



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Estudo Histológico e Ultraestrutural do Tentáculo e da  
Região Anterior do Pé de *Biomphalaria occidentalis*  
Paraense, 1981 (Mollusca Basommatophora Pulmonata)

SILVANA MARIS CIRIO

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal do Paraná para obtenção do título  
de Mestre em Ciências Veterinárias.

CURITIBA  
1990

APROVADA EM \_\_/\_\_/\_\_

---

PEDRO RIBAS WERNER, PhD

Professor Titular

Orientador

---

ENNIO LUZ

Professor Titular

---

WALDEMIRO GREMSKI, PhD

Professor Titular

*Aos meus pais Raquel e Quinto*

*Ao meu esposo Luiz Carlos*

*À minha filha Selene*

## AGRADECIMENTOS

Desejo expressar meus sinceros agradecimentos

Ao Prof. Dr. Pedro Ribas Werner, pela orientação científica, compreensão e amizade, que tanto contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ennio Luz, pelo interesse e estímulo constantes.

Ao Prof. Dr. Orisel Curial, responsável pelos primeiros passos dentro da Patologia Animal.

Ao Prof. João Maria Ferraz Diniz, pela amizade, apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Waldemiro Gremski, pela fundamental colaboração no estudo e interpretação das fotomicrografias eletrônicas.

Ao Prof. Dr. Metry Bacila, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela oportunidade oferecida.

À Professora Dirnei Baroni, pelo auxílio na interpretação do material histológico.

Ao Prof. Manoel C. T. Quintilhan, pelo auxílio indispensável para a realização do estudo em Microscopia Eletrônica.

Ao Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná, pela franquia ao Laboratório de Anatomia Patológica.

A Irene Kozak e Charlotta Wahrhaftig, pela colaboração

no preparo do material histológico.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, nas pessoas de Robin Hofmeister, Daura R. E. Stofella, Célia R. Franco, Vania V. de Souza, Vera L. Santos, Vera R. Piontek e Lori Fontana.

Ao Laboratório de Biologia Celular da Universidade Federal do Paraná.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

A Rosana K. Richter, amiga de todas as horas.

A Tania M. Schrank, pela amizade durante o curso.

Ao CNPQ, pela bolsa de estudos e pelo auxílio concedido.

À SUCAM, responsável pelo envio do material biológico.

## SUMÁRIO

	<u>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</u> .....	vii
	<u>RESUMO</u> .....	x
1	<u>INTRODUÇÃO</u> .....	1
2	<u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u> .....	2
3	<u>MATERIAL E MÉTODOS</u> .....	6
4	<u>RESULTADOS</u> .....	8
	4.1 TENTÁCULO .....	9
	4.1.1 Células epiteliais não ciliadas .....	9
	4.1.2 Células glandulares globosas .....	11
	4.1.3 Células epiteliais ciliadas .....	11
	4.1.4 Fibroblastos .....	12
	4.1.5 Artéria central .....	12
	4.1.6 Células com pigmento .....	13
	4.1.7 Fibras musculares lisas .....	13
	4.1.8 Células nervosas sensoriais .....	14
	4.1.9 Células secretórias sub-epidermais .....	14
	4.2 PÉ .....	14
5	<u>DISCUSSÃO</u> .....	16
6	<u>CONCLUSÕES</u> .....	24
	SUMMARY .....	25
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	26
	ILUSTRAÇÕES .....	29

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### FIGURA

1 e 2	<u>B. occidentalis</u> . Aspectos macroscópicos da concha .....	30
3	Tentáculo. Corte longitudinal .....	31
4	Tentáculo. Células não ciliadas (c); conteúdo glandular (seta); célula secretória sub-epidermal (s); fibroblasto (f); célula nervosa sensorial (cs) .....	31
5	Tentáculo. Células não ciliadas (c); célula glandular globosa (g); célula com pigmento (p); célula secretória sub-epidermal (s) .....	32
6	Tentáculo. Corte longitudinal. Artéria central (a); célula com pigmento (p); fibra muscular longitudinal (fl) e circular (fc); espaço hemolinfático (e) .....	32
7	Tentáculo. Artéria central (a); fibroblasto (f); fibra muscular longitudinal (fl); célula com pigmento (p) .....	33
8	Tentáculo. Espaço hemolinfático (e); célula secretória sub-epidermal (s) .....	33
9	Tentáculo. Vista panorâmica das células epiteliais com a superfície recoberta por microvilos. Observar a presença de vacúolos intracelulares .	34

FIGURA

10	Tentáculo. Núcleo (N); microfilamentos (▶); interdigitações (i); Golgi (G); mitocôndrias (m); membrana basal (seta); fibra muscular lisa (fm); corpos densos (d) .....	35
11	Tentáculo. Mitocôndrias (m); vesículas lisossomais (l); interdigitações (i); núcleo (N); nucleólo (nu); microfilamentos (▶); vesícula micropinocítica (seta); corpos densos ( ).....	36
12	Tentáculo. Microvilos (mv); microfilamentos (▶); junção de adesão (j); junção septada (★) .....	36
13	Tentáculo. Cílio. Corpo ciliar (c); corpo basal (b); raiz ciliar (r); microvilo (mv) .....	38
14	Tentáculo. Interdigitações (i) .....	39
15	Tentáculo. Microvilo (mv); microfilamento (▶); cílio (◀); vesícula micropinocítica (v); junção de adesão (j); junção septada (★); microtúbulo (mt) .....	40
16	Tentáculo. Célula com pigmento. Grânulos intracitoplasmáticos (gr) .....	41
17	Região anterior do pé. Células ciliadas (cc); célula secretória sub-epidermal (s); cílios (seta)	42
18	Região anterior do pé. Células ciliadas (cc); células com pigmento (p); fibra muscular lisa (fm) .....	42
19	Região anterior do pé. Célula glandular globosa (g); fibra muscular lisa (fm); espaços hemolinfáticos (e); células com pigmento (p) .....	43

FIGURA

20	Região anterior do pé. Células nervosas sensoriais (cs); célula secretória sub-epidermal (s)	43
21	Região anterior do pé. Vista panorâmica das células epiteliais e conjuntivo subjacente ✱ ...	44
22	Região anterior do pé. Núcleo (N); Golgi (G); mitocôndria (m); junção de adesão (j); interdigitações (i); vesículas lisossomais (l); corpo basal do cílio (b); projeções celulares (seta) .	45
23	Região anterior do pé. Célula ciliada. Corpo ciliar (c); corpo basal (b); raiz ciliar (r); pé basal (seta).....	
	Detalhe: corte transversal do cílio .....	46
24	Região anterior do pé. Junção septada .....	47
25	Região anterior do pé. Projeções celulares. Membrana basal (mb) .....	48

## RESUMO

Estudou-se a histologia e a ultraestrutura do tentáculo e da região anterior do pé de B. occidentalis, espécie de planorbídeo não suscetível ao S. mansoni. Os dois órgãos possuem os mesmos elementos celulares variando apenas a predominância de um e outro. A epiderme é composta por uma camada única de células prismáticas ciliadas, não ciliadas e glandulares globosas. As células não ciliadas compõem quase a totalidade da epiderme do tentáculo; sua superfície externa é recoberta por microvilos e numerosas mitocôndrias e vesículas de aspecto lisossomal concentram-se na porção apical da célula. As células ciliadas, características do pé, diferenciam-se das demais pela presença de cílios, cujas raízes longas e estriadas mantêm-se em contato através de pés basais. O tentáculo possui uma artéria central envolta por tecido conjuntivo denso e fibras musculares lisas circulares e longitudinais. Na porção sub-epidermal do tentáculo é característica a presença de tecido conjuntivo frouxo, formado pelas projeções citoplasmáticas de fibroblastos. O número de células secretórias sub-epidermais e de células sensoriais nervosas é reduzido. No pé, encontra-se tecido conjuntivo denso, com grande número de células com pigmento que parecem estar repletas de grânulos de melanina. Há uma grande concentração de células secretórias sub-epidermais, freqüentemente dispostas em grupos, com reações distintas ao P.A.S. As fibras musculares lisas são de espessura variada e não possuem orientação determinada.

## I - INTRODUÇÃO

O estudo dos planorbídeos, em particular do gênero Biomphalaria, transmissor da esquistossomose, uma das parasitoses humanas mais importantes das regiões tropicais e sub-tropicais, sempre despertou grande interesse pelo fato desses moluscos participarem como hospedeiros intermediários do ciclo vital dos trematodas.

Tais estudos, além de terem ampliado o conhecimento sobre a biologia, a ecologia e a morfologia desses caramujos, têm demonstrado haver uma variação na suscetibilidade do caramujo para o trematoda, tanto entre espécies quanto entre diferentes populações da mesma espécie.

O miracídio penetra no caramujo através da epiderme e existe uma maior preferência pelo tentáculo e pela região anterior do pé do hospedeiro.

O objetivo do presente trabalho é fazer um estudo da histologia e da ultraestrutura do tentáculo e do pé de caramujos não parasitados, utilizando-se Biomphalaria occidentalis como modelo experimental de uma espécie não suscetível ao Schistosoma mansoni. O conhecimento da estrutura e da morfologia desses órgãos poderá servir de base para pesquisas futuras quanto à suscetibilidade desses moluscos à penetração e ao desenvolvimento das formas evolutivas de S. mansoni.

## II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Dentro da classe Gastropoda, os caramujos pertencentes à família Planorbidae têm sido os mais extensamente estudados, em particular as espécies do gênero Biomphalaria, estas por serem hospedeiras intermediárias de Schistosoma mansoni (HURLBERT, 1981).

No estudo da epidemiologia da esquistossomose, é de grande importância o conhecimento das possibilidades de transmissão da doença pelas diferentes espécies de molusco de cada região (COELHO, 1957). Sabe-se que o grau de suscetibilidade das espécies descritas de Biomphalaria varia tanto entre espécies diferentes, quanto entre diferentes populações da mesma espécie.

No Brasil, PARAENSE e CORREA descreveram a diferença no grau de suscetibilidade de várias espécies de Biomphalaria, utilizando duas cepas brasileiras de S. mansoni: A cepa BH, isolada em 1959 na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, mostrou-se infectante para B. glabrata (1963), B. amazonica (1971) e B. peregrina (1973); a cepa SJ, isolada em 1962 na cidade de São José dos Campos, São Paulo, mostrou-se infectante para B. tenagophila (1963) e B. peregrina originária do Equador (1973). Em 1981, os mesmos autores fizeram um estudo comparativo entre as duas cepas e concluíram que ambas podem ser consideradas como variedades distintas de S. mansoni.

B. occidentalis, objeto de estudo do presente trabalho, foi descrita por PARAENSE e CORREA em 1981. Até então era facilmente confundida com B. tenagophila, hospedeira natural de S. mansoni, devido aos caracteres da concha e maioria dos órgãos genitais. Em 1982, os mesmos autores iniciaram o estudo sobre a suscetibilidade da nova espécie, a qual mostrou-se refratária à infecção pela cepa SJ de S. mansoni.

No estudo da incidência da infecção observada nas diferentes espécies ou populações de planorbídeos, notou-se que existe uma dependência entre os fatores físico-químicos da água, como volume, velocidade, temperatura, pH, salinidade e turbidez, e fatores biológicos como a densidade populacional das espécies suscetíveis e interferência na capacidade de penetração do miracídio por outros organismos aquáticos (CHRISTENSEN, 1980). Fatores genéticos também regulariam a suscetibilidade do caramujo (MICHELSON e DUBOIS, 1978).

A penetração do miracídio se faz através das partes expostas do hospedeiro, um fenômeno estudado por LUTZ (1919), BRUMPT (1940) e MALDONATO e MATIENZO (1947), que assinalaram a preferência do miracídio pela antena. COELHO (1957) confirmou essas observações e demonstrou ainda a região do pé como outro local de penetração preferível pelo miracídio. Experimentos preliminares de MEULEMAN e ROBERT (apud ZYLSTRA, 1972) mostraram que a penetração do miracídio de S. mansoni ocorre principalmente em regiões de maior concentração de células secretórias.

