



MORFOLOGIA DO APARELHO REPRODUTOR DO DIPLOPODA CAVERNÍCOLA PSEUDONANNOLENE TOCAIENSIS: IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS

Vanessa Cabreira de FREITAS; Carmem Silvia FONTANETTI

Depto de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, UNESP-Rio Claro.
Av. 24 A n.1515, CP. 199, Rio Claro, SP, Brasil, CEP: 13506-900 – vanessacabreira@hotmail.com

RESUMO

Entre os diplópodos cavernícolas, representantes do gênero *Pseudonannolene* são os mais freqüentes e aparentemente os mais adaptados à vida subterrânea. Estudos sobre a morfologia interna de diplópodos são raros e a análise da anatomia dos seus sistemas reprodutivos e gametas tem possibilitado discussões acerca da filogenia do grupo. Este trabalho traz a análise da morfologia dos sistemas reprodutores masculinos e femininos da espécie cavernícola *Pseudonannolene tocaiensis* Fontanetti, 1996, uma vez que estas estruturas podem auxiliar na discussão de questões filogenéticas e na elucidação de dúvidas existentes na sistemática do grupo.

ABSTRACT

The *Pseudonannolene* genus is the most frequent among cavernicolous diplopods and probably it is the most adapted to epigeal life. Studies concerning the internal morphology of millipedes are scarce and the analysis of the anatomy reproductive system and gametes has generated discussions concerning the phylogeny of the group. The present work reports the morphological studies of male and female reproductive systems of cavernicolous species *P. tocaiensis* Fontanetti, 1996, once these structures can help in the systematic of the group and phylogenetics problems.

Palavras-chave: cavernícola, diplopoda, filogenia, ovário, *Pseudonannolene*, testículo.

INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

Os diplópodos são conhecidos geralmente como milípedes, em alusão ao número de pernas que possuem, e mais vulgarmente como piolho-de-cobra, emboás, gongolô, etc. Já foram descritas cerca de 10.500 espécies. e segundo GOLOVATCH et al. (1995) a estimativa para o grupo é de cerca de 80.000 espécies, sendo esta a terceira maior classe de Arthropoda, depois de Insecta e Arachnida (GOLOVATCH, 1997); acredita-se que menos de 10% das espécies brasileiras foram descritas.

As cavernas oferecem condições favoráveis para o desenvolvimento de diplópodos, tais como a umidade relativa elevada tendendo à saturação, pequena variação de temperatura e ausência de luz (BAAR & HOLSINGER, 1985 apud PINTO DA ROCHA, 1993).

Foram relatadas cerca de 16 espécies para cavernas brasileiras, todas pertencentes à duas ordens: Polydesmida e Spirostreptida (TRAJANO *et al.*, 2000). Os representantes desta última ordem pertencem ao gênero *Pseudonannolene* e são considerados troglófilos, isto é, cavernícolas facultativos. Aparentemente, este gênero está entre os mais adaptados à vida subterrânea, alimentando-se principalmente de matéria animal, como carcaças e guano de morcegos, especialmente hematófagos.



ANAIS
XXVII Congresso Brasileiro de Espeleologia
Januária MG, 04-14 de julho de 2003



Sociedade Brasileira de Espeleologia

Os diplópodos possuem sexos separados e os órgãos reprodutores estão situados entre o tubo digestivo e o cordão nervoso ventral. Atualmente, vários autores têm utilizado a morfologia ovariana na discussão de questões filogenéticas e taxonômicas do grupo e destes em relação à outras classes de Arthropoda (MAKIOKA, 1989; KUBRAKIEWICZ, 1987; YAHATA & MAKIOKA 1994; 1995; 1997).

