

ANATOMIA E HISTOLOGIA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO DE
POMACEA CANALICULATA (LAMARCK, 1822) (MOLLUSCA, GASTROPODA,
PILIDAE)

Eliana de Fátima Marques de Mesquita¹

Arnaldo Campos dos Santos Coelho²

Jefferson Andrade dos Santos³

ABSTRACT

In this paper the authors give an anatomical and histological analysis of the male reproductive system of Pomacea canaliculata (Lamarck, 1822). Anatomically, the testis is better evidentiated than the ovary. In the structure of the testis a great number of very small channels converges to a single one. The male copulatory organs result of transformations that take place in the inner surface on the palial membrane. Histologically, the testis of immature males shows seminiferous ducts with round egg-shaped forms. In their lumens we could notice masses of cells that will originate spermatozoids. The penis has a conjunctive muscular sheath that can be seen in van Gieson's coloured preparations.

INTRODUÇÃO

Este trabalho, além de outros dados, expõe com detalhes a anatomia e a histologia do aparelho reprodutor masculino de *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822). O órgão copulador masculino proporciona os melhores dados anatômicos de valor sistemático, em razão dos caracteres peculiares da bainha do pênis. Esses dados, no entanto, podem corresponder a variação de forma, proporção e volume, de difícil apreciação.

A família Pilidae possui grande representação genérica e específica, sistemática extremamente controvertida e complexa e interesse econômico. Incluída taxonomicamente nas mais diversas posições, tem sido por isto objeto de debate entre os seus estudiosos.

O estudo das espécies de *Pomacea* requer a continuação das investigações, pois, é possível que várias delas, identificadas com base conchiliológica, possam ser reunidas como espécies polimórficas.

MATERIAL E MÉTODOS

O material e métodos de captura e manutenção encontram-se já referidos em trabalho anterior.

A anatomia e a histologia dos exemplares capturados foram realizadas, utilizando-se os equipamentos e as técnicas seguintes:

1. Departamento de Zootecnia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense. Parte da Dissertação de Mestrado em Zoologia de E.F.M. Mesquita, aprovado pelo CPG Zoologia do Museu Nacional, UFRJ em 13.VII.1982.
2. Malacologia, Departamento de Invertebrados, Museu Nacional, Rio de Janeiro.
3. Laboratório de Anatomia Patológica, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense.

Para a dissecação, sempre que possível, foram escolhidos os exemplares que apresentavam um tamanho médio que os admitisse como adultos.

Retirados da concha por quebra da mesma ou pelo método do "bico-de-gavião" (Lopes, 1956: 535-536) quando desejávamos a não destruição da concha, o animal vivo era então disposto em placa de Petri com fundo de parafina, e umedecido com solução fisiológica (NaCl a 0,9% em solução aquosa). A dissecação era iniciada com um corte na região látero-dorsal, na dobra do manto; prosseguíamos com uma incisão circular contornando o saco pulmonar e o rebatíamos para a direita do animal, deixando ver imediatamente o aparelho reprodutor masculino, bastante conspícuo.

As disseções dos espécimes foram realizadas sob lupa estereoscópica WILD M4, utilizando-se pinça de ponta bem fina, tesoura tipo oftalmológica e alfinetes entomológicos.

As partes moles dissecadas foram desenhadas sob lupa estereoscópica WILD M5 com câmara clara acoplada.

Os exemplares destinados à anatomia eram fixados em álcool 70^oGL glicerinado, separados os aparelhos reprodutores que por vezes eram corados com carmim clorídrico Semichon para melhor visualização dos detalhes anatômicos. Aqueles destinados à histologia eram fixados em formol-salina a 5%, sendo neste caso usadas exclusivamente as peças genitais, preservando-se as demais partes em álcool 70^o GL glicerinado.

Os cortes histológicos, obtidos em micrótomo, com espessura de 5 μ m, foram corados pela hematoxilina-eosina, de acordo com a técnica de rotina.