São poucos os estudos sobre a ultraestrutura do gênero Biomphalaria. MEULEMAN (1972), descreveu em microscopia eletrônica os aspectos da glândula digestiva de B. pfeifferi nor-

mal e infectada por S. mansoni. Esse trabalho, além de descrever em detalhes o epitélio da glândula digestiva, forneceu importantes informações sobre os elementos celulares que compõem o tecido conjuntivo. ZYLSTRA (1972 a, b, c) descreveu e comparou o aspecto ultraestrutural da epiderme, das células secretórias sub-epidermais e das células sensoriais da cabeça, do pé e do manto de Lymnaea stagnalis, B. pfeifferi e Helix pomatia. Realizou ainda um estudo em microscopia eletrônica sobre a capacidade de ingestão de partículas do meio externo pelas células epidermais de L. stagnalis.

As pesquisas realizadas em microscopia óptica do gênero Biomphalaria dão maior ênfase às alterações provocadas pelos miracídios do S. mansoni e suas fases evolutivas nos diferentes órgãos do molusco (COELHO, 1957; CHENG e BIER, 1971; MEULEMAN, 1972; PEQUITO e AZEVEDO, 1973; SCHUTTE, 1975; COMBES e MONÉ, 1987). PARAENSE e DESLANDES (1955) descreveram a morfologia de B. glabrata, sendo que o estudo histológico ficou restrito aos órgãos genitais. PAN (1958) fez o primeiro estudo histológico completo do gênero Biomphalaria, descrevendo o tegumento e os órgãos de B. glabrata. Utilizando as técnicas de coloração histológica de rotina, o autor mostrou a epiderme formada por uma camada única de células ciliadas e a existência de apenas dois tipos de células secretórias sub-epidermais. ZYLSTRA (1972) forneceu maiores detalhes sobre o assunto, ao fazer o estudo histológico e histoquímico de várias regiões da epiderme de L. stagnalis, B. pfeifferi e H. pomatia, para servir de base ao estudo ultraestrutural desses gastropodos. Esse trabalho mostrou que a epiderme de B. pfeifferi é composta por células epiteliais ciliadas, não ciliadas e células glandulares

globosas, havendo predominância de um tipo sobre os demais conforme a região do molusco. PLESCH et al. (1975) estudaram a anatomia e a histologia da musculatura de L. stagnalis. Além de serem identificados seis sistemas musculares distintos, os autores demonstraram, pela microscopia óptica, que as fibras musculares lisas compõem a totalidade do corpo do molusco e a maioria da musculatura visceral.

### III - MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se espécimes de planorbídeos Biomphalaria occi-  
dentalis, com tamanho médio de 12 mm, capturados na cidade de  
Guaíra-PR. Os caramujos foram enviados ao laboratório devida-  
mente embalados entre camadas de algodão e gaze umedecidos com  
água .

No laboratório os caramujos eram mantidos em aquários  
de vidro com capacidade média de 4 litros de água de fonte na-  
tural, e alimentados com alface desidratada. Quinzenalmente a  
água era trocada e se procedia a limpeza dos aquários.

Para a colheita das amostras, os caramujos eram pressio-  
nados levemente entre duas lâminas de vidro e imersos em uma  
gota de água destilada, onde, sob microscópio estereoscópico,  
os fragmentos da concha eram retirados com pinça. A seguir, as  
regiões de interesse eram colhidas para microscopia óptica e  
eletrônica.

Para a microscopia óptica, seccionou-se a região céfa-  
lo-podal de 12 caramujos, sendo seis fixadas em formol a 10%  
e seis em fixador de Bouin. Para que o material permanecesse  
distendido e não contraísse fez-se uma pré-fixação, colocando-  
o sob lâmina de vidro, sob a qual o fixador era injetado. Após  
5 minutos, as amostras eram colocadas em frascos contendo 2ml  
do fixador, onde permaneciam por 12 horas. As amostras foram  
então desidratadas em álcool, diafanizadas em benzol, inclui-

das em parafina histológica e seccionadas em cortes de 3  $\mu$ m de espessura. As técnicas de coloração utilizadas foram a Hematoxilina de Harris e Eosina (H.E.), Tricômico de Mallory, P.A.S., Warthin-Starry, Weighert, Perl's, descoloração por oxidação pela água oxigenada.

Para a microscopia eletrônica, os tentáculos e a porção anterior da região podal, próxima ao aparelho bucal, foram seccionadas e imediatamente imersas em glutaraldeído (3%) e tampão fostato (0,15M) por 2 horas. As amostras foram então lavadas em solução de lavagem (NaCl 0,6% + sacarose 2,3% em água destilada) por 3 vezes, pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% em solução de lavagem por 1 hora, desidratados em acetona, embebidos em resina Polylite e acetona e emblocados em cápsulas plásticas, contendo a resina pura.

Os cortes ultrafinos foram feitos em ultramicrotomo LKB nova, com espessura variando entre 600 Å e 900 Å, corados com solução de uranila por duas horas e citrato de chumbo por 15 minutos. Para observação dos cortes utilizou-se microscópio eletrônico de transmissão Philips EM-300. Esta parte do experimento foi conduzida no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná.

#### IV - RESULTADOS

A concha do planorbídeo B. occidentalis apresenta a forma circular, cujos lados são moderadamente côncavos (fig. 1 e 2). O molusco possui um único par de tentáculos situados na cabeça, os quais mostram a forma cônica, afilando-se no sentido da extremidade (fig. 3). O pé localiza-se na região ventral do corpo e possui uma superfície larga e achatada, pela qual o molusco se locomove por deslizamento.

A microscopia óptica e a microscopia eletrônica revelaram que a estrutura do tentáculo e do pé de B. occidentalis exibem os mesmos elementos celulares, variando apenas a predominância de um ou outro.

No aspecto geral, o epitélio de revestimento é formado por células epiteliais ciliadas, células epiteliais não ciliadas e células glandulares globosas. O tecido conjuntivo contém vários elementos celulares, podendo ser classificado como frouxo ou denso, dependendo da proporção dos componentes. No tentáculo, o tecido conjuntivo frouxo é encontrado na região sub-epidermal e caracteriza-se pela presença de grande quantidade de fibroblastos, os quais formam uma rede, onde em corte longitudinal, observam-se espaços contendo hemolinfa. O tecido conjuntivo denso é encontrado na região central do tentáculo onde aparece envolvendo a artéria central e também no pé de B. occidentalis, contendo numerosos fibroblastos, e células com

pigmento. Nessa região existe também grande quantidade de fibras musculares lisas, células secretórias e células nervosas sensoriais. A técnica de impregnação argêntica revelou que o tecido conjuntivo não possui fibras argentafins.

#### 4.1 TENTÁCULO

##### 4.1.1 Células epiteliais não ciliadas

Na microscopia óptica, observa-se que o tentáculo de B. occidentalis é revestido externamente por uma camada única de células prismáticas com o núcleo localizado na região basal (fig. 4, 5). A cromatina é densa, às vezes formando grumos, e o nucléolo, geralmente único, é evidente. A superfície livre das células apresenta o aspecto de borda estriada.

Na microscopia eletrônica, quando o ângulo de corte é favorável, torna-se possível perceber, que todas as células epiteliais atingem a região da membrana basal, responsável pela união entre o epitélio e o conjuntivo subjacente (fig. 9, 10, 11). A superfície livre das células epiteliais caracteriza-se por possuir microvilos de aparência regular (fig. 9), os quais projetam-se do citoplasma apical e contêm número reduzido de microfilamentos em seu interior (fig. 12). Uma substância semelhante a muco envolve os microvilos, sobre os quais aparecem partículas aderidas. Na região imediatamente adjacente aos microvilos aparece uma nítida trama terminal, onde a ocorrência de organelas é praticamente nula, salientando-se ali poucas vesículas de tamanho e densidade variáveis. É fácil perceber que algumas estão em formação na base dos microvilos, embora seja difícil concluir que se trata de processos que refletem endo-

citose ou exocitose (fig. 15). Essas vesículas, contendo em seu interior um material granulado, fazem-se presentes em diferentes regiões da célula. Na porção apical da célula sob a trama terminal, há uma grande concentração de mitocôndrias, geralmente ovaladas e com poucas cristas (fig. 10, 11). Sua presença pode ser notada também nas demais regiões da célula, embora em menor número. Organelas de diâmetro variável e de baixa eletrodensidade, contendo material levemente granulado em seu interior, estão presentes em regiões abaixo da trama terminal e ao lado das mitocôndrias. Pelas características morfológicas, pode-se supor que se trata de organelas de natureza lisossomal (fig. 11). O complexo de Golgi (fig. 10) está localizado na região supranuclear e a presença de retículo endoplasmático rugoso é reduzida. Feixes de microfilamentos (fig. 10, 11) percorrem a célula em seu eixo maior, concentrando-se ao lado do núcleo. As invaginações celulares são pouco proeminentes e a membrana basal (fig. 10) é bem visível.

O contato entre as células é feito através de interdigitações bastante elaboradas (fig. 10, 11), principalmente no terço superior da célula. Na parte apical não foi possível observar junções íntimas, já que as especializações ali presentes exibem espaços intercelulares aumentados, cuja característica estrutural lembra junções de adesão (fig. 12, 15), seguidas imediatamente por junções septadas, as quais se repetem a intervalos regulares. Observam-se ainda vesículas de tamanho variável e baixa densidade eletrônica, interpondo-se de quando em quando, no trajeto do espaço intercelular.

Grande número de vacúolos aparecem dispostos preferencialmente na região basal da célula (fig. 9). Possuem diâme-

tro grande, ocupando por vezes, até um quarto da área total da célula. Esses vacúolos apresentam membrana própria e estão dispostos intracelularmente, sendo que muitos deles atingem a proximidade da membrana basal. O interior dos vacúolos apresenta-se na maioria das vezes vazio, sendo que em alguns casos pode-se perceber a presença de material de eletrodensidade muito baixa. Em algumas células não ciliadas percebe-se, geralmente na região próxima ao envoltório nuclear, corpos densos (fig 10, 11) de diâmetro reduzido, em torno dos quais ocorre um halo claro e homogêneo. Mesmo em aumento maior não foi possível visualizar a constituição dessas estruturas.

#### 4.1.2 Células glandulares globosas

Pela microscopia óptica, observa-se que essas células localizam-se sempre entre as células epidermais e no tentáculo aparecem em número reduzido. Como o próprio nome define, sua forma é globosa, onde o núcleo pode apresentar-se achatado ou não, e na maioria das vezes, mostra-se deslocado para a região basal da célula pelo produto de secreção (fig. 5, 19).

#### 4.1.3 Células epiteliais ciliadas

As células ciliadas intercalam-se às não ciliadas e apresentam-se em número bastante reduzido no tentáculo. No que diz respeito à estrutura geral, a microscopia eletrônica revela que ambas são praticamente iguais, diferenciando-se apenas pela presença de cílios (fig. 13, 15). Estes existem em número variável e encontram-se sempre dispostos entre os microvilos. Apresentam-se como estruturas alongadas, envoltas por um prolongamento da membrana celular e contêm em seu interior nove

pares de microtúbulos, dispostos em círculo, ao redor de um único par central, os quais inserem-se no corpo basal, logo abaixo da membrana celular. Uma raiz longa e estriada, emitida pelo corpo basal, estende-se através do citoplasma e está geralmente acompanhada de mitocôndrias alongadas. O corpo basal apresenta uma estrutura lateral, a qual parece manter contato com os corpos basais adjacentes (fig. 13, 15). O complexo de Golgi dispõe-se ao redor do núcleo e visualizam-se numerosas vesículas contendo material eletrodense, com características de lisossomos. Feixes de microfilamentos acompanham o eixo maior da célula e são menos evidentes que aqueles das células não ciliadas. Semelhante ao das últimas é também o contato intercelular (fig. 14, 15), e as invaginações celulares são mais pronunciadas, assim como a membrana basal.