Quanto ao sistema reprodutor masculino, embora a atenção principal dos pesquisadores esteja voltada ao estudo da espermiogênese ultraestrutural, alguns autores discutem a evolução morfológica dos testículos, porém, sem relacioná-las às questões sistemáticas do grupo (KANAKA & CHOWDAIAH, 1974; FONTANETTI, 1990). Este trabalho traz a análise da morfologia dos sistemas reprodutores masculinos e femininos da espécie cavernícola *Pseudonannolene tocaiensis* Fontanetti, 1996, uma vez que estas estruturas permitem uma discussão sobre a evolução morfológica no grupo e contribuem para a elucidação de dúvidas existentes na sistemática do grupo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados fêmeas e machos jovens e adultos de *P. tocaiensis*, Fontanetti, 1996 coletados na Caverna da Toca, Itirapina, SP. Os ovários e testículos foram processados segundo técnica rotineira de inclusão em resina e posteriormente corados com Hematoxilina e Eosina conforme rotina histológica. Para obtenção dos espermatozoides foi utilizada a técnica de esmagamento, com posterior coloração por Giensa.

RESULTADOS

O ovário de *P. tocaiensis* consiste de um tubo único envolto por um epitélio simples, chamado de membrana externa, que o separa do corpo gorduroso circundante, bem desenvolvido nesta região (figura 1A, B, C). Na região mediana do corpo, são observados ovócitos em diferentes estágios, ou seja, desde aqueles em início de desenvolvimento (I na figura 1A, C) até aqueles mais desenvolvidos, cujo processo de vitelogênese praticamente terminou e o cório já foi depositado (III na figura 1C); a distribuição dos ovócitos aparentemente não segue uma seqüência lógica. Na extremidade anterior foi observada uma região constituída por células arredondadas com núcleos grandes semelhantes às ovogônias; esta região parece uma extensão da membrana externa, sugerindo a presença de um centro germinativo apical único (figura 1D); células semelhantes também foram observadas na membrana externa, porém em um número reduzido; observou-se também ao longo da membrana externa, células tipicamente em divisão meiótica (* na figura 1E), que gradativamente ganham o aspecto típico de ovócitos tipo I.

O testículo de *P. tocaiensis* (figura 2A) é composto de um grande ducto deferente constituído por um epitélio simples secretor (figura 2B), onde se ligam numerosas vesículas testiculares, através de um pedículo. Este pedículo apresenta-se formado pelo mesmo tipo de epitélio formador das gônadas, apresentando inclusive muitas células em divisão (figura 2B). As vesículas testiculares são formadas por uma parede epitelial que aparentemente origina os gametócitos, que gradativamente vão preenchendo o lúmen das vesículas testiculares (figura 2C). Os gametócitos apresentam-se bem maiores que as células do epitélio que os origina. Observa-se um sincronismo no desenvolvimento das células dentro de uma mesma vesícula testicular, isto é, encontra-se somente um tipo de célula da linhagem germinativa; as vesículas testiculares são encontradas contendo apenas espermatozoides, espermátides ou espermátocitos. As vesículas testiculares que possuem espermatozoides totalmente diferenciados, apresentam uma porção periférica, uma porção central tipicamente secretora e entre as duas uma porção intermediária, uma luz onde os espermatozoides já estão totalmente diferenciados (figuras 2D).