Usamos a fixação de fragmentos em formol-salina a 5% para ulterior coloração especial pelos métodos: Feulgen, van Gieson e PAS de acordo com Lillie (1954).

A técnica do PAS evidencia a presença de glicoproteínas, mucoproteínas e diferentes tipos de mucopolissacarídeos (Andrews, 1964: 122).

A técnica de van Gieson foi utilizada para confirmação da presença de fibras musculares lisas e conjuntivas.

Utilizou-se também a técnica de Feulgen para evidenciação de DNA nos tecidos da glândula digestiva ou hepatopâncreas.

As fotomicrografias foram realizadas com equipamento Nikon M-35S acoplada ao M.O. WILD 20.

RESULTADOS

Anatomia

– *Testículo e Vias Espermáticas* – O testículo ou GÔNADA MASCULINA tem localização correspondente ao ovário na fêmea (Fig. 1). Coloração branco-amarelada, recoberto por pigmento castanho escuro em toda a superfície de contato com a concha (Küppers, N80-M20-A20 e N10-M10-A40). É visível macroscopicamente e se evidencia muito melhor do que o ovário, sobre a massa hepática esverdeada. Seu limite de separação com a glândula digestiva está situado da terceira volta em diante, terminando a gônada perto do afloramento do estômago.

Na massa testicular tem origem um grande número de canalículos que recolhem os elementos sexuais para as vias espermáticas. Estes convergem para outros até atingir uma única via.

As vias espermáticas são difíceis de dissecar, porque são túbulos de calibre muito reduzido. Além disso, possuem uma consistência tão delicada que se rompem com facilidade.

Na figura 2 vê-se o testículo de um macho jovem criado em cativeiro. Partes moles totalmente despigmentadas, estando a região gonadal bem delimitada da hepática. Ausência da película de pigmento castanho escuro envolvendo a gônada.

Órgãos de Copulação — Os anexos sexuais do macho constituem um conjunto bastante proeminente de apêndices suspensos na face interna do manto. O aparelho copulador é uma estrutura muito complexa. Os representantes da família Pilidae diferem de outros prosobrânquios cujo apêndice sexual é uma formação de origem cefálica. Os órgãos copuladores dos pilídeos resultam de transformação de pregas da membrana palial interna.

- **Pênis** — Origina-se na norda do manto e aloja-se num saco basal, denominado saco ou bolsa do pênis e/ou saco ou bolsa peniana. Quando ereto prende-se ao redor de sua porção basal por uma bainha grande e muscular. Quando em repouso, o pênis apresenta-se enovelado no interior do saco peniano; a prega interna da bolsa é formada por um prolongamento da base do pênis. O pênis é uma estrutura bastante glandular e com um sulco ou canal central; vermiforme, terminando de forma aguda (Fig. 4). A base do pênis ocupa a parte central do saco, enquanto o restante do órgão acomoda-se em alças ajustadas ao redor da base. O saco do pênis (Fig. 3) tem a parede delgada e transparente, mas muito resistente e bastante elástica. Possui uma coloração amarelo-clara. Situa-se na base da bainha, imediatamente atrás da papila anal.

- **Bainha do pênis** — É curta, bastante volumosa, e de natureza conjuntivo-muscular. É o anexo mais volumoso e conspícuo do aparelho copulador masculino. Está suspensa na face interna do manto atrás da borda palial entre o ânus e a extremidade anterior da brânquia. Em posição de repouso aparece orientada para a parte posterior, mantendo-se todo o órgão oculto na cavidade do manto, do lado direito, e nesta posição observa-se um orifício que é o poro glandular. Na face interna aparece uma prega, por onde passa o pênis quando estendido, que fica situada longitudinalmente, no centro da bainha e termina pouco antes do ápice, onde há uma larga região arredondada e toda preegada. Esta rugosidade é dada pela presença de glândulas em sua superfície. A glândula mucosa da bainha possui coloração geralmente de amarelada até alaranjada, muito volumosa e localizada no terço médio (Fig. 3). Há casos em que a bainha está mais espessada, e na extremidade distal, observa-se uma tumefação arredondada e alaranjada, provavelmente de estrutura glandular (Fig. 4). Observa-se uma borda muscular, junto ao ápice da bainha, próximo à região preegada, fazendo bastante relevo (Fig. 3). Na face interna possui um canal ou sulco ao longo de sua parte proximal para sustentar a parte proximal do pênis durante a cópula. Este sulco está aberto para a cavidade palial, e suas bordas assemelham-se a lábios.