#### 4.1.4 Fibroblastos

A epiderme repousa sobre uma trama de tecido conjuntivo frouxo, formado por grande número de fibroblastos (fig. 4, 7). Ao microscópio óptico essas células são alongadas e suas projeções citoplasmáticas formam uma rede em direção às células epidermais, dando origem a espaços onde se observa hemolinfa (fig. 6, 8). O núcleo dos fibroblastos acompanha o formato da célula, cuja cromatina é clara e homogênea, e o nucléolo, geralmente único, é bastante visível.

#### 4.1.5 Artéria central

Pela microscopia óptica nota-se que o vaso apresenta-se revestido internamente por células cúbicas, as quais exibem um núcleo central e geralmente esférico, com cromatina clara e

nucléolo evidente (fig. 6, 7). Às vezes nota-se que essas células fazem saliência ao longo da parede interna do vaso. Na sua parte externa, a artéria central encontra-se envolta em toda a sua extensão por tecido conjuntivo denso.

#### 4.1.6 Células com pigmento

Sua morfologia é variada e caracterizam-se pela presença de grânulos de coloração negra ou castanha, os quais preenchem o citoplasma de tal forma, que chegam a encobrir o núcleo, geralmente excêntrico (fig. 5, 6, 7). Esses pigmentos sofreram descoloração quando submetidas à oxidação por água oxigenada.

A microscopia eletrônica mostra que os grânulos consistem de vacúolos contendo material homogêneo, fortemente eletrodenso (fig. 16). Conforme o sentido do corte, pode-se observar grânulos isolados, demonstrando que as células parecem emitir prolongamentos citoplasmáticos. Essas células são encontradas somente no tecido conjuntivo, não sendo observadas na camada epitelial.

#### 4.1.7 Fibras musculares lisas

O tentáculo é rico em fibras musculares lisas longitudinais e circulares de espessura variada (fig. 6, 7). Pela técnica de Mallory, as fibras musculares apresentam a região central corada em amarelo e a periférica em azul. O núcleo alongado é de difícil visualização e às vezes aparece envolto por grânulos negros. Através da microscopia eletrônica, pode-se observar que a célula muscular lisa apresenta em seu citoplasma miofilamentos orientados paralelamente ao eixo maior da célula (fig. 10). As mitocôndrias são alongadas e o plasmalema

apresenta grande número de vesículas de pinocitose, em vários estágios de formação.

#### 4.1.8 Células nervosas sensoriais

À microscopia óptica essas células mostram-se pequenas, fusiformes, com citoplasma basofílico e núcleo ovóide contendo cromatina bastante densa (fig. 4). Essas células emitem prolongamentos que parecem estar em contato com as células epiteliais.

#### 4.1.9 Células secretórias sub-epidermais

O tentáculo possui ainda um número reduzido de células secretórias (fig. 4, 5, 8) localizadas imediatamente abaixo da epiderme. Essas células, geralmente caliciformes, possuem sua porção mais delgada entremeada com as células epiteliais. Dessa maneira, lançam seu produto de secreção para a superfície, formando uma película de muco.

### 4.2 PÉ

À microscopia eletrônica os elementos celulares que compõem o pé de B. occidentalis possuem as mesmas características daqueles que constituem o tentáculo (fig. 21, 22, 23, 24, 25).

Pela microscopia óptica, observa-se o epitélio de revestimento composto, em quase sua totalidade, por células ciliadas, as quais intercalam-se com células glandulares globosas, bastante numerosas nessa região (fig. 17, 18).

Os espaços hemolinfáticos observados na região sub-epidermal, apresentam-se reduzidos em número e em tamanho (fig. 19).

No aspecto geral, as fibras musculares lisas, além de mos-

trarem espessura variada, não possuem uma orientação determinada (fig. 19). Na região imediatamente abaixo da epiderme, as fibras musculares lisas apresentam-se mais delgadas e se dispõem de modo a formar uma rede.

As células secretórias sub-epidermais são numerosas, na maioria das vezes apresentando-se em grupos e mostrando reações distintas ao P.A.S. (fig. 17, 18, 20).

Observa-se ainda, que as células nervosas sensoriais são semelhantes às do tentáculo e encontram-se agrupadas em pequenos "*gânglios*" (fig. 20).

As células com pigmento são encontradas em grande número em toda a região sub-epidermal (fig. 18, 19).

## V - DISCUSSÃO

O estudo histológico e ultraestrutural do tentáculo e do pé de B. occidentalis foi o primeiro requisito para tentar entender se a não suscetibilidade dessa espécie ao S. mansoni estaria relacionada aos elementos celulares que compõem esses órgãos. A penetração do miracídio de S. mansoni se faz através das regiões expostas do hospedeiro. LUTZ (1919), BRUMPT (1940), MALDONATO e MATIENZO (1947) assinalaram a preferência do miracídio pelo tentáculo. COELHO (1957), além de confirmar essas observações, demonstrou a região do pé como outro local de penetração preferível. MEULEMAN e ROBERT (apud ZYLSTRA, 1972c) mostraram, em estudos preliminares, que a penetração do miracídio de S. mansoni em B. pfeifferi ocorre principalmente nas regiões com maior concentração de células secretórias, e ZYLSTRA (1972c) demonstrou que a região anterior do pé da B. pfeifferi é o local onde se concentra o maior número de células secretórias diferentes. Observações preliminares de infecção de B. occidentalis por S. mansoni, antes da execução do presente estudo, já haviam demonstrado uma predileção maior dos miracídios pelo tentáculo e pela região anterior do pé do molusco. Notou-se, também, que o miracídio apresentava dificuldades em vencer a barreira epitelial, o que o levava a esgotar sua vitalidade.

Demonstrou-se no presente trabalho que o tentáculo de

B. occidentalis é revestido externamente por uma camada única de células epiteliais, com a superfície livre recoberta por microvilos. Essa particularidade, segundo ZYLSTRA (1972c), visa aumentar a superfície da célula, fator importante para a absorção de íons e gás do meio externo. Uma importante característica observada nas células não ciliadas foi a presença de microfilamentos, agrupados em feixes, que percorriam a célula da região basal até a apical, geralmente se estendendo até o interior dos microvilos. Os microfilamentos podem ter a propriedade de contração, alterando a estrutura dos microvilos, o que auxilia processos como a endocitose (ZYLSTRA, 1972c). Por influir na dinâmica do movimento citoplasmático, os microfilamentos permitem a movimentação de vesículas e de material no interior da célula.

As numerosas mitocôndrias na região apical da célula não ciliada seriam uma fonte de energia para o processo de transporte ativo através da superfície externa da célula. As vesículas do citoplasma, assim como as vesículas em formação nas bases dos microvilos, sugerem que as células epiteliais estão envolvidas em processos que refletem endocitose ou exocitose, apesar da dificuldade em se diferenciar um processo do outro. ZYLSTRA (1972b) fez um estudo sobre a absorção de partículas de ferritina pelas células não ciliadas de L. stagnalis e mostrou que o processo ocorre através de endocitose. O mesmo autor descreveu ainda, que a camada de muco que recobre as células epiteliais favorece a conservação de nutrientes e a captura de íons adsorvidos na película.

As junções celulares da epiderme de B. occidentalis são semelhantes às existentes na epiderme (ZYLSTRA, 1972c) e na

glândula digestiva (MEULEMAN, 1972) de B. pfeifferi. Junções íntimas na porção apical da célula, como ocorre nos vertebrados, não foram observadas aqui. ZYLSTRA (1972c), denominou como junção de adesão as especializações que formam uma cinta ao redor da região apical da célula. Os espaços intercelulares são interrompidos regularmente por junções septadas que, além de servirem de conexão às células epiteliais, regulam a permeabilidade e constituem um meio de comunicação com as células vizinhas.

As células ciliadas, no aspecto geral, são extremamente semelhantes às não ciliadas, diferenciando-se apenas pela presença de cílios. Estes, na região anterior do pé geralmente possuem raízes longas e uma estrutura lateral situada no corpo basal, denominada por ZYLSTRA (1972c) de pé basal. Essas estruturas fazem contato entre os corpos basais dos cílios adjacentes, o que provavelmente leva a uma coordenação dos movimentos ciliares, importante na região anterior do pé, onde os cílios são especializados para a locomoção (GIBBONS, apud ZYLSTRA, 1972c).

ZYLSTRA (1972c) descreveu que a epiderme de L. stagnalis repousava sobre uma camada de tecido conjuntivo contendo fibras colagenosas. MEULEMAN (1972) demonstrou que o tecido conjuntivo da glândula digestiva de B. pfeifferi era composto por fibras aparentemente constituídas por colágeno e/ou reticulina. No tecido conjuntivo de B. occidentalis, observou-se que estruturas coraram-se como fibras colagenosas pelo tricrômico de Mallory, mas na microscopia eletrônica não aparecem estruturas com característica de colágeno no tecido conjuntivo.

PAN (1958) descreveu os fibroblastos de B. glabrata co-

mo células fusiformes, de núcleo alongado ou oval, com envoltório nuclear delicado, um ou dois nucléolos e cromatina fina. Por outro lado, MEULEMAN (1972), no estudo sobre a glândula digestiva de B. pfeifferi, encontrou fibroblastos em número limitado e descreveu essas células como achatadas, de núcleo alongado e cromatina densa. Ambos os autores demonstraram que as células possuíam processos citoplasmáticos que contactavam formando uma rede de tecido conjuntivo. O presente estudo mostrou que no tentáculo de B. occidentalis, os fibroblastos são células alongadas, de núcleo grande e claro, com processos citoplasmáticos, os quais dão origem a uma rede de tecido conjuntivo frouxo na região sub-epidermal, formando grandes espaços hemolinfáticos. Esses espaços seriam importantes no processo de extensão e retração do tentáculo (PAN, 1958). Provavelmente, a extensão do órgão resultaria do preenchimento dos espaços com a hemolinfa distribuída pela artéria central, e o processo de retração, por sua vez, aconteceria pela contração das fibras musculares lisas longitudinais e circulares, abundantes nessa região, o que levaria à expulsão da hemolinfa dos espaços hemolinfáticos do tentáculo.

No pé de B. occidentalis, os fibroblastos formam, junto com os demais componentes celulares, uma massa compacta de tecido. Os espaços hemolinfáticos são pequenos e em número reduzido, provavelmente por não participarem nos processos de retração e extensão do órgão, que são realizados pelas fibras musculares lisas, bastante numerosas nessa região.

A artéria central do tentáculo de B. occidentalis aparece revestida internamente por uma camada de células cúbicas e que fazem saliência ao longo da parede do vaso. Essas células

las parecem estar hiperplasiadas e apresentam as mesmas características dos hemócitos encontrados na luz do vaso e espaços hemolinfáticos. Não se observaram células planas revestindo o interior do vaso, como descreveu PAN (1958), o qual mencionou que a artéria central do tentáculo de B. glabrata apresentava-se revestida internamente por células planas, semelhantes a fibroblastos e de difícil visualização. Essas células quando estimuladas por um processo patológico, poderiam sofrer hiperplasia, destacar-se da parede do vaso e transformarem-se em células com propriedades fagocitárias.

Em B. occidentalis, as células com pigmento, que parecem emitir prolongamentos citoplasmáticos repletos de grânulos, são vistas exclusivamente no tecido conjuntivo do tentáculo e do pé. Esses grânulos apresentam característica de melanina, ao reagirem positivamente à descoloração por oxidação pela água oxigenada. STEIN e MACKIN (1955), estudando as células com pigmentos em ostras, demonstraram através de estudos histoquímicos, que os pigmentos possuíam características de lipofucsina e associaram o aumento do número de células com pigmento a infecções por microorganismos. PAN (1958), demonstrou que as células epiteliais que revestem o manto de B. glabrata, caracterizavam-se pela presença de pigmento no citoplasma o qual poderia estar relacionado com a melanina dos animais superiores. As células com pigmentos, localizadas no tecido conjuntivo de B. glabrata, apresentavam reações similares às das células epiteliais, quando submetidas às várias colorações específicas. Sugeriu, ainda, esse autor, que as células com pigmentos poderiam derivar de fibroblastos, e que o aumento de seu número estaria relacionado a infecções de origem microbiana. BACILA et al.