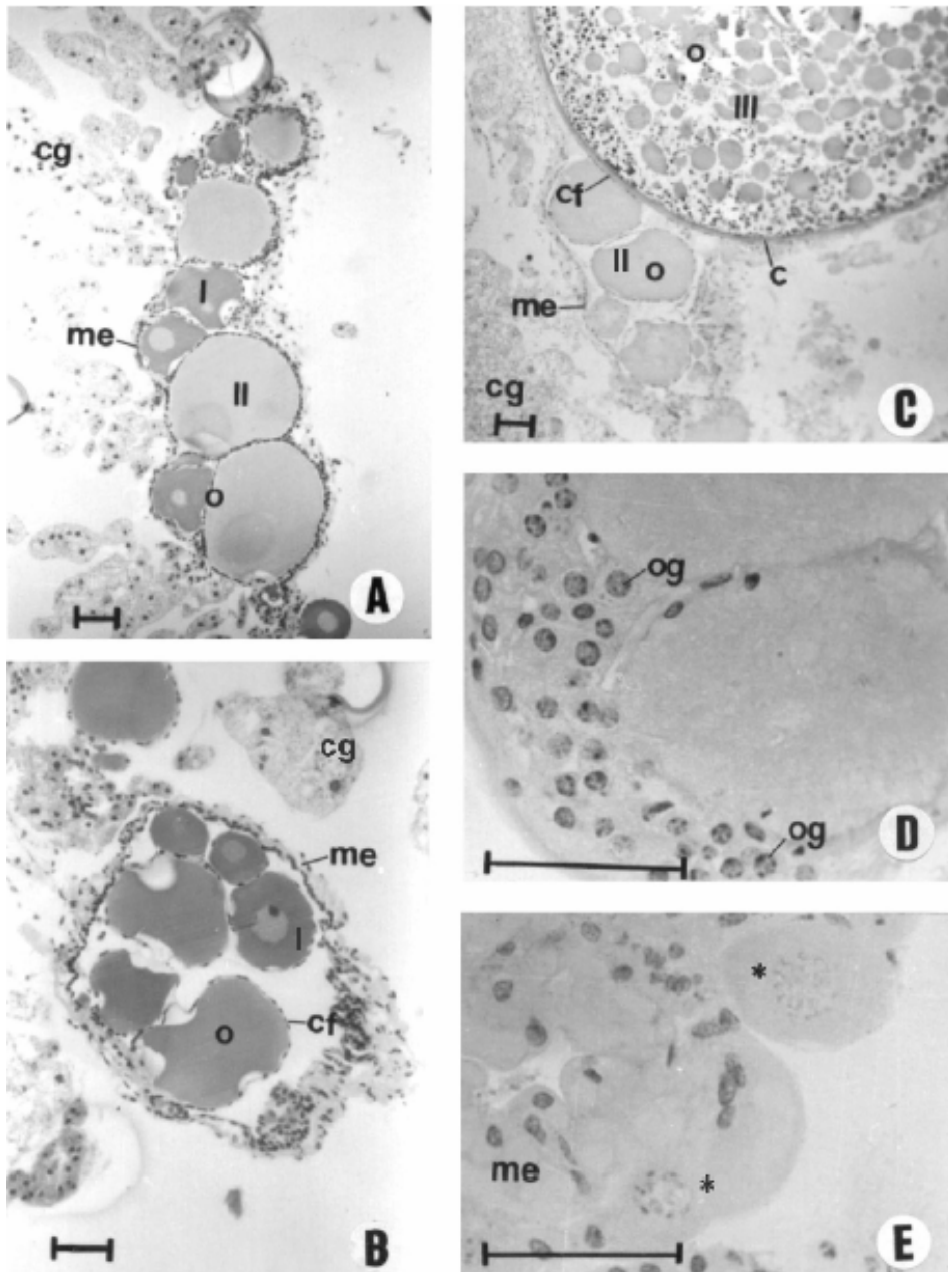


Fig. 1 A-E: Secções Histológicas do ovário de *P. tocaiensis*, coradas por hematoxilina e eosina.
 c=cório; cf=células foliculares; cg=corpo gorduroso; me=membrana externa; o=ovócito; og=ovogônias;
 I, II, III=diferentes estágios de desenvolvimento dos ovócitos; *=células em divisão meiótica.
 Escalas: 50µm.