A glândula mucosa da bainha supõe-se ser uma glândula encarregada de lubrificar o sulco da bainha, sendo denominada, portanto, de glândula própria da bainha.

Outra glândula aparece na bainha do pênis, formando um relevo no lado esquerdo, com coloração rosada. Segundo Scott (1957), Sachwatkin (1920) a considerou homóloga à glândula hipobranquial (Fig. 4). Parece não ter relação funcional com o aparelho copulador masculino. O poro glandular encontrado na face externa da bainha, centralmente, junto aoanel do manto, seria o poro excretor da referida glândula. A glândula não é superficial, pois, ocupa toda a área da base da bainha, evidenciada em cortes histológicos.

Durante a cópula, a bainha do pênis volta-se para fora, e insere-se na cavidade do manto da fêmea, enquanto a parte livre do pênis penetra no oviduto.

Essas estruturas apresentam turgidez dada em parte pela pressão sanguínea, e em parte pela constituição muscular (Andrews, 1964: 126).

Histologia

- *Testículo* – Em macho impúbere, o testículo é constituído de túbulos seminíferos com formas que variam entre arredondada e ovóide, os quais se mostram revestidos de membrana basal extremamente delicada, percebendo-se na luz dos mesmos, massas de células precursoras de espermatozóides, as quais quando observadas com aumentos pequenos evidenciam formas variadas porém predominantemente arredondadas, em citoplasma pobre e um núcleo fortemente cromático; corresponderiam em mamíferos à espermatogônia, espermatíde e espermátócito. As porções centrais dos túbulos são ocupadas por aglomerados de espermatozóides de aspecto nitidamente filamentosos e claramente basófilo. Esse elemento se dispõe às vezes de maneira irregular, mas em alguns o posicionamento é regular formando como feixes de aspecto sinuosos.

Não se percebem células comparáveis às células de Leydig presentes nos mamíferos. No entanto, um elemento que por outro lado está presente são as células de Sertoli. Em alguns túbulos seminíferos percebe-se o revestimento sertoliano. As células sertolianas presentes são relativamente volumosas e possuem um citoplasma nitidamente vacuolar e um núcleo de pequeno talhe e fortemente cromático. O epitélio sertoliano às vezes se dispõe em uma camada contínua e linear.

No entanto, há que ressaltar a escassez dessas células, em caso de comparação com os mamíferos.

- *Vias Espermáticas* – O canal deferente apresenta-se como uma estrutura tubular provida de luz relativamente ampla, com revestimento eriçado com pequenas projeções papilíferas; seu epitélio de revestimento é do tipo cilíndrico provido de cílios verdadeiros, ocorrendo uma camada muscular lisa com disposição transversal de suas fibras. Mais externamente há uma lâmina de tecido conjuntivo frouxo, revestindo a camada muscular circular (Fig. 5). A estrutura do conduto deferente lembra a do epidídimo dos mamíferos.

Ocorrem no epitélio cilíndrico células mucíparas, o que ficou evidenciado através de reações PAS positivas (Fig. 6).

