

ESTUDO DAS GLÂNDULAS SEXUAIS ACESSÓRIAS DO APARELHO REPRODUTOR FEMININO DE *BOOPHILUS MICROPLUS* (CAN. 1887) (ACARINA: IXODIDAE)

TATIANA MONTANARI*, SÔNIA MARIA LAUER DE GARCIA**
e CASIMIRO GARCIA FERNANDEZ***

Departamento de Ciências Morfológicas, Instituto de Biociências, UFRGS, 90050 Porto Alegre, RS

(Com 3 figuras)

RESUMO

As glândulas sexuais acessórias de fêmeas completamente ingurgitadas e em processo de ingurgitamento do carrapato bovino *Boophilus microplus* (Can. 1887) foram estudadas quanto a sua morfologia e histologia. Alguns testes histoquímicos também foram realizados. Trata-se de um par de glândulas tubulares simples, cujos ductos excretorios abrem-se dorso-lateralmente na vagina, no limite desta com o receptáculo seminal. As células secretoras são cuneiformes, com núcleos grandes, de cromatina compacta e com dois nucléolos geralmente. Estas células apresentam grânulos de natureza protéica e glicídica. A secreção é liberada sob forma coloidal, composta principalmente por polissacarídeos. Núcleos próximos ao lúmen da glândula e núcleos adjacentes à superfície basal das células secretoras foram observados. Uma membrana externa à membrana basal foi visualizada.

Palavras-chave: *Boophilus microplus*, Ixodidae, glândulas sexuais acessórias, aparelho reprodutor, morfologia.

ABSTRACT

Study of the Accessory Genital Glands of the Female Reproductive System of *Boophilus microplus* (Can. 1887) (Acarina: Ixodidae)

The accessory genital glands of fully engorged and partially engorged females of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can. 1887) were studied concerning to its morphology and histology. Some histochemical tests were realized too. They are a pair of simple tubular glands which ducts open dorso-laterally into the vagina near the limit with the receptaculum seminis. The secretory cells are wedge-shaped, have large nuclei with compact chromatin and fre-

Recebido em 12 de março de 1992

Aceito em 14 de setembro de 1992

Distribuído em 31 de maio de 1994

*Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia, UFRGS, bolsista da FAPERGS.

**Profª Adjunta do Departamento de Ciências Morfológicas da UFRGS.

***Profª Adjunto do Instituto de Biociências da PUC-RS e do Departamento de Ciências Morfológicas da UFRGS.

quently two nucleoli. These cells have protein and polysaccharide granules. The secretion is liberated like colloid, composed mainly of polysaccharides. Nuclei near the lumen of the gland and nuclei adjacent to the basal surface of the secretory cells were observed. A membrane external to the basal one was visualized.

Key words: *Boophilus microplus*, Ixodidae, accessory genital glands, reproductive system, morphology.

INTRODUÇÃO

O aparelho reprodutor feminino de *Boophilus microplus* (Can. 1887) foi descrito por Garcia *et al.* (1987) em sua morfologia e histologia, incluindo as glândulas sexuais acessórias. Descrições do aparelho reprodutor de fêmeas de outros carrapatos também foram realizadas por diversos autores, entretanto a maioria (Robinson e Davidson, 1914; Douglas, 1943; Khalil, 1969; Londt e Spickett, 1976) se limitou a situar as glândulas sexuais acessórias no aparelho reprodutor. Outros, como Lees e Beament (1948), Arthur (1962) e Khalil (1970; 1972), acrescentaram algumas observações histológicas: formato em cunha das células secretoras, núcleos grandes nestas células, lúmen da glândula estreito e presença de cutícula no interior dos ductos excretores. Chinery (1965), porém, realizou uma descrição histológica mais detalhada sobre as glândulas de *Haemaphysalis spinigera* Neumann, 1897. Visualizou grãos acidófilos no citoplasma das células secretoras das glândulas sexuais acessórias e os analisou histoquimicamente. Garcia *et al.* (1987) observaram grãos eosinófilos nas glândulas sexuais acessórias de *B. microplus*.

A presença de gotas de colóide foi mencionada por Robinson e Davidson (1914) nas glândulas sexuais acessórias de *Argas persicus* (Oken), Douglas (1943) em *Dermacentor andersoni* Stiles, Lees e Beament (1948) em *Ornithodoros moubata* Murray e Chinery (1965) em *H. spinigera*. Robinson e Davidson (1914) e Douglas (1943) sugeriram que esta secreção coloidal atua como lubrificante, facilitando a extrusão do ovo através da vagina.