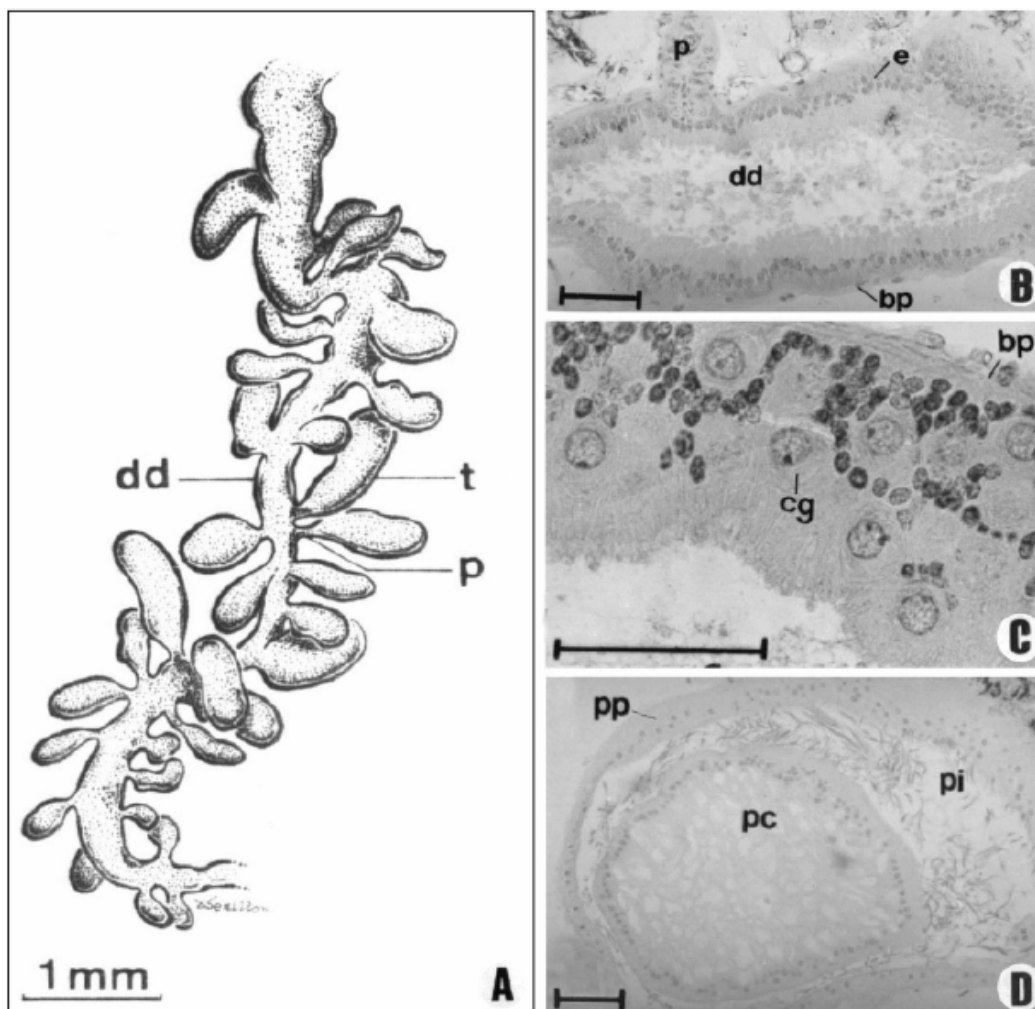


Fig. 2A: Diagrama da morfologia do testículo de *P. tocaiensis*.

B-D: Secções histológica do testículo de *P. tocaiensis*, coradas por hematoxilina e eosina.

pp=bainha peritoneal; cg=célula germinativa; dd=dueto diferente; e=epitélio; ppedículo; pc=porção central; pi=porção intermediária; pp=porção periférica; t=vesícula testicular.

Escala A: 1µm. - Escala B-D: 50µm.

DISCUSSÃO

A estrutura dos ovários de millípedes tem sido discutida por vários autores, que ora foram interpretados como únicos (NEWPORT, 1841; NADARAJALINGAM & THANUMALAYA, 1984) e ora como pareados (FABRE, 1855; MILEY, 1930; SEIFERT, 1932). NAIR (1981), estudando *Jonespeltis splendidus* e FONTANETTI & STAURENGO DA CUNHA, (1993), analisando *Rhinocricus padbergi*, observaram que os ovários quando imaturos apresentam-se pareados, mas conforme avança o desenvolvimento, perdem a simetria tornando-se um saco contendo uma massa única de ovócitos, como descrito para várias espécies de iulídeos, polidésmidos e penicelatos (NEWPORT, 1841; SAREEN & ADIYODI, 1983; KUBRAKIEWCZ, 1987; 1991 a; b; WARBURG & GEALEKMAN, 2000).



