

**PROPOSTA METODOLÓGICA PARA ESTUDO DA RÁDULA DE
MARGINELLIDAE (GASTROPODA: PROSOBRANCHIA) ATRAVÉS
DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA**

Andréa Karla Pereira da SILVA¹
Múcio Luiz Banja FERNANDES²
Sec. de Educação da Prefeitura da Cidade do Recife¹
FFPNM - FESP/UPE²

RESUMO

Desde muito tempo a sistemática de moluscos gastrópodos vem sendo baseada principalmente na observação dos aspectos conquiológicos, que são muito úteis na determinação dos grupos dentro dessa classe. Muitos pesquisadores, porém, vêm somando a essas características, outros fatores de classificação, entre eles o estudo da composição da rádula. Através da análise de diferentes técnicas de preparação de rádulas, tentou-se desenvolver uma metodologia que oferecesse eficiência, rapidez e facilidade na obtenção desse material para estudo. Com a análise da rádula por Microscopia Eletrônica de Varredura, apresentada neste trabalho, foi possível verificar detalhes da sua forma e composição que em muito podem contribuir na identificação de espécies de gastrópodos marginelídeos e, até mesmo, de outros grupos de moluscos com sistemática heterogênea.

Palavras chave: Microscopia eletrônica, rádula, Marginellidae, Gastropoda.

ABSTRACT

Study of the Radulae of Marginellidae (Gastropoda: Prosobranchia) across the Eletronic Microscopy: Metodological proposed.

Since the past the mollusks gastropods systematics has been based on conquiological aspects, that are very important to the determonation of groups inside this class. However, many researchers are using other events to identify like the radulae, for example. Studying some technicals to prepare the radulae, it was tried to develop a quick and efficient methodology to obtain this matherial to study, across the eletronic microscopy to provide ease the observations of the characteristics and details of their form and struture, helpness on the identify of the gastropods species.

Key words: Eletronic microscopy, radulae, Marginellidae, Gastropoda

INTRODUÇÃO

Desde muito tempo, a sistemática de gastrópodos vem sendo baseada, principalmente, na observação de caracteres conquiológicos, que são muito úteis na determinação dos grupos dessa Classe. Muitos pesquisadores, porém, vêm somando à essas características, outros fatores de classificação, não menos importantes, que oferecem maiores subsidios na classificação dos gêneros e espécies. Dessa maneira, estudos de partes internas dos moluscos têm facilitado a

classificação de muitos gastrópodos com sistemática heterogênea, como os marginelídeos.

O estudo da rádula desses animais, surge, portanto, do fato de que, de acordo com COOVERT (1989), essa estrutura é extremamente importante na classificação desse grupo, embora tenha-se notado, ou ao menos suscitado, a ausência de rádula em algumas de suas espécies. Diante dessa premissa, diversas pesquisas foram realizadas em busca de um método de estudo de rádula mais eficaz. Em todos os trabalhos revisados, notou-se que os autores após extrair a rádula, desenhavam e/ou preparavam lâminas definitivas com suas placas raquidianas, o que implicava em um processo demorado, complexo e passível de erros.

Baseando-se em informações sobre método de preparação de rádula proposto por CALVO (1987) e por COOVERT (op. cit.), adaptou-se uma metodologia para a extração e preparação de rádula. Embora essa extração possa seguir qualquer método já descrito, a observação dessa estrutura através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) vem a oferecer um resultado mais preciso, uma vez que a rádula é, nesse caso, diretamente fotografada em três dimensões, facilitando um estudo mais detalhado da mesma.

MATERIAL E MÉTODOS

Para esse estudo, foram escolhidos cinco espécimes de *Volvarina Hinds*, 1844, provenientes da Plataforma Continental do Estado do Pará (Comissão Oceanográfica GEOMAR - 1968). Os exemplares se encontravam imersos em álcool 70%, aos cuidados do Setor de Bentos do Departamento de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco.

Extração da Rádula

Como o material estava imerso em álcool durante muito tempo, a concha foi inicialmente mergulhada em água potável durante 72 h, a fim de promover a rehidratação e o abrandamento de seus tecidos. Para a extração da rádula, foi necessário a retirada das partes moles de dentro da concha do animal, de maneira que sua cabeça permanecesse parcialmente inteira. As conchas foram quebradas com o auxílio de pequenas pinças e alicates. Antes, porém, realizou-se as medidas morfométricas de comprimento e largura de cada concha, bem como buscou-se conservar outros exemplares com conchas inteiras da mesma espécie.

As partes moles dos animais foram, então, depositadas individualmente em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo solução de KOH em concentrações de 5%, para que houvesse maior facilidade no desprendimento da rádula. Nessa solução, os exemplares permaneceram mergulhados por um período de 24 h a 72 h, ou até que seus tecidos estivessem dissolvidos. Decorrido esse tempo, as placas de Petri foram conduzidas à lupa binocular, para proceder a procura da rádula do animal no material sobrenadante da solução, com ajuda de estilete e pincel fino. A rádula foi então transferida para uma lâmina de microscópio, onde sofreu desidratação, através de gotejamento de

álcool em concentrações crescentes de 50%, 60%, 70%, 90% até álcool absoluto. Após esse processo, colocou-se uma lamínula sobre a lâmina com a rádula, no intuito de evitar sua perda bem como o contato com poeira, sendo posteriormente guardada em câmara à vácuo, contendo sílica gel.