(1961) demonstraram a existência da polifenoloxidase, enzima que participa na síntese da melanina, em variedades de B. glabrata pigmentada e albina. A enzima é ativa em ambas as variedades, e o albinismo poderia ser explicado por um erro metabólico que ocorreria durante a síntese dos substratos usados na melanogênese. MEULEMAN (1972) obteve resultados positivos tanto para melanina quanto para lipofucsina, em testes químicos realizados com glândula digestiva de B. pfeifferi. Em condições desfavoráveis os caramujos poderiam apresentar desenvolvimento marcante de células com pigmento. ZYLSTRA (1972c), quando estudou a epiderme de L. stagnalis, demonstrou que os grânulos das células com pigmento possuíam um conteúdo proteico rico em cisteína. Observou também que os caramujos provenientes de seu habitat natural possuíam pigmentação mais intensa que os caramujos criados em laboratório. ARAGÃO e BACILLA (1976), em continuação ao estudo da polifenoloxidase da variedade pigmentada de B. glabrata, obtiveram a purificação parcial da enzima e descreveram suas propriedades cinéticas.

A musculatura dos gastropodos mostra-se em geral bastante complexa e é a responsável pela manutenção e pela variação da forma do animal. A região podal do molusco é composta quase que exclusivamente por fibras musculares lisas, de diferentes espessuras, dispostas sem orientação determinada. PLESCH et al. (1975) estudaram a musculatura de L. stagnalis, e mostraram que as fibras musculares lisas possuíam a capacidade de contrair-se extensa e lentamente, favorecendo os processos de retração e expansão do corpo do molusco. BAECKER (1932) mostrou que os músculos dos pulmonados terrestres não reagiam às colorações específicas, como acontecia nos animais superiores.

Em B. glabrata, PAN (1958) demonstrou que as fibras musculares lisas eram circundadas por delicadas fibrilas, as quais coravam-se em azul pelo Mallory, mas não reagiam com a impregnação argêntica. Já PLESCH et al (1975), descreveram em L. stagnalis, que as fibras musculares lisas, quando individualizadas, apareciam envoltas por uma fina rede de fibras reticulares, evidenciadas pela impregnação argêntica. Em B. occidentalis, a mesma técnica de coloração demonstrou que as fibras musculares lisas não apresentam o envoltório de fibras reticulares. Pelo tricrômico de Mallory, as mesmas adquirem um tom azulado na periferia, enquanto a região central mostra-se amarelada. Raras fibras coraram-se totalmente em amarelo. A princípio pensou-se que estavam impregnadas pelo ácido pícrico do fixador de Bouin. Observou-se então, que o material fixado em formol a 10% apresentava as mesmas características. É possível que essas fibras musculares lisas possuam algum componente em sua superfície com afinidade pelo azul de anilina do corante de Mallory e que não reage quando submetido à impregnação argêntica.

ZYLSTRA (1972a) fez um estudo sob microscopia óptica e eletrônica de células nervosas sensoriais em L. stagnalis e B. pfeifferi. Demonstrou a existência de seis tipos diferentes de terminações nervosas livres, cuja distribuição era restrita a áreas determinadas do corpo do molusco, sendo distinguíveis pelo número de cílios presentes e pela estrutura das raízes ciliares. No estudo de B. occidentalis utilizou-se somente a microscopia óptica para descrever-se as células nervosas sensoriais.

As células glandulares globosas e células secretórias sub-epidermais de B. occidentalis apresentaram reações distin-

tas ao P.A.S., o que demonstra a existência de vários tipos de tais células no tentáculo e no pé do molusco. Estudos histoquímicos mais especializados que possam esclarecer as razões dessas diferenças são necessários.

## VI - CONCLUSÕES

1. Realizou-se o estudo histológico e ultraestrutural do tentáculo e da região anterior do pé de B. occidentalis. A epiderme é composta por células epiteliais ciliadas, não ciliadas e glandulares globosas. O tecido conjuntivo é formado por fibroblastos e células com pigmento. No tentáculo aparecem numerosas fibras musculares lisas circulares e longitudinais, enquanto no pé essas fibras apresentam espessura variada e não possuem orientação determinada. Há diferentes tipos de células secretórias sub-epidermais e as células sensoriais nervosas podem apresentar-se isoladas ou em grupos.

2. As colorações histológicas específicas não comprovaram a existência de fibras reticulares envolvendo as fibras musculares lisas do tentáculo e do pé de B. occidentalis.

3. Pela microscopia eletrônica não se confirmou a presença de fibras colágenas no tecido conjuntivo do tentáculo e do pé de B. occidentalis.

4. Pela técnica do P.A.S., verificou-se que há vários tipos de células secretórias sub-epidermais às quais podem ser diferenciadas pelo seu produto de secreção.

## SUMMARY

The normal histology and ultrastructure of the tentacle and anterior region of the foot of Biomphalaria occidentalis were studied. This species of planorbid is not susceptible to the infection of Schistosoma mansoni. Both organs were shown to have the same cellular elements in variable proportions. The epidermis, in general, is composed by a single layer of tall columnar ciliated cells, non-ciliated cells and glandular goblet cells. The epidermis of the tentacle is almost entirely composed by non ciliated cells. These cells have their surface covered by microvilli and have numerous mitochondria and lysosomal-like vesicles in their apical regions. The ciliated cells, which are more numerous in the foot differentiate from the others by cilia whose roots are long and interconnected by basal feet. The tentacle has a single central artery surrounded by dense connective tissue and smooth muscle fibers disposed circular and longitudinally. The subepidermal portions of the tentacle characteristically has loose connective tissue, formed by the cytoplasmic projections of fibroblasts. Dense connective tissue is found in the foot and in the deep part of the tentacle. In these regions, there are numerous pigment cells, which appear to be melanine laden. Subepidermal secretory cells and sensory cells are present in small numbers. In the foot there is a great concentration of subepidermal secretory cells, often in groups which react differently to the PAS staining technic. The smooth muscle fibers show variable thickness and do not have any orientation.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ARAGÃO, G.A. & BACILA, M. (1976). Purification and properties of a polyphenoloxidase from the freshwater snail Biomphalaria glabrata. Com. Biochem. Physiol. 53B:179-182.
- 2 BACILA, M., DUARTE, J.H. & VOSS, D.O. (1961). Purificação da dihidroxifeniloxidase de planorbídeos negros e albinos e estudo espectroscópico dos produtos de reação. An. Acad. Bras. Cien. 33(3/4):xlii apud ARAGÃO, G.A. & BACILA, M. (1976). Purification and properties of a polyphenoloxidase from the freshwater snail Biomphalaria glabrata. Comp. Biochem. Physiol. 53B:179-182
- 3 BAECKER, R. (1932). Die Mikromorphologic von Helix pomatia und einigen anderem Stylommatophoren. Zeitschr. Gesam. Anat., Ergeb. Anat. Entwickl., 29:449-585 apud PAN, C. (1958). The general histology and topographic microanatomy of Australorbis glabratus. Bull. Mus. Comp. Zool. Harv. 119:237-299.
- 4 BRUMPT, E. (1940). Confirmation des observations de A. Lutz sur les lésions tentaculaires de Planorbis glabratus déterminées par l'évolution sur place des miracidies de Schistosoma mansoni. C. R. Soc. Biol. 133(4):625-628.
- 5 CHENG, T. C. & BIER, J.W. (1972). Studies on molluscan schistosomiasis: An analysis of the development of the cercaria of Schistosoma mansoni. Parasitology. 64:129-141.
- 6 CHRISTENSEN, N. O. (1980). A review of the influence of host and parasite related factors and environmental conditions on the host-finding capacity of the trematode miracidium. Acta Tropica. 37:303-318.
- 7 COELHO, M.V. (1957). Aspectos do desenvolvimento das formas larvais de Schistosoma mansoni em Australorbis nigricans. Rev. Brasil. Biol. 13(3):325-337.
- 8 COMBES, C. & MONÉ, H. (1987). Possible mechanisms of the decoy effect in Schistosoma mansoni transmission. Int. J. Parasit. 17(4):971-975.
- 9 CORREA, L.R. & PARAENSE, W.L. (1971). Susceptibility of Biomphalaria amazonica to infection with two strains of Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. Trop. 13(6):387-390.
- 10 HURLBERT, S.H.; RODRIGUEZ, G. & SANTOS, N.D. (1981). Aquatic biota of tropical South America. Part 2: Anarthropoda. San Diego State University, San Diego, xi + 298 pp.

- 11 KRAJIAN, A.A. & GRADWOHL, R.B.H. (1952). Histopathological Technic. The C.V. Mosby Company. 2.ed.
- 12 LUTZ, A. (1919). O Schistosoma mansoni e a schistosomose segundo observações feitas no Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 11(1):121-155.
- 13 MALDONATO, J.F. & MATIENZO, J.A. (1947). The development of Schistosoma mansoni in the snail intermediate host, Australorbis glabratus. Puerto Rico. J. Pub. Health Trop. Med. 22(4):331-373.
- 14 MEULEMAN, E.A. (1972). Host-parasite interrelationships between the freshwater pulmonate Biomphalaria pfeifferi and the trematode Schistosoma mansoni. Netherlands J. Zool. 22 (4):355-427.
- 15 MICHELSON, E.H. & DUBOIS, L. (1978). Susceptibility of bahian populations of Biomphalaria glabrata to a allopatric strain of Schistosoma mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyg. 27(4):782-786.
- 16 PAN, C. (1958). The general histology and topografic microanatomy of Australorbis glabratus. Bull. Mus. Comp. Zool. Harv. 119:237-299.
- 17 PARAENSE, W.L. & DESLANDES, N. (1955). Observations on the morfology of Australorbis glabratus. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 53(1):87-111.
- 18 PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. (1963). Variation in susceptibility of populations of Australorbis glabratus to a strain of Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 5:15-22.
- 19 PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. (1963). Susceptibility of Australorbis tenagophilus to infection with Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 5(1):23-29.
- 20 PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. (1973). Susceptibility of Biomphalaria peregrina from Brazil and Equador to two strains of Schistosoma mansoni. Rev. Inst. Med. Trop. 15(3):127-130.
- 21 PARAENSE, W.L. (1981). Biomphalaria occidentalis sp. n. from South America (MOLLUSCA BASOMMATOPHORA PULMONATA). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 76(2):199-211.
- 22 PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. (1981). Observations on two biological races of Schistosoma mansoni. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 76(3):287-291.
- 23 PARAENSE, W.L. & CORREA, L.R. (1982). Unsusceptibility of Biomphalaria occidentalis to infection with a strain of Schistosoma mansoni. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 77(1):55-58.
- 24 PEQUITO, M.M. & AZEVEDO, J.F. (1973). Infecção de tentáculos de moluscos cultivados "in vitro" com miracídios de Schistosoma mansoni, Schistosoma haematobium e Fasciola hepatica. Garcia de Orta, Sér. Zool. 2(1):7-10.
- 25 PLESCH, B., JANSEN, C. & BOER, H.H. (1975). Gross morfology and histology of the musculature of the freshwater pulmonate Lymnaea stagnalis (L.). Netherlands J. of Zoology. 25(3):332-352.