– Órgão Copulador Masculino

- *Bainha do pênis* é revestida de epitélio cilíndrico que mostra depressões simulando criptas. Em determinadas áreas, pequenos aglomerados glandulares simples estão presentes, com glândulas pouco desenvolvidas, enquanto que em uma localização subepitelial, observa-se uma estrutura glandular algo mais complexa de glândulas formadas de ácinos relativamente volumosos e de luz ampla. Percebe-se quase que uma superposição dos elementos acinais. Nos ácinos glandulares, confirma-se pelo van Gieson, a presença de mais material conjuntivo do que muscular (Fig. 7). O epitélio de revestimento mostra atividade secretora de material PAS positivo, principalmente nos ápices das células. A bainha é portanto, conjuntivo-muscular, e seu epitélio de revestimento é do tipo cilíndrico.
- *Pênis* (Fig. 8) – O pênis têm formato cilíndrico, e se mostra centralizado pelo duto peniano que está revestido de epitélio cúbico simples, envolvido por uma

musculatura no seio da qual se nota a presença de um sinus sangüíneo, o qual possui uma situação axial em relação ao pênis, envolvendo o duto peniano, também cercado por uma camada muscular. O pênis é revestido de epitélio simples ligeiramente achatado ou cúbico em alguns pontos e alto ou cilíndrico em outros, sem sinais de comeificação. Nas áreas em que o epitélio é alto, este se mostra eriçado pela presença de depressões.

DISCUSSÃO

O material utilizado por nós na dissecação in vivo, e mesmo conservado em álcool 70^oGL glicerinado, permitiu observar que de modo geral a organização anatômica concorda com as descrições de Scott (1957: 295-299) para a espécie *Pomacea insularum* (Orbigny, 1835) e Andrews (1964: 121) e Scott (1957: 299-303) para a espécie *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822).

A organização interna dos pilídeos demonstrou ser de grande uniformidade, visto não observarmos diferenças anatômicas entre os exemplares, exceto quanto ao órgão de copulação masculino que segundo Scott (1957) possui valor sistemático, pelas características da bainha. Parece que tais caracteres são de valor genérico e não específico. Na bainha há uma certa diferença do posicionamento das glândulas, rugosidades (pregas) e volume do órgão. No entanto, são diferenças de difícil apreciação, não sendo usadas na identificação, pois, se trata de variações de forma e proporções de difícil medição.

No testículo, não constatamos presença de células de Leydig que aparecem nos mamíferos, nem mesmo se percebendo células comparáveis a elas em *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822). Percebemos células de Sertoli que igualmente estão presentes nos mamíferos. Há que ressaltar, no entanto, a escassez das células sertolianas em comparação com estes últimos.

A estrutura do conduto deferente lembra bastante a do epidídimo de mamíferos.

No órgão copulador masculino, verificamos a presença de glândulas na bainha do pênis formadas de ácinos volumosos e de luz ampla, percebendo-se a superposição destes. Não verificamos a presença de fibras musculares longitudinais assinaladas por Andrews (1964: 125). Portanto, atestamos a discordância, já que não observamos a presença de fibras musculares ligando os ácinos entre si, o que foi confirmado pelo van Gieson. Verificamos que a bainha do pênis é de natureza conjuntivo-muscular, discordando em parte de Andrews (1964: 125), que a considerou apenas como fortemente muscular. O duto peniano apresenta-se com epitélio cúbico simples, no entanto, Andrews (1964: 125) considerou-o como cúbico e vacuolado. Andrews afirma, ainda, que o pênis é revestido por um epitélio cuticularizado ou cuticular. Entretanto, não verificamos a presença de material córneo, mesmo no van Gieson, discordando assim de Andrews (op. cit.). O epitélio córneo é característico de certos epitélios pavimentosos estratificados presentes em mamíferos e aves. À semelhança de pênis de gatos o qual possui epitélio córneo, o mesmo parece se dar em relação ao revestimento do pênis de *Pomacea canaliculata*, espécie também estudada por Andrews.