ANAIS
XXVII Congresso Brasileiro de Espeleologia
Januária MG, 04-14 de julho de 2003



Sociedade Brasileira de Espeleologia

A morfologia ovariana de *P. tocaiensis* não demonstra em ponto algum pareamento das estruturas, nem quando jovens, nem na região do germário. Uma vez que os diferentes graus de pareamento das estruturas dos ovários são consideradas mais primitivas no grupo (SAREEN & ADIYODI, 1983; KUBRAKIEWCZ, 1987), podemos propor que esta espécie apresenta, até o momento, o modelo mais derivado de ovário dentre os diplópodos.

Assim, o sistema reprodutor masculino de *P. tocaiensis* também se apresenta como o mais derivado dentre os diplópodos, semelhante ao observado por Fontanetti (1990, 1998) em outras espécies de *Pseudonannolene*. KANAKA & CHOWDAIAH (1974) estudando seis espécies do sul da Índia encontraram três tipos de sistema reprodutor masculino em diplópodos: o tipo reticular, o escalariforme e o artrosferóide. O tipo reticular apresenta os ductos deferentes em forma de retículo; o tipo artrosferóide apresenta somente algumas conexões transversais na porção anterior ficando os dois ductos paralelos, independentes na região onde se ligam as vesículas testiculares e o escalariforme, apresenta conexões entre os ductos deferentes ao longo de todo o testículo. Os autores sugeriram que durante o curso da evolução o sistema reprodutor mais primitivo e complexo é o tipo reticulado, da qual derivou o escalariforme e deste o tipo mais simples e avançado, o artrosferóide.

A morfologia testicular observada em espécies brasileiras pertencentes à *Pseudonannolene* incluindo a espécie estudada aqui, apresenta o desaparecimento dos tubos de conexão e a total união dos ductos deferentes, sendo, portanto, um passo à frente na simplificação do sistema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FABRE, L. Recherches sur l'Anatomie des organes reproducteur et sur le developpement des Myriapodes: **Annals des Sci. Natur. (Zool.)**, s.4, v.3, p.256-320, 1855.
- FONTANETTI, C. S. Morphology of the testicles of some Brazilian species of Diplopoda and their phylogenetic relations. **Ver. Bras. Zool.**, v.7, n.4, p.539-542, 1990.
- FONTANETTI, C. S. Morphohistological study of testicles of the Braazilian diplopod *Pseudonannolene tricolor* Brolemann, 1901 (*Pseudonannolenida*). **J. Adv. Zool.**, v.19, n.1, p.1-4, 1998.
- FONTANETTI, C. S., STAURENGO DA CUNHA, M. A. Morfologia ovariana e desenvolvimento dos ovócitos de *Rhinocricus padbergi* Verhoeff ovaries (Diplopoda, Spirobolida, Rhinocricidae). **Revta. Brasil. Biol.** v.53, n.1, p.7-12, 1993.
- GOLOVATCH, S. I. On the identity of some millipede species described by C. O. Von Porat in 1888 (Diplopoda, Spirobolida). **Bull de L'inst. Royal des Sci. Nat. de Belg., Entom.**, v.7, p.95-106, 1997.
- GOLOVATCH, S. I. et al. Identification plate for the millipede orders populating the neotropical region south of Central Mexico (Myriapoda, Diplopoda). **Studies on Neotrop. Fauna and Envir.** {S. I.}, v.30, n.3, p.159-164, 1995.