Chinery (1965), por sua vez, observou que as glândulas sexuais acessórias de *H. spinigera* aumentam de volume com o ingurgitamento e suas células se alteram histológica e histoquimicamente, sendo que, nos animais completamente ingurgitados, havia abundância de grânulos eosinófilos, protéicos, e, nas fêmeas quase em ovi-

posição, este material granular era liberado sob forma coloidal no lúmen, apontando uma relação entre a postura e as glândulas sexuais acessórias.

Trabalhos sobre a casca do ovo dos carrapatos são escassos. Lees e Beament (1948) analisaram a casca do ovo de *O. moubata* da família Argasidae e de *I. ricinus* da família Ixodidae. No primeiro animal, verificaram a presença da "camada da casca" interna, secretada pelo próprio oócito, quando no ovário; uma camada incompleta de grânulos com grupos aldeídos, secretada no útero e uma cobertura externa de cera aplicada pelo órgão de Gené, após dois a três dias de incubação. No segundo animal, constataram a presença de uma camada incompleta de cera antes do ovo passar pelo órgão de Gené, sugerindo que esta camada seja secretada pelas células que revestem a região cervical da vagina, pelas glândulas sexuais acessórias tubulares ou pelas glândulas sexuais acessórias lobadas existentes neste carrapato.

Chinery (1965) também observou a presença de uma camada incompleta de cera no ovo de *H. spinigera* antes dele passar pelo órgão de Gené. Com base na similaridade histoquímica das células das glândulas sexuais acessórias (tubulares) e da glândula do órgão de Gené e pela ausência de glândulas lobadas acessórias, sugeriu que as glândulas sexuais acessórias fornecessem esta camada.

Booth *et al.* (1984) observaram, em seu trabalho sobre *B. microplus*, que não se tem conhecimento se os lipídios presentes na cera são originados do órgão de Gené ou se são aplicados no ovo durante sua passagem pelo oviduto. Este mesmo autor, analisando a ultraestrutura das células secretoras do órgão de Gené, constatou que o seu principal produto é lipoprotéico, enquanto as células das glândulas acessórias do órgão de Gené, presentes somente na família Ixodidae e de máximo desenvolvimento no início da oviposição, sintetizam lipídeos.

No presente trabalho, através da descrição da morfologia e da histologia das glândulas sexuais acessórias de *B. microplus* e da realização de alguns testes histoquímicos para avaliar a natureza de sua secreção, pretende-se fornecer subsídios para elucidar o papel das glândulas sexuais acessórias no aparelho reprodutor feminino dos carrapatos.

MATERIAL E MÉTODOS

Fêmeas de *B. microplus* em ingurgitamento e completamente ingurgitadas, em número de cinquenta, foram coletadas diretamente do hospedeiro (boi) na zona rural de Porto Alegre, Caxias do Sul e Nova Petrópolis. Foram mantidas em temperatura de cerca de 4°C por um a cinco dias até serem dissecadas.

A dissecação foi realizada com o auxílio de um microscópio estereoscópico, colocando o animal sobre uma fita adesiva de dupla face, em uma placa de Petri com parafina endurecida. Formol 10% foi usado para fixar o material já durante a dissecação e azul de metileno para melhor contrastá-lo. O aparelho reprodutor foi retirado, com exceção do ovário e de parte dos ovidutos.

Para a análise topográfica, este material, fixado em formol 10%, foi preparado "in toto" sobre lâmina e fotografado em microscópio óptico.

Para o estudo histológico, as peças de aparelho reprodutor foram fixadas em formol 10%, emblocadas em parafina, e os cortes de 7µm de espessura foram corados por Hematoxilina e Eosina.

Para o estudo histoquímico, foram utilizados diferentes fixadores segundo a técnica empregada: álcool-ácido acético para Feulgen e Alcian Blue, formol neutro tamponado para Xylidine de Ponceau e PAS, e formol de Holt para Fast Green e Sudan III.

As peças fixadas em álcool-ácido acético e formol neutro tamponado foram incluídas em parafina e seccionadas com 7µm de espessura, enquanto das peças fixadas em formol de Holt foram obtidos cortes por congelamento de 7µm de espessura para o Fast Green e 15 µm para o Sudan III.

A técnica de Feulgen foi utilizada para identificar DNA, Xylidine de Ponceau para radicais protéicos e Fast Green a pH = 8 para proteínas básicas. O PAS foi utilizado para identificação de

polissacarídeos, Alcian Blue para glicosaminoglicanas e Sudan III para lipídeos.

RESULTADOS

As glândulas sexuais acessórias de *B. microplus* são exócrinas e tubulares simples. Seu desenvolvimento está relacionado com o ingurgitamento, sendo que as fêmeas completamente ingurgitadas possuem glândulas maiores. Os ductos excretores abrem-se na vagina dorso-lateralmente, na junção desta com o receptáculo seminal (Fig. 1).