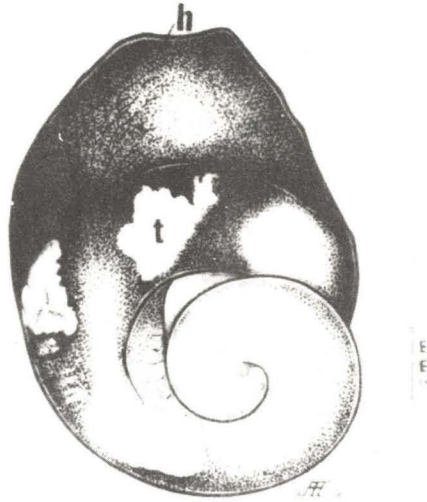


Fig. 1 – *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822): Col. Mol. MN. lote n^o 4218. Testículo (t) de macho maduro. Hepatopâncreas (h).

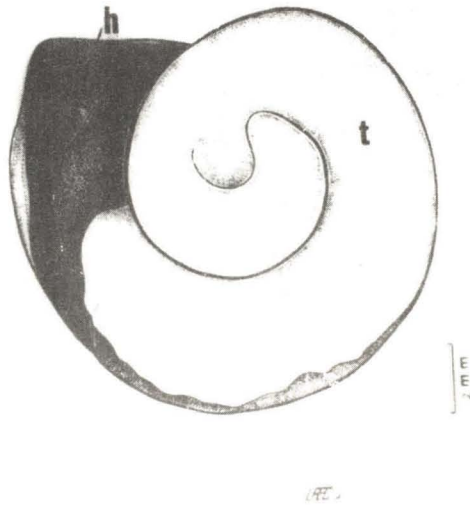


Fig. 2 – *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822): Col. Mol. M.N. lote n^o 4219. Testículo (t) de macho jovem, criado em cativeiro. Hepatopâncreas (h).

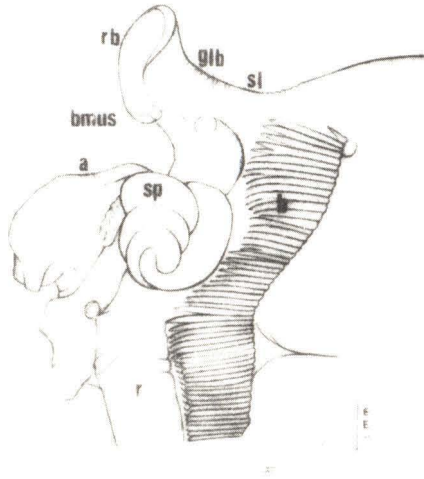


Fig 3 – *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822): Col. Mol. M.N. lote n.º 4216. Aparelho reprodutor masculino: órgãos de copulação. Bainha do pênis estendida, colocando em evidência a face interna que fica em contato com o teto palial. Glândula própria da bainha (gib); sulco longitudinal (sl); saco do pênis (sp); borda masculina (bms); rugosidades da bainha (rb); ânus (a); reto (r); brânquia (b).

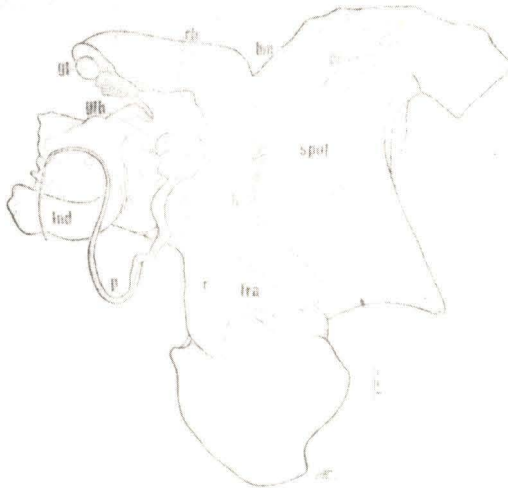


Fig. 4 – *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822): Col. Mol. M.N. lote n.º 4218. Aparelho reprodutor masculino: órgãos de copulação. Estrutura glandular na extremidade distal da bainha do pênis (gl); glândula hipobranquial (glh); pênis (p); brânquia (b); saco pulmonar (spul); borda do manto (bm); lóbulo nuchal direito (Ind); lóbulo renal anterior (Ira); osfrádio (os); reto (r).