- 26 SCHUTTE, C.H.J. (1975). Studies on the south african strain of Schistosoma mansoni. Part. 3: Notes on certain host-parasite relationships between intra-molluscan larvae and intermediate host. South African Journal of Science. 71:8-20.
- 27 STEIN, J.E. & MACKIN, J.G. (1955). A study of the nature of pigment cells of oysters and the relation of their numbers to the fungus diseases caused by Dermocystidium marinum. Texas Jour. Sci. 7:422-429.
- 28 ZYLSTRA, U. (1972a). Distribution and ultrastructure of epidermal sensory cells in the freshwater snails Lymnea stagnalis and Biomphalaria pfeifferi. Netherlands Journal of Zoology. 22(3):283-289.
- 29 ZYLSTRA, U. (1972b). Uptake of particulate matter by the epidermis of the freshwater snail Lymnaea stagnalis. Netherlands J. of Zoology. 22(3):299-306.
- 30 ZYLSTRA, U. (1972c). Histochemistry and ultrastructure of the epidermis and the subepidermal gland cells of the freshwater snails Lymnea stagnalis and Biomphalaria pfeifferi. Z. Zellforsch. 130:93-134.

## ILUSTRAÇÕES

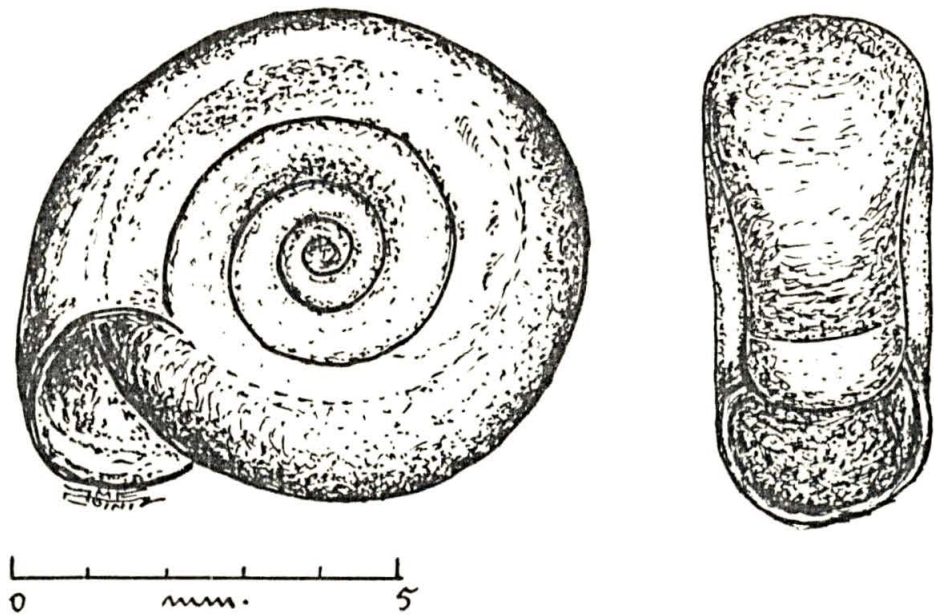
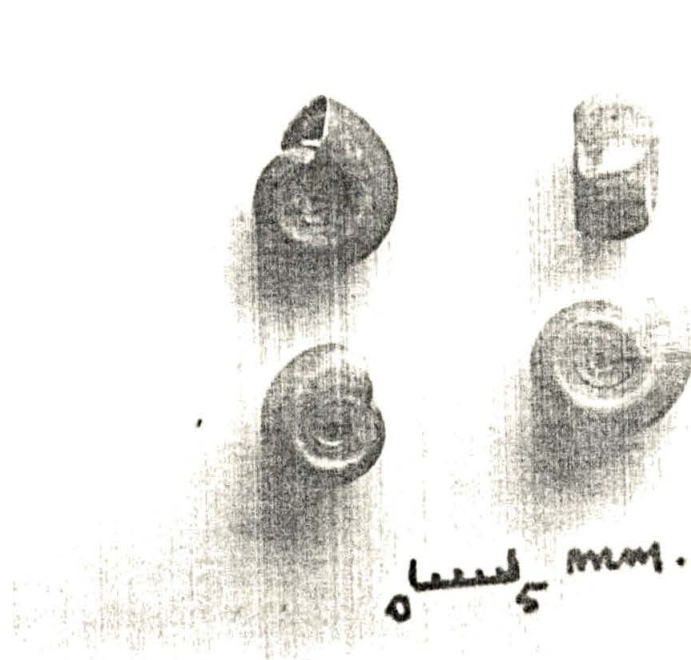


Fig. 1 e 2: Aspecto macroscópico da concha de B. occidentalis

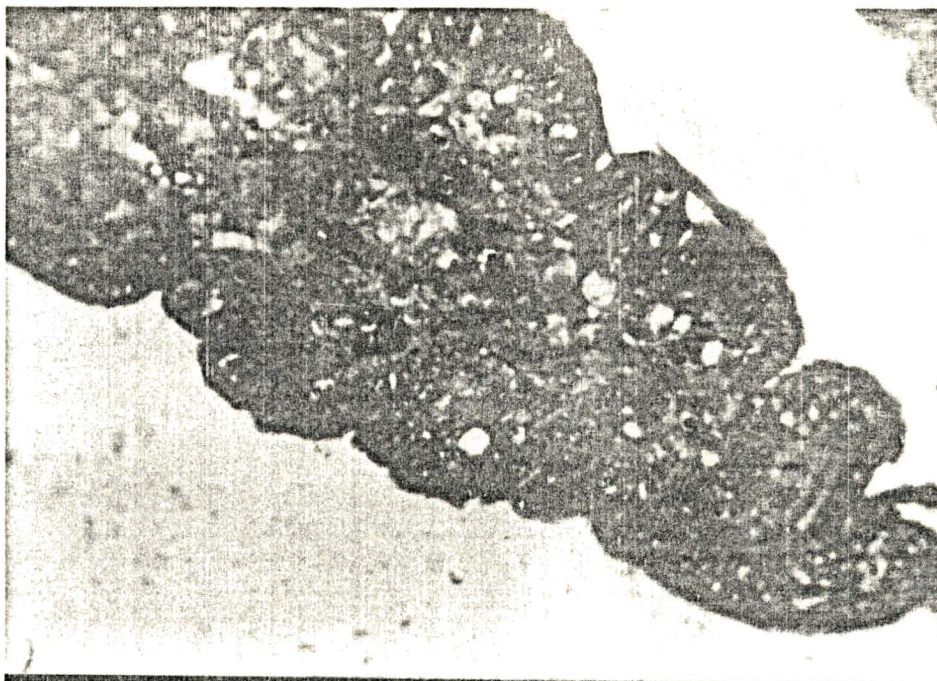


Fig. 3 - B. occidentalis. Tentáculo. Corte longitudinal. PAS 40x.

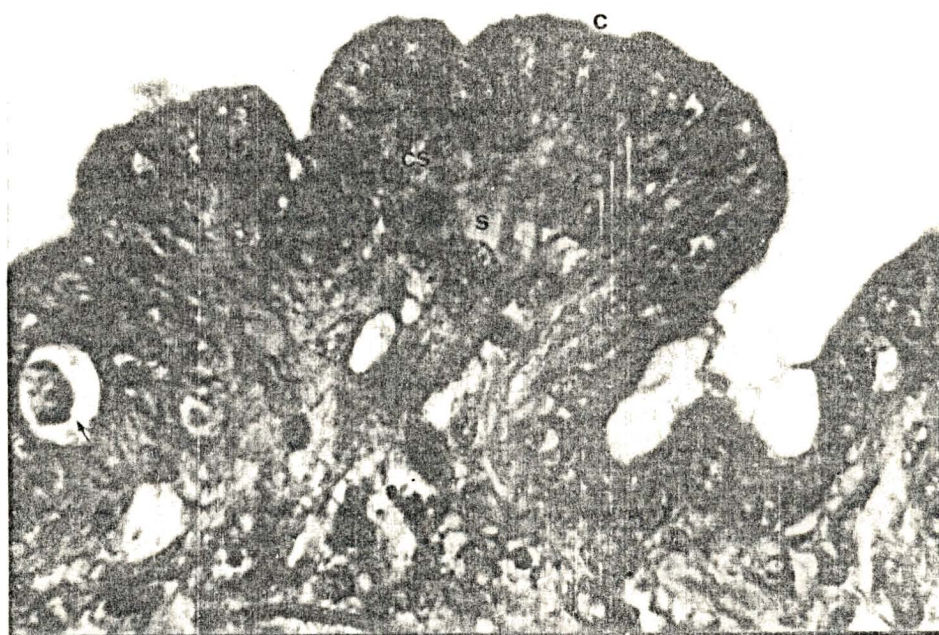


Fig. 4 - B. occidentalis. Tentáculo. Células não ciliadas (c); conteúdo glandular (seta); célula secretória sub-epidermal (s); fibroblasto (f); célula nervosa sensorial (cs). PAS (imersão).

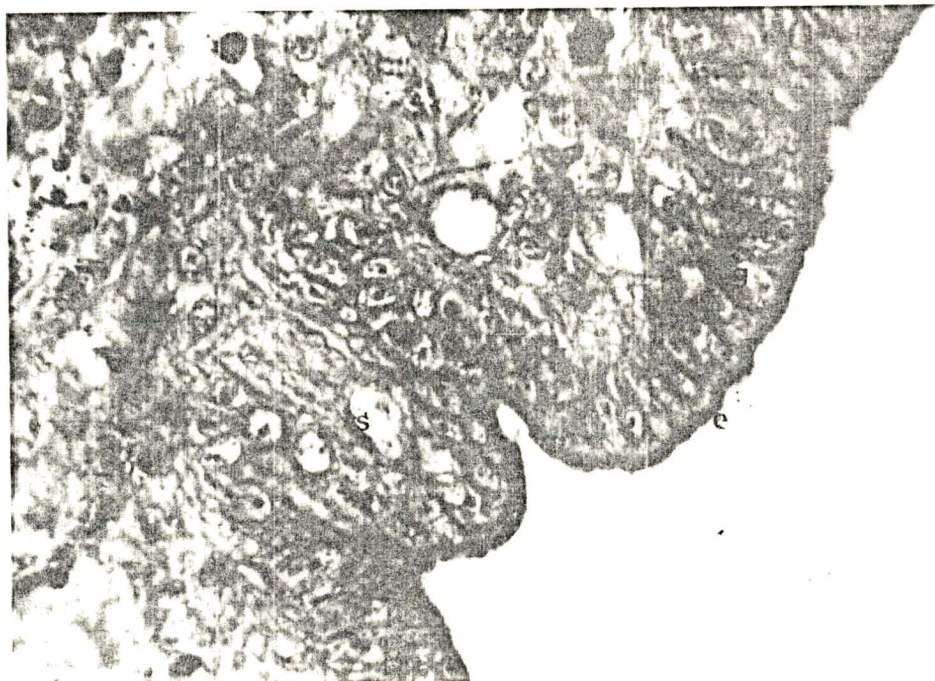


Fig. 5 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Células não ciliadas (c); célula glandular globosa (g); célula com pigmento (p); célula secretória sub-epidermal (s). PAS (imersão).



Fig. 6 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Corte longitudinal. Artería central (a); célula com pigmento (p); fibra muscular longitudinal (fl) e circular (fc); espaço hemolinfático (e). Mallory 40x.