O epitélio das glândulas é simples, com células cuneiformes, cujos núcleos ovóides chegam a ocupar mais de um terço de seu volume, em posição mediana ou submediana (Figs. 2, 3). Sua cromatina é altamente condensada, e dois ou três nucléolos estão presentes.



Fig. 1 — Vista dorsal do aparelho reprodutor feminino de *B. microplus*, mostrando a fixação dos ductos das glândulas sexuais acessórias na vagina (seta). V — vagina; GA — glândulas sexuais acessórias; RS — receptáculo seminal. Aumento: 80x.

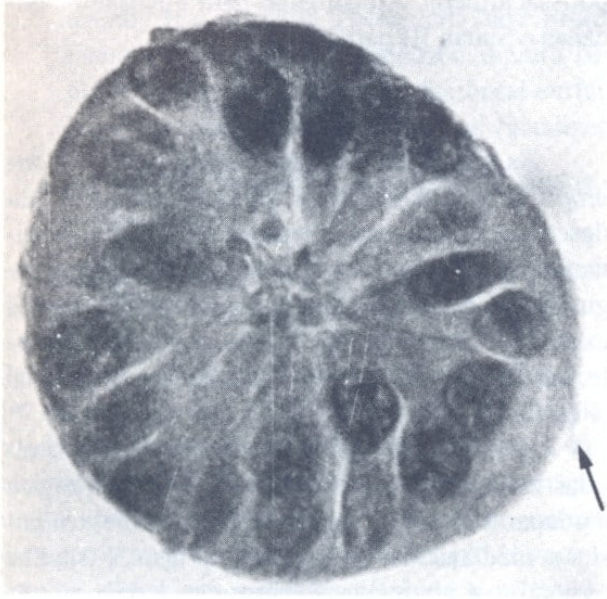


Fig. 2 — Corte transversal da glândula sexual acessória de *B. microplus*, mostrando as células secretoras e os núcleos pequenos junto ao lúmen. A seta indica a membrana externa à membrana basal. Coloração: H/E. Aumento: 250 \times .

O citoplasma, quando corado por H/E, mostra-se densamente preenchido por grânulos eosinófilos. Estes responderam positivamente às técnicas de Xylidine de Ponceau, Fast Green e PAS.

Na luz da glândula, o material coloidal se corou levemente pelo Fast Green e intensamente pelo PAS.

Não foram encontrados lipídios nas glândulas.

Junto ao lúmen, observaram-se pequenos núcleos redondos, de cromatina frouxa (Figs. 2, 3), que foram comprovados através da técnica de Feulgen. Esta técnica também demonstrou a presença de alguns núcleos pequenos e achatados adjacentes à superfície basal das células secretoras (Fig. 3).

Externamente à membrana basal, foi visualizada, por H/E e pelo PAS, uma segunda membrana (Fig. 2).

DISCUSSÃO

B. microplus, como a maioria dos carrapatos, possui glândulas sexuais acessórias tubulares, sendo ausentes as glândulas lobadas. A abertura dos ductos das glândulas sexuais acessórias deste animal estão em posição diferente da maioria, já que sua vagina é diferente. Geralmente, nos carra-

patos, a vagina se divide em duas regiões histologicamente distintas: a vagina vestibular (junto à abertura genital) e a vagina cervical, e as glândulas tubulares acessórias se abrem na vagina vestibular perto da vagina cervical. Somente a vagina cervical é envolvida por feixes musculares. Em *B. microplus*, a vagina é totalmente envolvida por músculos circulares. As glândulas sexuais acessórias, neste carrapato, como em *B. decoloratus*, *H. spinigera* e *O. moubata*, onde também não foram descritas vagina vestibular e cervical, abrem-se na vagina, próximo ao receptáculo seminal e ao útero (quando este é presente).

As glândulas sexuais acessórias, nas diversas espécies, são semelhantes histologicamente: um epitélio de células em forma de cunha delimi-



Fig. 3 — Desenho de parte da glândula sexual acessória em corte longitudinal, mostrando, além das células secretoras, os núcleos pequenos junto ao lúmen e os núcleos achatados adjacentes à superfície basal. Aumento: 360 \times .

tam um lúmen estreito. Os núcleos destas células apresentam cromatina compacta em *B. microplus*, enquanto em *H. spinigera* se tornam vesiculares com o ingurgitamento. No presente trabalho, foi registrada a presença de dois ou três nucléolos nos núcleos das células secretoras, o que indica uma intensa atividade de transcrição para a síntese protéica.