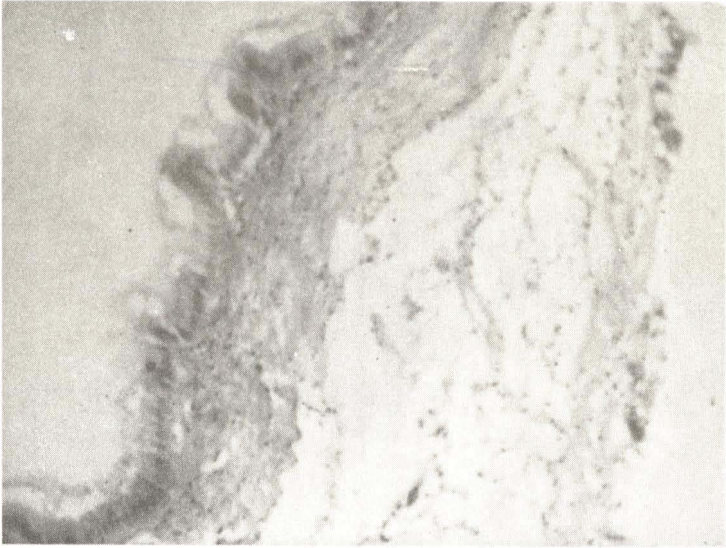


Fig. 5 – Vias espermáticas Aspecto do canal deferente apresentando as 3 camadas: epitelial, muscular e conjuntiva. HE, aumento 10 x 15 (Col. Mol. M.N lote n.º 4216).



Fig. 6 – Vias espermáticas. Coloração pelo PAS, evidenciando a presença de células mucíparas no epitélio. Aumento 10 x 15 (col. Mol. M.N. lote n.º 4216).

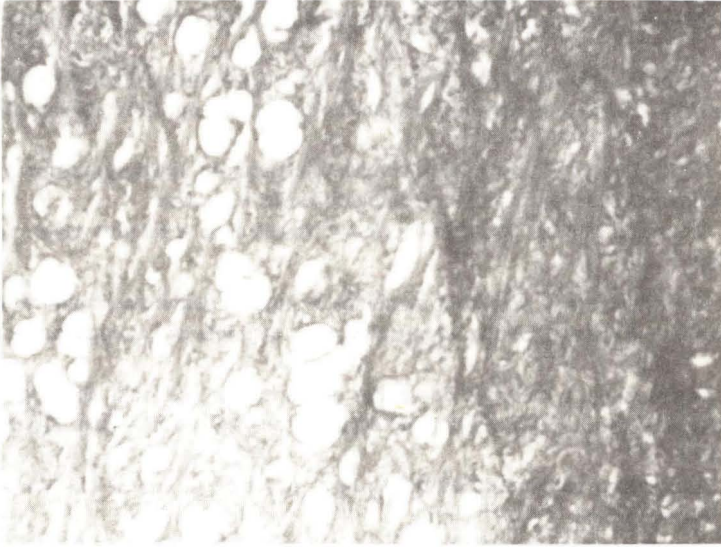


Fig. 7 – Órgão copulador masculino. Bainha do pênis. Coloração pelo van Gieson, confirmando a predominância de material conjuntivo sobre o muscular. Aumento 10 x 15 (col. Mol. M.N. lote n.º 4217).

