

Aplicação de técnicas histoquímicas e citoquímicas no aparelho digestivo do molusco marinho *Bulla striata*

Elsa Oliveira¹, Ângela Alves¹, Gonçalo Calado^{2,3} e Alexandre Lobo da Cunha^{1,4}

¹ Lab. de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), Universidade do Porto. ² Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa. ³ Centro de Modelação Ecológica, IMAR, FCT/UNL, Caparica. ⁴ Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR), Porto

Introdução

Os cefalopóides são um grupo de gastrópodes marinhos que incluem espécies herbívoras e carnívoras. Devido a esta diversidade na sua dieta, é interessante investigar as relações entre o tipo de alimentação e as características do aparelho digestivo dos cefalopóides. *Bulla striata* é uma das espécies herbívoras que se encontra na costa do Algarve.

Objetivos

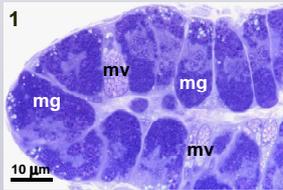
Efectuar um estudo comparativo do aparelho digestivo dos cefalopóides utilizando diversas técnicas histoquímicas e de citoquímica ultraestrutural.

Material e Métodos

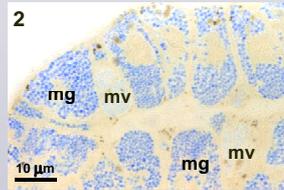
Amostras de glândulas salivares e esófago de *Bulla striata* foram fixadas com 2,5% de glutaraldeído e 4% de paraformaldeído diluídos em tampão cacodilato de sódio 0,4 M, pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2%, desidratadas e incluídas em Epon. Aplicaram-se em cortes semifinos (2 µm) as seguintes técnicas: PAS (polissacarídeos), azul de alciano a pH 1 e pH 2,5 (polissacarídeos ácidos), reacção acoplada com sal de tetrazónio (proteínas) e negro Sudão (lípidos). O Epon foi retirado dos cortes antes das colorações com azul de alciano. No estudo ultraestrutural foram aplicadas técnicas para detecção de polissacarídeos (reacção Thiéry e ácido tânico) e polissacarídeos ácidos (ferro coloidal).

Resultados

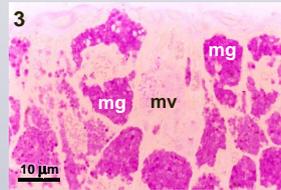
Figuras 1 a 8: Cortes semifinos e ultrafinos das glândulas salivares. Figuras 9 a 14: Cortes semifinos e ultrafinos do esófago.



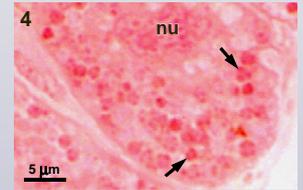
1. Coloração com azul de metileno e azure II, mostrando dois tipos de células secretoras: mucócitos granulares (mg) e mucócitos vacuolares (mv).



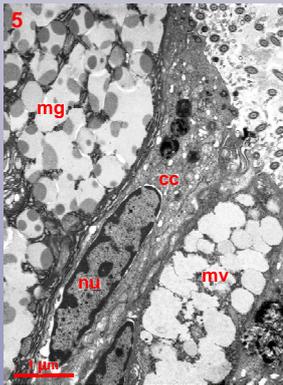
2. A coloração com azul de alciano a pH 1 e 2,5 marca fortemente os mucócitos granulares (mg) e muito ligeiramente os mucócitos vacuolares (mv).



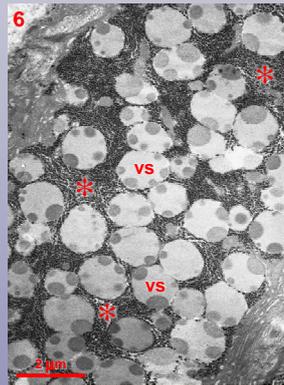
3. A reacção PAS cora fortemente o citoplasma dos mucócitos granulares (mg), mas os mucócitos vacuolares não apresentam coloração (mv).



