RESUMO

Biomphalaria glabrata (Say, 1818) é um gastrópode pulmonado de água doce que desperta grande interesse médico e veterinário. *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) é um gastrópode pulmonado terrestre considerado uma praga agrícola de plantações de hortaliças. Ambas as espécies são hospedeiras intermediárias de helmintos. Esses moluscos possuem uma gônada hermafrodita produtora de óvulos e espermatozoides de forma simultânea. Neste estudo foram avaliados aspectos histomorfológicos das gônadas hermafroditas de *B. glabrata* e *B. similaris*. A gônada de *B. similaris* encontra-se subdividida em lobos com glândulas em seu interior, o que não foi observado em *B. glabrata*. Além disso, em *B. similaris* as células germinativas estão acumuladas em determinados pontos e com a presença de um ovócito em cada folículo da gônada; não obstante, em *B. glabrata* as células germinativas encontraram-se justapostas e com mais de um ovócito em cada folículo.

PALAVRAS-CHAVES: Histologia; Gônada hermafrodita; *Biomphalaria glabrata*; *Bradybaena similaris*.

AGRADECIMENTOS

Ao Ricardo D. Nicacio pelo apoio técnico; ao Dr. Manuel J. Simões e à Dra. Rejane D. Reginato (Departamento de Morfologia, UNIFESP) pelas confecções das lâminas e capturas das imagens; à Dr^a Toshie Kawano (Laboratório de Parasitologia, Instituto Butantan) pela contribuição na manutenção de *B. glabrata*. Este trabalho foi parte do Trabalho de Conclusão de Curso de Rinaldo F. Silva (Graduação em Ciências Biológicas, Faculdades Integradas Torricelli).

REFERÊNCIAS

- AMATO, S.B. & BEZERRA, J.C.B. 1989. Parasitismo natural de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) por *Postharmostomum gallinum* Witeberg, 1923. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84:75-79.
- ARAÚJO, J.L.B. 1989. Moluscos de importância econômica no Brasil. I. Xanthonychidae: *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821). (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). *Revista Brasileira de Zoologia*, 6:583-592.
- BAKER, F.C. 1945. *The Molluscan Family Planorbidae*. University of Illinois Press, Urbana. United States of America.
- BARTH, R. & JANSEN, G. 1959. Contribuições ao estudo da gametogênese dos Planorbídeos. 1ª parte: célula nutridora e sua função. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 31:429-445.
- FURTADO, M.C.V.; BESSA, E.C.A. & CASTANÓN, M.C.M. 2004. Ovotestes de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821). (Mollusca, Xanthonychidae): histologia e produção de gametas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 6:7-17.
- GRIFFOND, B.; DADKHAH-TEHERANI, Z.; MEDINA, A. & BRIDE, M. 1991. Ultrastructure of *Helix aspersa* spermatogenesis: scanning and transmission electron microscopical contributions. *Journal of Molluscan Studies*, 57:227-287.
- HORN, A.C.M.; ACHAVAL, M. & ZANGAN, D.M. 2005. The Annual reproductive cycle of the snail *Megalobulimus abbreviatus* (Bequaert, 1948, Gastropoda, Pulmonata). *Brazilian Journal of Biology*, 65:459-467.
- JONG-BRINK, M.; BOER, H.H.; HOMMES, T.G. & KODDE, A. 1977. Spermatogenesis and the role of Sertoli cells in the freshwater pulmonate snail *Biomphalaria glabrata*. *Cell and Tissue Research*, 181:37-58.
- JONG-BRINK, M.; WIT, A.; KRAAL, G. & BOER, H.H. 1976. A light and electron microscope study on oogenesis in the freshwater pulmonate snail *Biomphalaria glabrata*. *Cell and Tissue Research*, 171:195-219.
- JOOSSE, J. & REITZ, D. 1969. Functional anatomical aspects of the ovotestis of *Lymnaea stagnalis*. *Malacologia*, 9:101-109.
- LEAHY, W.M. COMPORTAMENTO E CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DA REPRODUÇÃO EM *BRADYBAENA SIMILARIS* (MOLLUSCA, PULMONATA). 1984. *Ciência e Cultura*, 36:1389-1392.
- MARCUZZI, G. & PIFANO, F. 1950. Notas sobre la anatomia y la histologia del caracol *Australorbis glabratus* (Mo. Gasteropoda). *Archivos Venezolanos Patologia Tropical y Parasitologia Medica*, 2:1-74.
- MICHALANY, J. 1998. *Técnicas Histológicas em Anatomia Patológica*. Michalany, São Paulo.
- MORAES, J.; SILVA, M.P.N.; OHLWEILER, F.P. & KAWANO, T. 2009. *Schistosoma mansoni* and other larval trematodes in *Biomphalaria tenagophila* (Planorbidae) from Guarulhos, São Paulo State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 51:77-82.
- MORGAN, J.A.; DEJONG, R.J.; SNYDER, S.D.; MKOJI, G.M. & LOKER, E.S. 2001. *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria*: past history and future trends. *Parasitology*, 123:S211-S228.
- PARAENSE, W.L. THE SCHISTOSOME VECTORS IN AMERICAS. 2001. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(suplementar):7-16.
- PICORAL, M. & THOMÉ, J.W. 1989. Sobre a anatomia do sistema genital de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Pulmonata, Stylommatophora, Bradybaenidae) ocorrentes em Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84:435-439.
- RAMBO, P.R.; AGOSTINI, A.A. & GRAEFF-TEIXEIRA, C. 1997. Abdominal angiostrongylosis in Southern Brazil: prevalence and parasitic burden in mollusc intermediate hosts from eighteen endemic foci. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92:9-14.
- SIMONE, L.R.L. 2006. *Land and freshwater molluscs of Brazil*. EGB, FAPESP, São Paulo.
- TEIXEIRA, D.G.; GUERRA, J.L.; SILVA, Z.; AZARIAS, R.E.G.R. & MARTINS, M.F. 2008. Aspectos macroscópicos da anatomia do sistema reprodutor de escargots: *Achatina fulica* e *Achatina monochromatica*. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 45:333-338.

Recebido em: 21.12.2008

Aceito em: 13.10.2009

Impresso em: 18.12.2009

Apoio:



Ministério da Educação

Ministério da Ciência e Tecnologia