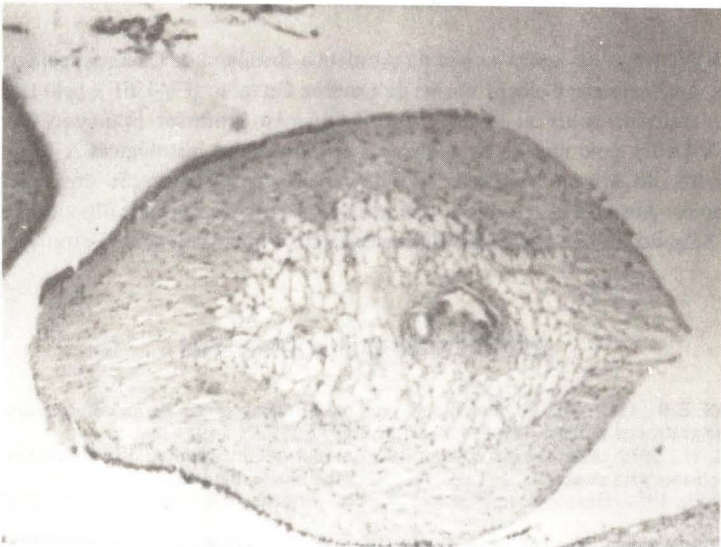


Fig. 8 – Órgão copulador masculino. Pênis. Duto peniano envolvido por uma musculatura em cujo seio evidencia-se a presença de um seio sangüíneo. HE, aumento 10 x 15 (col. Mol. M.N. lote n.º 4217).

CONCLUSÕES

1. As variações encontradas na forma das conchas não estão ligadas ao dimorfismo sexual.
2. A organização das partes moles de *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) está perfeitamente dentro dos padrões conhecidos para os exemplares machos da família Piliidae.
3. É difícil fazer-se uma apreciação das diferenças no órgão copulador masculino de *P. canaliculata*, de modo a usá-lo para identificação específica.
4. O testículo ocupa posição normal confirmada com os estudos anatômicos e histológicos.
5. No testículo não aparecem as células de Leydig, comuns em mamíferos, não se percebendo nem mesmo células comparáveis nos exemplares examinados de *P. canaliculata*.
6. Constatamos a presença de células de Sertoli no testículo de *P. canaliculata*, igualmente presentes em mamíferos. No entanto, estas são mais escassas nos exemplares examinados.
7. A estrutura do conduto deferente de *P. canaliculata* lembra bastante a do epidídimo de mamíferos.
8. Nas glândulas da bainha do pênis de *P. canaliculata* não se percebe a presença de fibras musculares longitudinais, ligando-as entre si.
9. A bainha do pênis de *P. canaliculata* é de natureza conjuntivo-muscular.
10. O pênis de *P. canaliculata* não possui uma lâmina de material córneo, revestindo o epitélio peniano.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Hugo de Souza Lopes da Academia Brasileira de Ciências, pela orientação prestada. Ao Professor Eulógio Carlos de Queiroz Carvalho (FV-UFF), pelo trabalho fotográfico realizado sobre as lâminas histológicas. Ao Professor Francisco Carvalho de Lima (FV-UFF), pelo auxílio na realização das atividades histológicas. A Luís Antônio Alves Costa, do Museu Nacional, Rio de Janeiro, pela elaboração dos desenhos das partes moles. Aos colegas e amigos que nos auxiliaram nas capturas dos animais: Norma Campos Salgado, Hécio Magalhães Barros e Marcus Vinicius Menezes Ferreira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREWS, E.B., 1964. The functional anatomy and histology of the reproductive system of some piliid gastropod molluscs. *Proc. Malac. Soc. Lond.*, 36: 121-140, 4 figs.
- KÜPPERS, H., 1979. *Atlas de los colores, Más de 5500 matices con su caracterización y las instrucciones para su mezcla.* 161 pp., figs. Editorial Blume, Barcelona.
- LILLIE, R.D., 1954. *Histologic technic and practical histochemistry methods.* 2nd. ed. New York, Blakiston.
- LOPES, H.S., 1956. Sobre *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) (Mesogastropoda, Architaenioglossa, Mollusca). *Rev. Brasil. Biol.*, 16 (4): 535-542, 46 figs.
- SCOTT, M.I.H., 1957. Estudio morfológico y taxonómico de los Ampullaridos de la República Argentina. *Rev. Mus. Argentino Cien. Nat. "Bernardino Rivadavia"*. *Cien. Zool.*, 3 (5): 231-333, pls. 1-23.