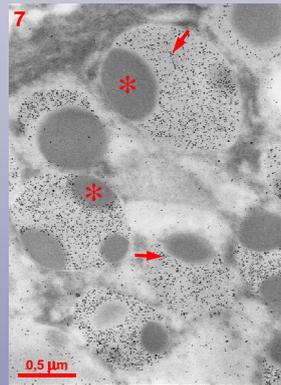
4. A reacção com sal de tetrazónio permite detectar proteínas no interior das vesículas de secreção dos mucócitos granulares (setas). nu - núcleo



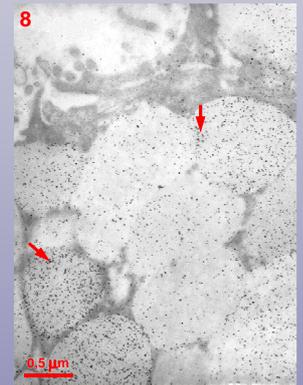
5. Aspecto ultraestrutural das células ciliadas (cc), mucócitos granulares (mg) e mucócitos vacuolares (mv) das glândulas salivares. nu - núcleo



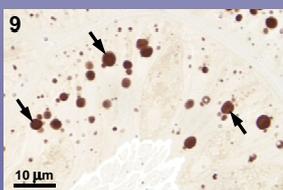
6. A reacção de Thiéry marca o glicogénio (asteriscos) que é abundante em volta das vesículas de secreção (vs) dos mucócitos granulares.



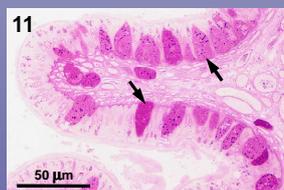
7. Nas vesículas dos mucócitos granulares, o ferro coloidal (setas) marca os polissacarídeos ácidos e não a parte proteica da secreção (asteriscos).



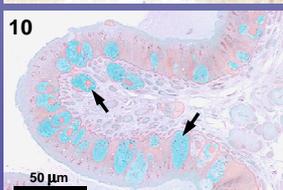
8. A secreção dos mucócitos vacuolares contém polissacarídeos ácidos que são marcados pelas partículas de ferro coloidal (setas).



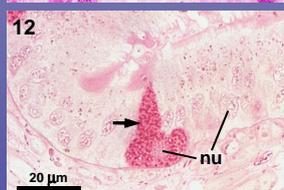
9. Gotículas lipídicas nas células epiteliais coradas com negro sudão (setas).



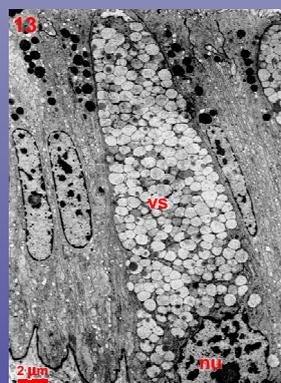
11. A reacção PAS cora as células secretoras do esófago (setas).



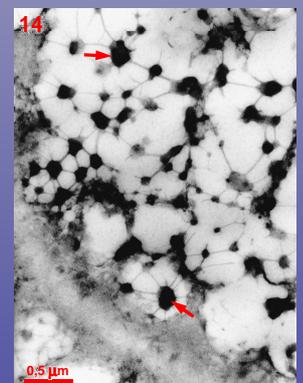
10. Células secretoras do esófago coradas com azul de alciano (setas).



12. Célula secretora corada pela reacção com sal de tetrazónio (seta). nu - núcleo



13. Corte ultrafino mostrando uma célula secretora do esófago com núcleo basal (nu) e o citoplasma com numerosas vesículas de secreção (vs).



14. A contrastação com ácido tânico e acetato de urânio põe em evidência os polissacarídeos (setas) nas vesículas das células secretoras do esófago.

Conclusão

A aplicação de técnicas histoquímicas e citoquímicas revelou-se fundamental para a caracterização dos diferentes tipos celulares existentes no aparelho digestivo dos cefalopóides. Os estudos já efetuados sugerem que nas glândulas salivares das espécies herbívoras predomina a secreção de polissacarídeos ácidos, enquanto nas espécies carnívoras se verifica um aumento da secreção de proteínas.

Referências

- Lobo-da-Cunha, A. and Calado, G. (2008) Histological and ultrastructural study of the salivary glands of *Bulla striata* (Mollusca, Opisthobranchia). *Invert. Biol.* 127: 33-44
Lobo-da-Cunha, A., Oliveira, E., Alves, A., Coelho, R. and Calado, G. (2010) Light and electron microscope of the anterior esophagus of *Bulla striata* (Mollusca, Opisthobranchia). *Acta Zool.* 91: 125-138
Lobo-da-Cunha, A., Oliveira, E., Ferreira, I., Coelho, R. and Calado, G. (2010) Histochemical and ultrastructural characterization of the posterior esophagus of *Bulla striata* (Mollusca, Opisthobranchia). *Microsc. Microanal.* 16: 688-698