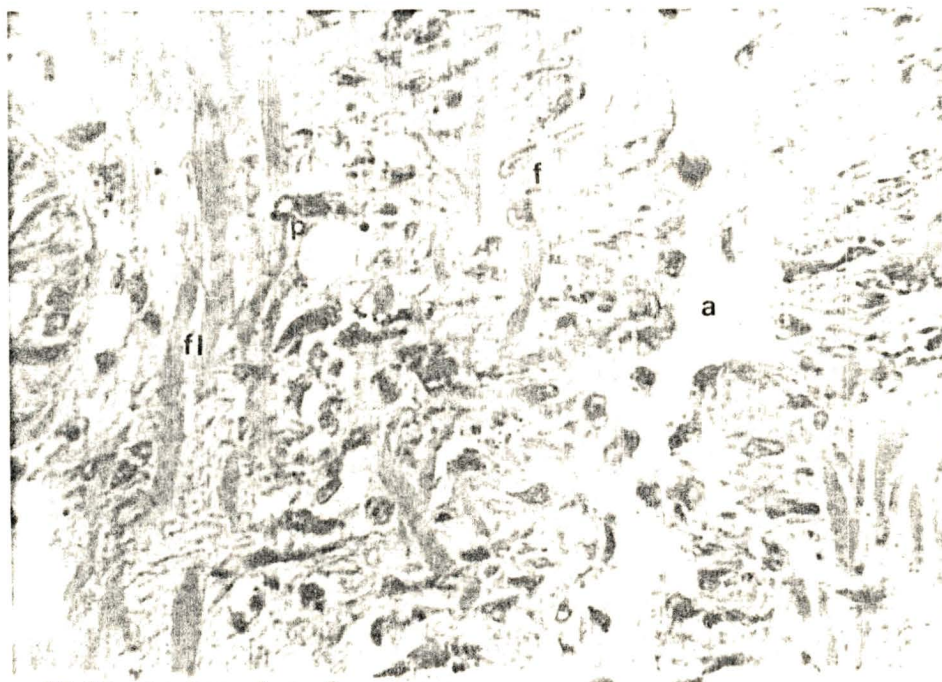


Fig. 7 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Artéria central (a); fibroblasto (f); fibra muscular longitudinal (fl); célula com pigmento (p); Mallory (imersão).

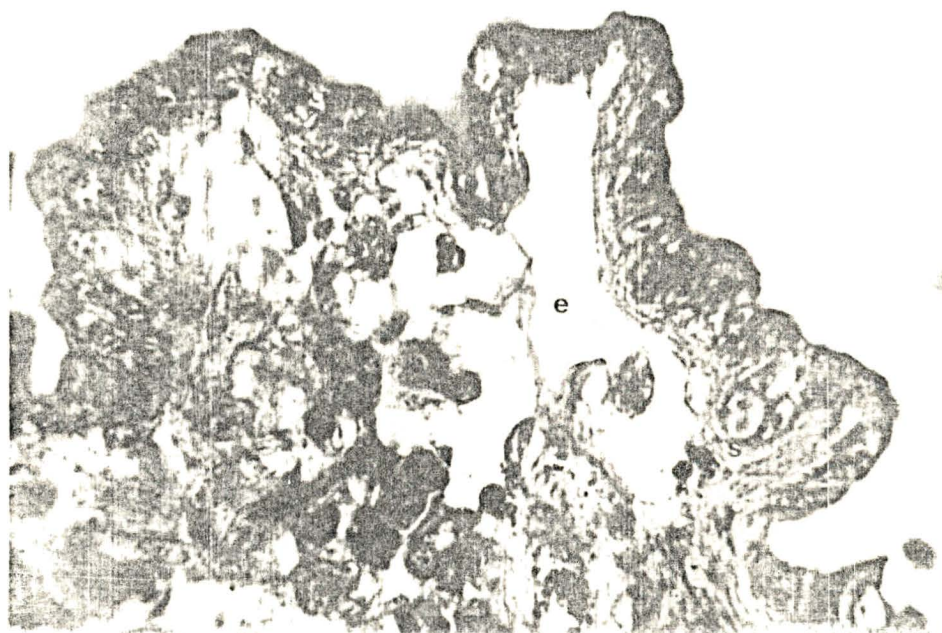


Fig. 8 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Espaço hemolinfático (e); célula secretória sub-epidermal (s). PAS (imersão).



Fig. 9 - B. occidentalis. Tentáculo. Vista panorâmica das células epiteliais com a superfície recoberta por microvilos. Observar a presença de vacúolos intracelulares (seta).  
12.384 x.



Fig. 10 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Núcleo (N); microfilamentos (▶); interdigitações (i); Golgi (G); mitocôndrias (m); membrana basal (seta); fibra muscular lisa (fm); corpos densos (d).  
10.830 x.



Fig. 11 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Mitocôndrias (m); vesículas lisossomais (l); interdigitações (i); núcleo (n); nucléolo (nu); microfilamento (▶); vesícula micropinocítica (seta); corpos densos (\*); conjuntivo subjacente ✱; 15.620 x.

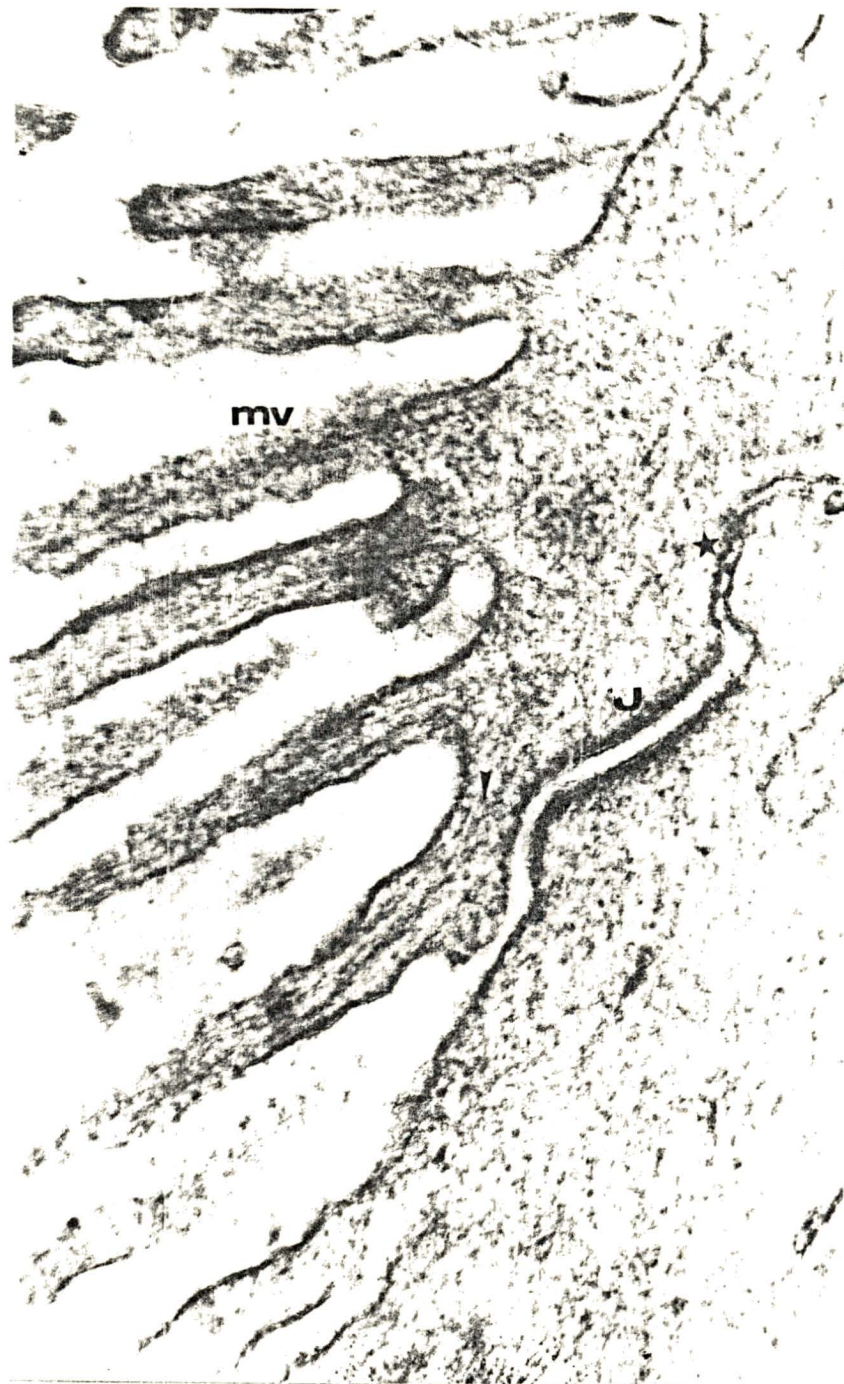


Fig. 12 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Microvilos (mv); microfilamentos (▸); junção de adesão (j); junção septada (★).  
111.720 x.

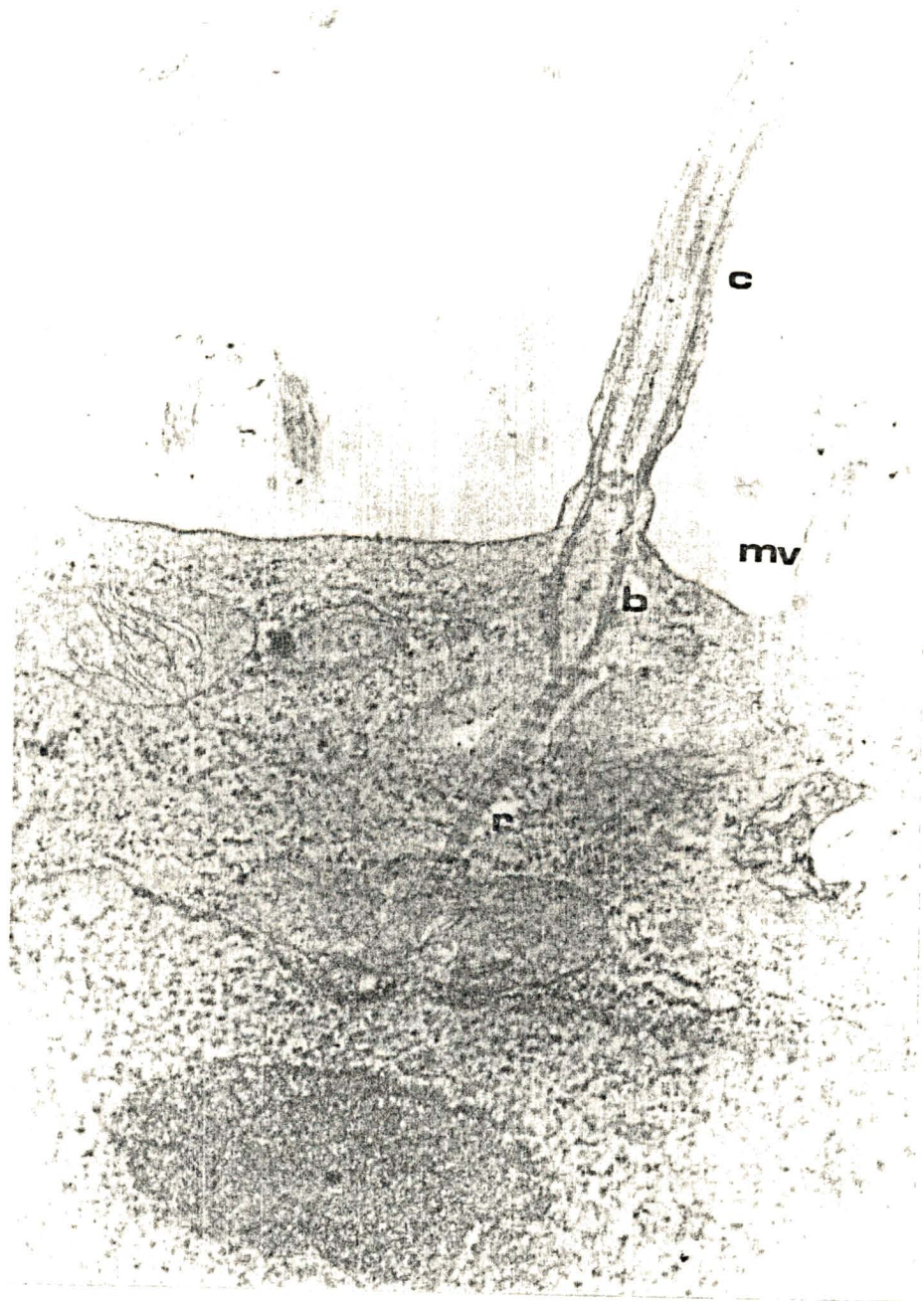


Fig. 13 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Cílio. Corpo ciliar (c); corpo basal (b); raiz ciliar (r); microvilo (mv).  
57.450 x.