Preparação da rádula para MEV

Com a ajuda de um pincel muito fino sob lupa binocular a rádula foi transferida da lâmina de microscópio e seguindo os tratamentos usuais de amostras conquiológicas para MEV citada por BARROS (1996), foi transferida para suportes de alumínio, cuja superfície estava encoberta por fita adesiva dupla face. Teve procedimento então, a metalização do material sob baixa temperatura, com ouro "Standard", sendo depositado fina camada sobre a superfície do suporte. Após a metalização, a rádula foi analisada e fotografada ao MEV "JEOL" de alto vácuo, modelo T-200, do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA/UFPE. Os suportes metálicos usados na fixação das rádulas foram numerados para sua identificação, e armazenados em câmaras à vácuo, contendo sílica gel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Gênero *Volvarina* Rinds, 1844

Conchas de tamanho médio, cor branca à creme, superfície lisa, lustrosa, forma alongada à moderadamente cilíndrica, espira baixa, ombro fraco, abertura estreita, lábio espesso, liso com varise externa, columela com 4 plicações columelares, ocupando menos da metade do comprimento da abertura da concha.

Composição da rádula

Rádula Uniserial, composta de placas raquidianas multicúspides, sobrepostas, planas em vista superior, ligeiramente curva na extremidade das cúspides quando vistas lateralmente, forma de pente retangular, cada placa raquidiana possuindo uma cúspide central, com onze cúspides de cada lado, sendo duas delas de tamanho intermediário, resultando num total de 23 cúspides por placa (Figuras 1a e 1b).

COOVERT (1987) publicou uma metodologia para preparação de rádula de Marginellidae. Nesse mesmo ano, CALVO (1987) descreveu uma metodologia para preparação de rádula de gastrópodos marinhos. Diante das particularidades do material aqui estudado, como tamanho da concha, tempo de armazenamento do material em álcool, ressecamento, bem como deterioração de suas partes moles, foi necessário realizar uma adaptação desses métodos a fim de viabilizar este estudo.

Independentemente do método utilizado na extração de preparação da rádula de marginelídeos, diversos trabalhos foram publicados, sugerindo modelos de rádulas para várias espécies desse grupo. Para o gênero *Volvarina*, COAN & ROTH (1976) usaram a rádula para descrever as espécies *Volvarina avena* Kiener, 1834; *V. dunkeri* Kraus, 1848; *V. nyssa* Coan e Roth, 1971; *V. obscura* Reeve, 1865; *V. philippinarum* Redfield, 1848 e *V. taeniolata* Moch, 1860. COOVERT (1987), discutiu sobre as rádulas de *Volvarina* e descreveu a rádula de *Volvarina bilineata* Krauss 1848 e *V. nevillei* Jousseume, 1875. BANDEL (1984) descreveu a rádula de duas espécies de *Volvarina* ainda desconhecidas.

COOVET (1989) sugere a existência de tipos de rádula diferentes para cada espécie e apresenta sete "modelos tipos" para moluscos margineliformes, onde o gênero *Volvarina* está classificado no "tipo seis": rádula unisserial, relativamente curta, variada, composta por placas raquidianas curtas, sobrepostas, em forma de pente, planas. Através da observação da rádula de exemplares de *Volvarina* sp, verificou-se neste trabalho, que suas placas raquidianas vistas ao MEV com aumento de 30.000 a 50.000 vezes em posição frontal e lateral, não se apresenta plana, pois há uma ligeira curvatura nas suas cúspides.

CONCLUSÕES

A Microscopia Eletrônica de Varredura consiste num método de maior precisão para o estudo da rádula de marginelídeos, em relação aos métodos já publicados, uma vez que a observação direta, bem como a fotografia em visão tridimensional do material oferece maiores detalhes e elimina a possibilidade de erros passíveis de ocorrerem através do desenho.

Entre as diversas rádulas de espécies de *Volvarina* já descritas, não foi encontrada nenhuma que representasse a composição de cúspides raquidianas semelhantes ao modelo encontrado neste trabalho.

O modelo da rádula aqui encontrado confirma a teoria de que a rádula consiste de um padrão taxonômico de validade específica, tendo em vista os diferentes modelos para cada espécie até então estudadas nesse trabalho e por outros pesquisadores.

AGRADECIMENTOS

Ao laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA/UFPE, especialmente ao laboratorista Rafael, pelo apoio concedido, bem como pelos equipamentos utilizados na preparação das rádulas para Microscopia Eletrônica de Varredura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANDEL, K. The radulae of caribbean and other Mesogastropoda and Neogastropoda. *Zoologosche Verhandelingen*. 204: 1-118. 1984.

BARROS, J. C. N. Família Aclididae G. O. Sars, 1878 (Mollusca, Gastropoda) na Plataforma Continental e em águas profundas no Nordeste do Brasil: Revisão das espécies viventes no Atlântico. *Dissertação* (Mestrado). UFPE. Recife. 197 p. 1996.

CALVO, I. S. Rádulas de gastrópodos marinhos brasileiros. Ed FURG. Fundação Universidade do Rio Grande, RS. 201 p. 1987.

COAN, E. V. & ROTH, B. Status the genus *Hialina* Schumacher, 1817. (Mollusca: Gastropoda). *Journal of Molluscan Studies*. 42: 217-222. 1976.

COOVERT, G. A. & COOVERT, H. K. Preparation of Marginellidae Radulae. *Marginella Marginalia*. 2(4): 20-30. 1987.

COOVERT, G. A. Proper usage of the generic names *Haluginalla*, *hialina* and *Volvarina*, with a diagnosis of the genus *Haluginalla*. *Marginella Marginalia*. 3(1): 1-5. 1987.

COOVERT, G. A. A literature review and summary of published marginellid radulae. *Marginella Marginalia*. 7 (1-6): 27-32.