ANAIS
XXVII Congresso Brasileiro de Espeleologia

Januária MG, 04-14 de julho de 2003

Sociedade Brasileira de Espeleologia



- KANAKA, R.; CHOWDAIAH, B. N. Studies on the male reproductive pattern in some Indian Diplopoda (Myriapoda). **Symp. Zool. Soc. London**, {S. I.}, v.32, p. 261-272, 1974.
- KUBRAKIEWICZ, J. The ovary structure in two species of millipedes, *Iulus sacandnavius* and *Orthomorpha gracilis* (Myriapoda, Diplopoda) **Zool. Polon.**, v.34, p.251-260, 1987.
- KUBRAKIEWICZ, J. Ultrastructural investigation of the ovary structure of *Ophiulus pilosus* (Myriapoda, Diplopoda). **Zoomorphology**, v.110, p. 1330-1338, 1991 a.
- KUBRAKIEWICZ, J. Ovary structure and oogenesis of *Polyxenus lagurus* (L.) (Diplopoda: Pseudoscorpionida). An ultrastructural study. **Zool. Jb. Anat.** v.121, p. 81-93, 1991 b.
- MAKIOKA, T. Ovarian Structure and oogenesis in chelicerates and other arthropods. *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, v.23, p.01-11, 1989.
- MILEY, H. H. Internal anatomy of *Euryurus erytropygus* (Brandt, Diplopoda). **Okio J. Sci.** v.40, n.4, p.229-254, 1930.
- NADARAJALINGAM, K., THANUMALAYA, P. Oogenesis in a millipede *Spirostreptus asthenes* (Myriapoda, Diplopoda). **Zoo Anz.**, v.212, n.3/4, p.229-154, 1984.
- NAIR, V. S. K. Oocyte development and vitellogenesis in *Jonespeltis splendidus* (Myriapoda: Diplopoda). **J. Anim. Morphol. Physiol.**, v.28, n1/2, p. 186-194, 1981.
- NEWPORT, B. On the organs of reproduction and the development of the Myriapoda. **Philosophical Trans. of the Royal Soc. of London**, {S. I.}, p.99-130, 1841.
- SAREEN, M. C., ADIYODI, K. G. Arthropoda-myriapoda. In **Reproductive biology of invertebrates** (SAREEN, M. C., ADIYODI, K. G., eds.) Chichester: J. Wiley & Sons, i, p. 497-520, 1983.
- SEIFERT, B. Anatomie und Biologie des Diplopoden *Strongylosoma pallipes*. **Oliv. Zeits. Fur Morph Und Okol. Tiere**, v.25, p.362-507, 1932.
- PINTO-DA-ROCHA, R. Invertebrados cavernícolas da porção meridional da província espeleológica do Vale da Ribeira, Sul do Brasil. **Ver. Bras. Zool.** v.10, n.2, p.229-255, 1993.
- TRAJANO, E., GOLOVATCH, S. I., GEOFFROY, J. J., PINTO DA ROCHA, R., FONTANETTI, C. S. Synopsis of Brazilian cave-dwelling millipedes (Diplopoda). **Pap. Avul. Zool.**, v.41, n.5, p.213-241, 2000.
- WARBURG, M. R., GEALEKMAN, O. Ovarian structure and oogenetic cycle in the millipede *Catamicrophyllum caifanum* (Diplopoda: Iulidae). **Journal-of-Zoology-London**. v.250, n.1, p.79-85, 2000.



ANAIS
XXVII Congresso Brasileiro de Espeleologia

Januária MG, 04-14 de julho de 2003

Sociedade Brasileira de Espeleologia



YAHATA, K., MAKIOKA, T. Phylogenetic implications of structure of colult ovary and oogenesis in the penicillate diplopod *Eudigraphis nigricans* (Miyosi, Diplopoda, Miriapoda). **J. Morphol.** v.222, p.233-240, 1994.

YAHATA, K., MAKIOKA, T. Postembryonic development of the ovary in the penicillate diplopod *Eudigraphis nigricans* (Miyosi, , Diplopoda, Miriapoda). **J. Morphol.** v.224, n.2, p.213-220, 1995.

YAHATA, K., MAKIOKA, T. Phylogenetic significance of the structure of adult ovary and oogenesis in primitive Chilognathan Diplopod, *Hyleoglomeris japonica* Verhoeff (Glomerida, diplopoda). **J. Morphol.**, v.231, p.277-285, 1997.