Fig. 14 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Interdigi-  
tações (i).  
95.760 x.



Fig. 15 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Microvilo (mv);  
 microfilamento (▶); cílio (◼); vesícula  
 micropinocítica (v); junção de adesão (j);  
 junção septada (★); microtúbulo (mt).  
 57.450 x.

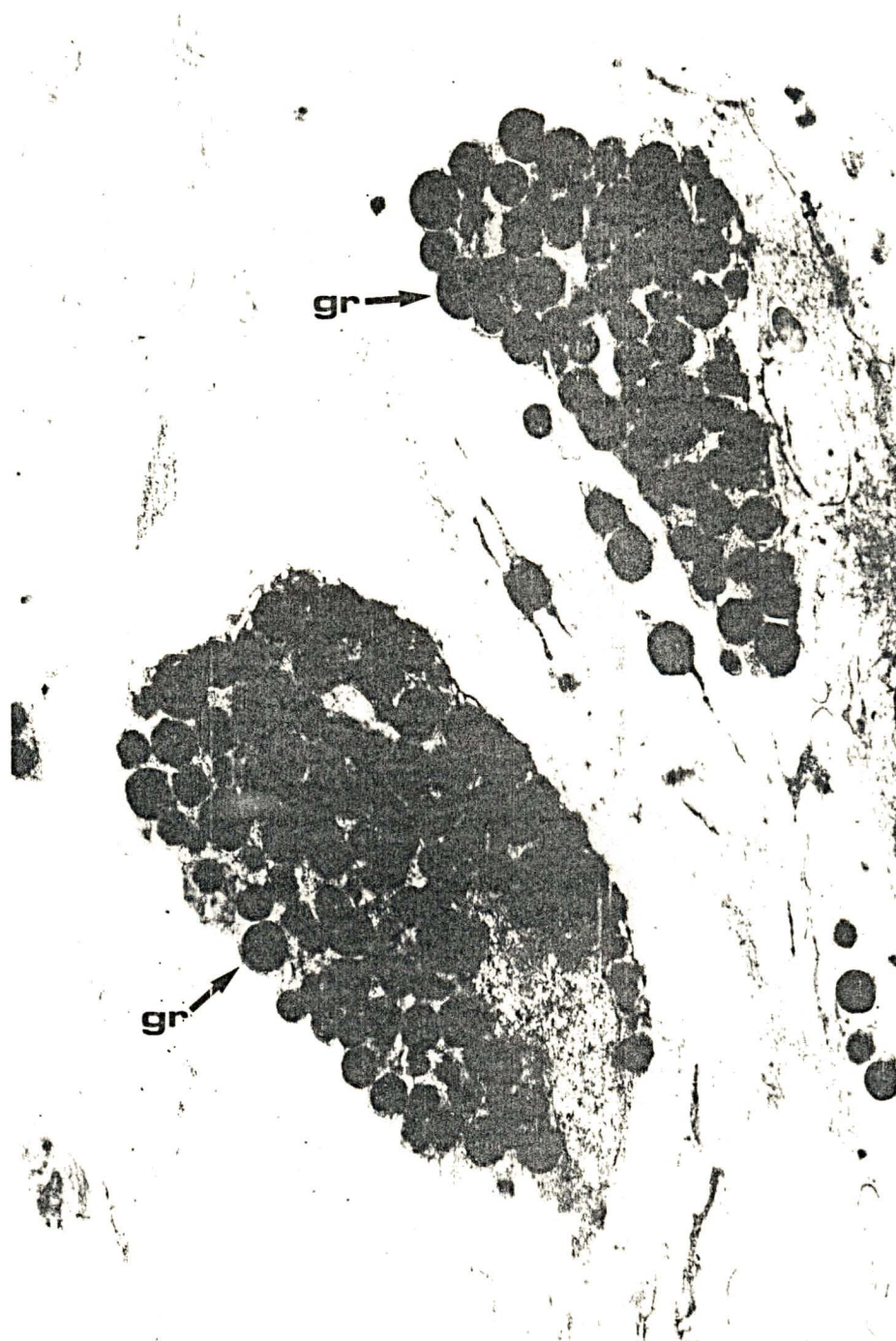


Fig. 16 - *B. occidentalis*. Tentáculo. Célula com pigmento. Grânulos intracitoplasmáticos (gr).  
19.150 x.

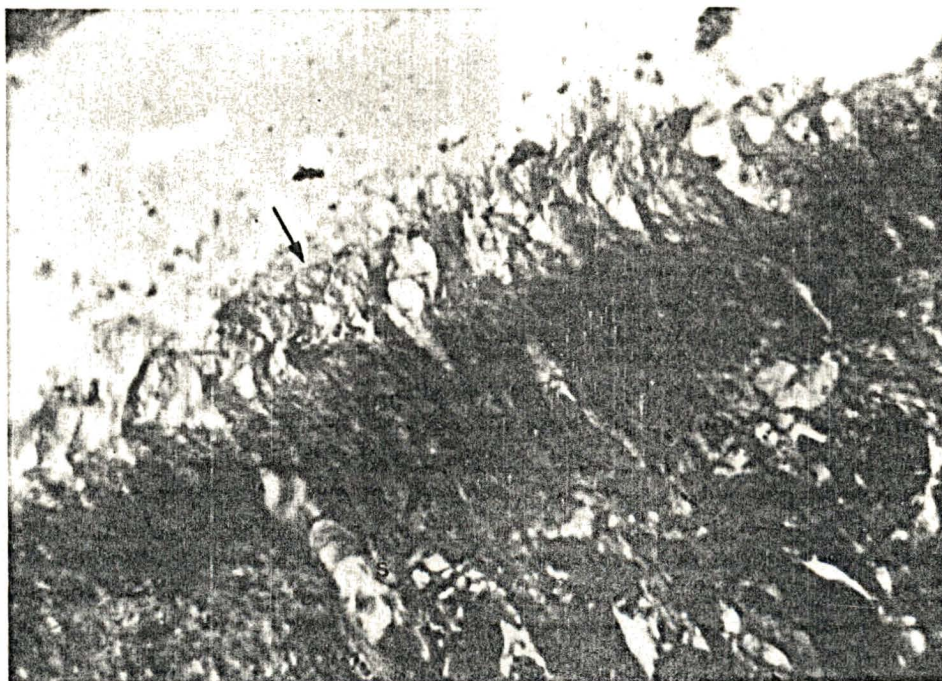


Fig. 17 - *B. occidentalis*. Região anterior do pé. Células ciliadas (cc); célula secretória sub-epidermal (s); cílics (seta). PAS (imersão).

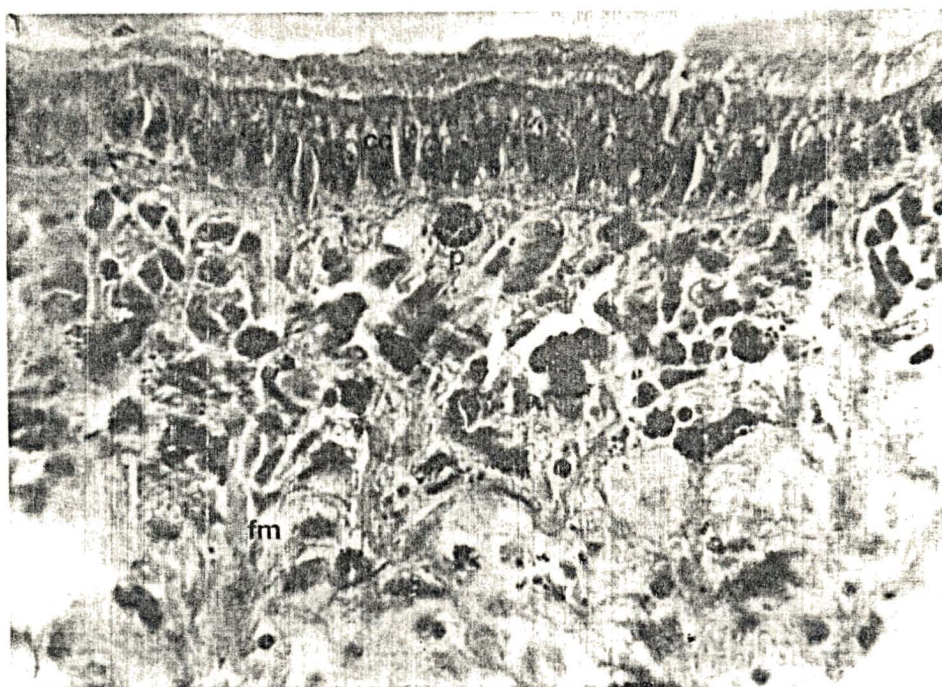


Fig. 18 - *B. occidentalis*. Região anterior do pé. Células ciliadas (cc); células com pigmento (p); fibra muscular lisa (fm). Mallory (imersão).

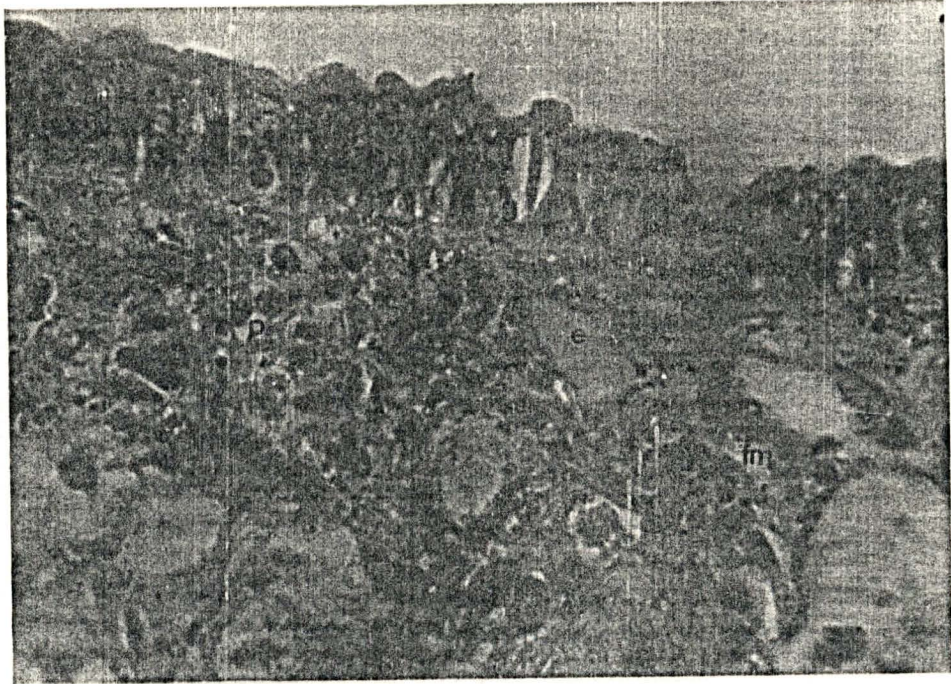


Fig. 19 - *B. occidentalis*. Região anterior do pé. Célula glandular globosa (g); fibra muscular lisa (fm); espaços hemolinfáticos (e); células com pigmento (p); HE (imersão).