Foram observados grânulos acidófilos em abundância no citoplasma das células em cunha, o que já havia sido mencionado por Garcia *et al.* (1987) em *B. microplus* e por Chinery (1965) em *H. spinigera*. Os testes histoquímicos realizados neste trabalho demonstraram que os grânulos consistem de proteínas básicas e polissacarídeos, exceptuando-se as glicosaminoglicanas. A composição protéica dos grânulos também foi constatada por Chinery (1965), verificando que eram de proteínas básicas, ricas em grupo tirosina. Estes grânulos, entretanto, não continham polissacarídeos.

No lúmen, a secreção granular se torna coloidal, como também havia sido observado por Chinery (1965). Outros autores registraram a presença de gotas de colóide nas glândulas. A composição do colóide na luz da glândula de *B. microplus* é principalmente glicídica. Grânulos com radicais protéicos e com polissacarídeos também foram visualizados.

Os núcleos pequenos e de cromatina frouxa próximos ao lúmen da glândula podem pertencer a células que tenham algum papel em modificar a secreção de granulosa à coloidal na sua passagem entre as células secretoras e a luz da glândula. Estes núcleos, também citados por Garcia *et al.* (1987), são semelhantes aos núcleos do ducto excretor, descritos por estes autores, entretanto uma interiorização do ducto na glândula não está clara.

Os núcleos pequenos e achatados localizados externamente às células secretoras podem pertencer a células mioepiteliais ou a células pavimentosas que envolvem a glândula.

Khalil (1970; 1972) e Garcia *et al.* (1987) mencionaram o revestimento interno dos ductos das glândulas sexuais acessórias por cutícula, contínuo ao da vagina, porém não há menção de um revestimento externo das glândulas, após sua membrana basal, como foi observado no presente trabalho. Esta membrana foi vista, em algumas lâminas, como se estivesse sofrendo descamação,

sugerindo que se tratasse de um revestimento de cutícula.

O maior desenvolvimento das glândulas sexuais acessórias com o ingurgitamento e o aumento da liberação de sua secreção ao atingir a oviposição sugerem que a sua função esteja relacionada com a postura, seja como parte da cobertura do ovo ou talvez como lubrificante, facilitando a extrusão do ovo pela vagina. A ausência de lipídios na composição da secreção das glândulas indica que os lipídios em abundância na cera do ovo deste carrapato não sejam oriundos das glândulas sexuais acessórias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTHUR, D. R., 1962, *Ticks and Disease*. Pergamon Press, Oxford, pp. 170-213: Reproduction, Development and Life Histories.
- BOOTH, T. F., BEADLE, D. J. and HART, R. J., 1984, Ultrastructure of the accessory glands of Gené's organ in the cattle tick, *Boophilus*. *Tissue & Cell*, 16(4): 589-599.
- CHINERY, W. A., 1965, Studies on the various glands of the tick *Haemaphysalis spinigera* Neumann, 1897. Part II. Studies on the ovary, oviduct, tubular accessory genital gland and Gené's organ. *Acta Tropica*, 22(3): 247-266.
- DOUGLAS, J. R., 1943, The internal anatomy of *Dermacentor andersoni* Stiles. *Univ. Calif. Publ. Entomol.*, 7: 207-272.
- GARCIA, C. F., GARCIA, S. L. e SILVA, V. M., 1987, Morfoanatomia e histologia do aparelho reprodutor feminino de *Boophilus microplus* (Acari, Ixodidae). *Acta Biol. Par.*, 6 (1,2,3,4): 1-13.
- KHALIL, G. M., 1969, Biochemical and physiological studies of certain ticks (Ixodoidea). Gonad development and gametogenesis in *Argas (Persicargas) arboreus* Kaiser, Hoogstraal and Kohls (Argasidae). *J. Parasitol.*, 55(6): 1287-1297.
- KHALIL, G. M., 1970, Biochemical and physiological studies of certain ticks (Ixodoidea). Gonad development and gametogenesis in *Hyalomma (H.) anatolicum excavatum* Koch (Ixodidae). *J. Parasitol.*, 56(3): 596-610.
- KHALIL, G. M., 1972, Gonad development in the partenogenetic *Haemaphysalis (kaiseriana) longicornis* Neumann (Ixodoidea: Ixodidae). *J. Parasitol.*, 58(4): 817-823.
- LEES, A. D. and BEAMENT, J. W. L., 1948, An egg-waxing organ in ticks. *Quart. J. Micr. Sci.*, 89: 291-332.
- LONDT, J. G. H. and SPICKETT, A. M., 1976, Gonad development and gametogenesis in *Boophilus decoloratus* (Koch, 1844) (Acarina: Metastriata: Ixodidae). *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 43(3): 79-96.
- ROBINSON, L. E. and DAVIDSON, J., 1914, The anatomy of *Argas persicus* (Oken, 1818). Part 3. *Parasitology*, 6: 382-424.