Fig. 20 - *B. occidentalis*. Região anterior do pé. Células nervosas sensoriais (cs); célula secretória sub-epidermal (s). HE (imersão)

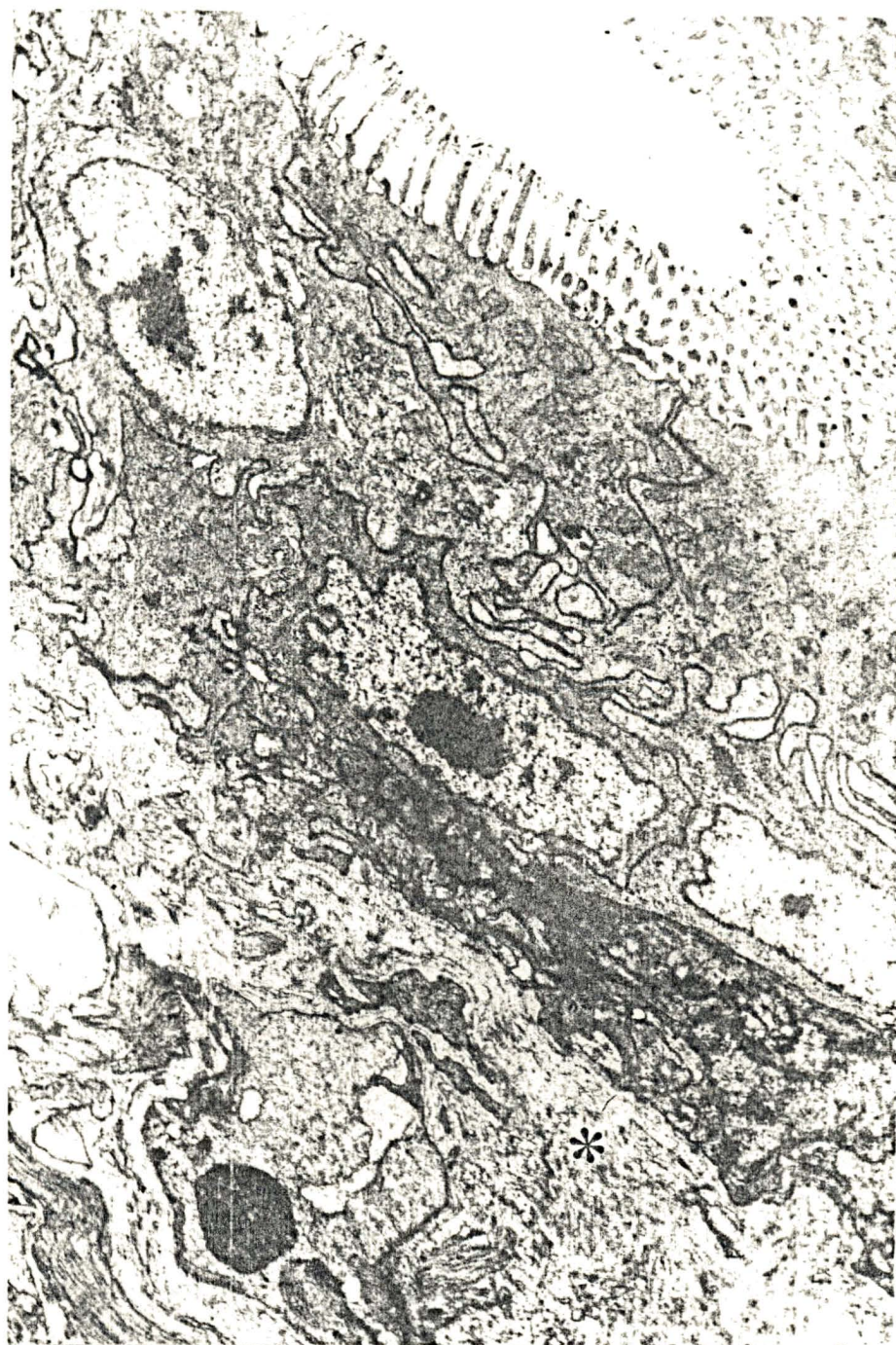


Fig. 21 - B. occidentalis . Região anterior do pé. Vista panorâmica das células epiteliais e do conjuntivo subjacente \* .  
12.384 x.

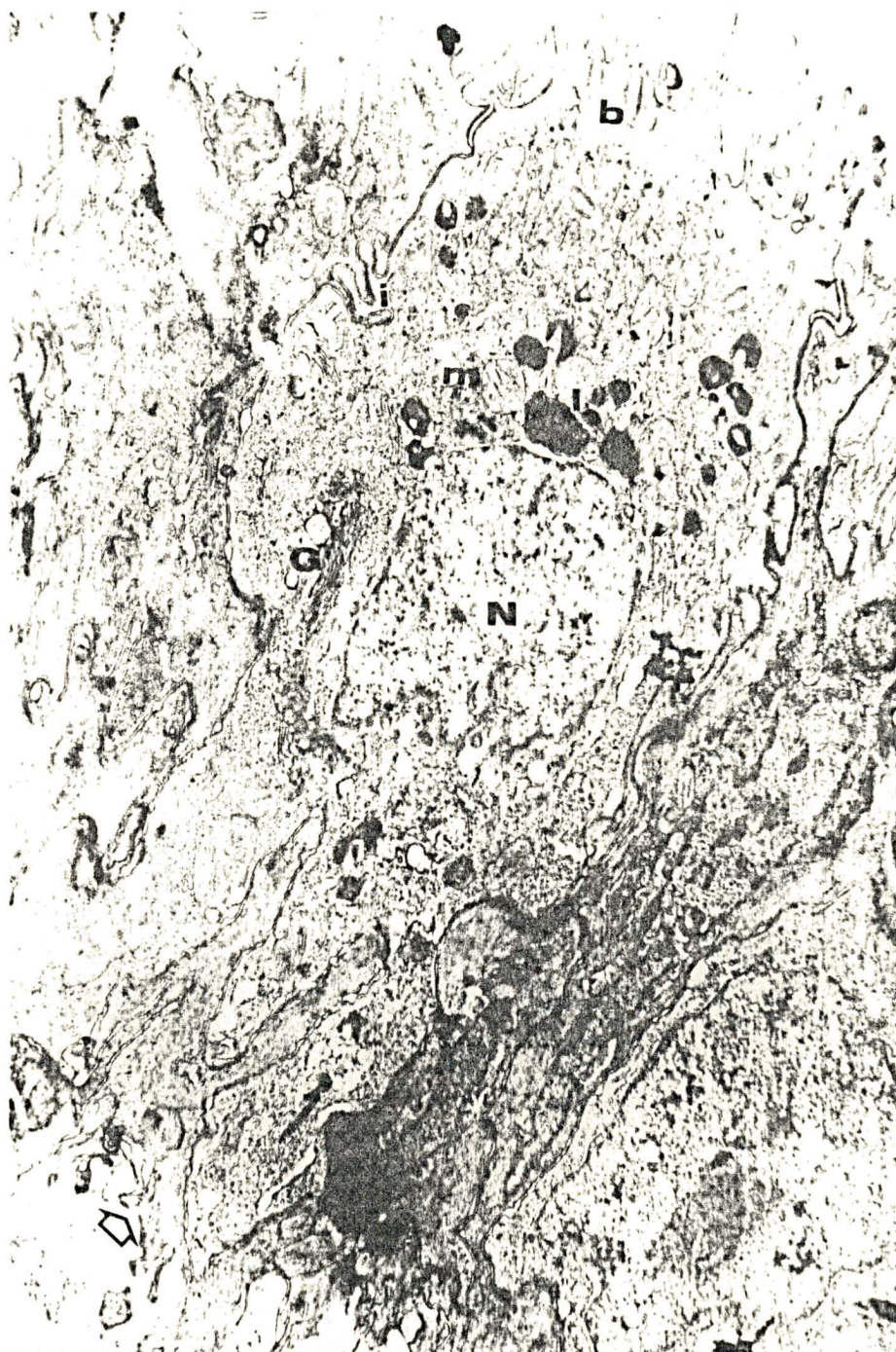


Fig. 22 - *B. occidentalis*. Região anterior do pé. Núcleo (N); Golgi (G); mitocôndria (m); junção de adesão (j); interdigitações (i); vesículas lisossomais (l); corpo basal do cílio (b); projeções celulares (seta). 19.150 x.



Fig. 23 - *B. occidentalis*. Região anterior do pé. Célula ciliada. Corpo ciliar (c); corpo basal (b); raiz ciliar (r); pé basal (seta). Detalhe: Corte transversal de cílio. 18.189 x e 86.960 x.



Fig. 24 - B. occidentalis. Região anterior do pé.  
Junção septada.  
103.740 x.

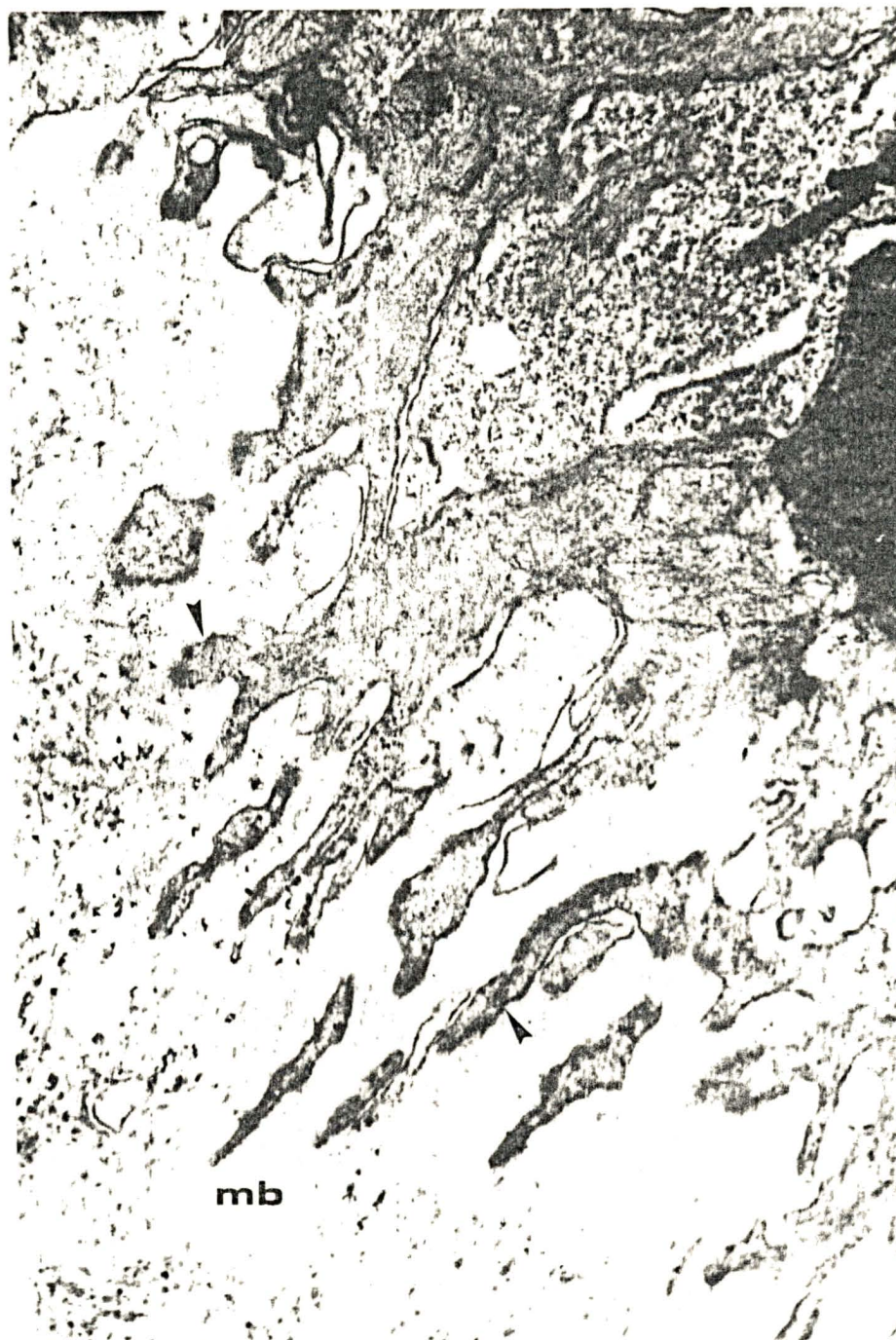


Fig. 25 - *B. occidentalis*. Região anterior do pé.  
Projeções celulares (▶) ; membrana basal  
(mb).  
139.956 x.