

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS-
COMPORTAMENTO E BIOLOGIA ANIMAL

Patrícia Aparecida Daniel

ASPECTOS BIOLÓGICOS E HISTOLÓGICOS DA REPRODUÇÃO DE *Leptinaria unilamellata* (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, PULMONATA, SUBULINIDAE)

Juiz de Fora
2013

Patrícia Aparecida Daniel

**Aspectos biológicos e histológicos da reprodução de *Leptinaria unilamellata*
(d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Pulmonata, Subulinidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para a obtenção de Título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Comportamento e Biologia Animal).

Orientadora: Profa. Dra. Sthefane D'ávila de Oliveira e Paula

Juiz de Fora
2013

Daniel, Patrícia Aparecida.

Aspectos biológicos e histológicos da reprodução de *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Pulmonata, Subulinidae) / Patrícia Aparecida Daniel. -- 2013. 117 p.

Orientadora: Sthefane D'ávila de Oliveira e Paula

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2013.

1. Subulinidae. 2. Estratégia reprodutiva. 3. Investimento reprodutivo. 4. Histologia. 5. Dessecação. I. Paula, Sthefane D'ávila de Oliveira e , orient. II. Título. Patrícia Aparecida Daniel

Patrícia Aparecida Daniel

**Aspectos biológicos e histológicos da reprodução de *Leptinaria unilamellata*
(D'Orbigny, 1835) (Mollusca, Pulmonata, Subulinidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para a obtenção de Título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Comportamento e Biologia Animal).

Aprovada em 27 de fevereiro de 2013

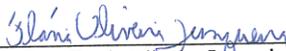
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Stefane D'Ávila de Oliveira e Paula
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias
Universidade Federal de Juiz de Fora



Profa. Dra. Flávia Oliveira Junqueira
Centro Universitário do Leste de Minas Gerais (Unileste)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por conceder o dom da vida, pela força para seguir em frente, pelo conforto nas horas difíceis e por permitir que eu conseguisse dar mais esse passo tão importante em minha trajetória.

À minha mãe Maria, meu pai Mário e minha irmã Poliana por me apoiarem em todos os momentos, pelo amor e carinho. Sem vocês não teria conseguido vencer mais essa etapa!

À minha orientadora Profa. Dra. Sthefane D'ávila, pela valiosa orientação, pela paciência e por sempre acreditar que sou capaz, me dando forças para seguir em frente. Além de tudo, agradeço pela amizade, dedicação e todo carinho.

Ao Vinícius por todo auxílio e pela amizade infinita de todas as horas, de tantas risadas e de tanta sincronia! Amizade que tenho certeza que levarei para sempre e que não se abala por qualquer coisa. Tenho muito orgulho de nossa amizade.

À Emily por toda a ajuda nesse trabalho, esteve comigo do início ao fim sendo meu braço direito, tornando todos os momentos mais tranquilos e agradáveis. A pesquisa me trouxe de presente essa grande amizade.

Às amigas de fora do mestrado Juliana e Joice que estão sempre ao meu lado me apoiando e tornando tudo mais leve e divertido. À Tajla que mesmo de tão longe está sempre alegrando meus dias. À Luy pela amizade longa e sincera que tanto me faz bem!

Aos amigos do mestrado que compartilharam desse trajeto, em especial a Rafaella e a Fabíola que provaram que ainda é possível fazer grandes amizades.

Ao Dimas por todo o apoio, amor, auxílio, dedicação, carinho e por cuidar de mim nessa reta final tão complicada. Obrigada por ser meu namorado perfeito!

A todos os professores do departamento de Zoologia da UFJF que contribuíram para minha formação, em especial à professora Elisabeth por todo apoio e amizade desde o início.

A todas as pessoas que integram o Núcleo de Malacologia da UFJF, em especial à Maria Alice por toda dedicação e simpatia e a Ma. Camilla de Medeiros de Carvalho pela amizade e pela contribuição no meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias e à Profa. Dra. Flávia Oliveira Junqueira pela valiosa contribuição e por aceitarem gentilmente o convite para participarem da minha banca na dissertação, e à Profa. Dra. Florence Mara Rosa por ter concedido contribuições valiosas no meu exame geral de qualificação.

Ao Osmar e a Rita pela paciência e por estarem sempre nos auxiliando da melhor forma possível.

À Rosângela por toda simpatia e cuidado.

A CAPES pelo apoio concedido durante todo o estudo.

A todos que participaram de alguma forma dessa minha jornada, fica o meu Muito Obrigada!

RESUMO

A maior parte dos estudos sobre reprodução de moluscos terrestres foi realizada com espécies de climas temperados. Esse conhecimento é de suma importância para se realizar estratégias de manejo de populações de moluscos, assim como controle de parasitos. O presente trabalho teve por objetivos comparar aspectos da biologia reprodutiva e do desenvolvimento do sistema reprodutor dos moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* mantidos isolados e pareados, além de averiguar se os moluscos adultos dessa espécie expostos a condições desfavoráveis de umidade, retêm os filhotes em seu trato reprodutivo. Para o estudo da reprodução, foram constituídos dois grupos experimentais. Um grupo formado por 30 indivíduos recém-nascidos, mantidos isolados em terrários individuais e outro formado por 30 indivíduos mantidos em pares. Em intervalos de quinze dias, foi medido o comprimento da concha dos moluscos. O aparecimento de filhotes no terrário foi o parâmetro utilizado para a constatação da maturidade sexual. Foram realizadas observações diárias para a verificação do número de eventos reprodutivos realizados, do número de filhotes por evento reprodutivo e intervalo entre eventos reprodutivos. Para a determinação do investimento reprodutivo dos moluscos mantidos isolados e pareados, após o nascimento dos filhotes, os moluscos parentais e respectiva prole foram pesados para o cálculo desse índice. Com relação ao crescimento da concha, observou-se que durante a fase jovem, os indivíduos pareados apresentaram um ritmo mais rápido com relação aos isolados. Após a maturidade sexual, a taxa de crescimento dos moluscos isolados e pareados passou a ser semelhante e tendeu a se estabilizar no decorrer do tempo. Os moluscos mantidos pareados alcançaram primeiro a maturidade sexual do que os mantidos isolados. Além disso, os indivíduos mantidos pareados apresentaram mais eventos reprodutivos e um maior número de filhotes ao decorrer do experimento em comparação aos mantidos isolados. Com relação à fecundidade, os moluscos mantidos isolados apresentaram uma média significativamente maior em relação aos mantidos pareados ($F=16.3585$; $p<0,0010$). No decorrer de todos os eventos reprodutivos, os indivíduos pareados apresentaram um investimento reprodutivo médio significativamente menor quando comparado ao IR encontrado para os indivíduos isolados (8,15% e 12,28% respectivamente) (ANOVA $p=0$; $F=34.0539$). Para o estudo do

desenvolvimento do sistema reprodutor, 30 indivíduos mantidos isolados e 30 pareados (sendo 6 indivíduos destinados ao estudo de cada faixa etária) nas idades de 15, 45, 75, 90 e 105 dias foram destinados ao estudo histológico. Foi possível observar que não há diferenças na conformação do sistema reprodutor nas diferentes idades e entre os moluscos mantidos isolados e pareados. Observou-se a presença do ovotestis nos moluscos com idade de 15 dias apenas os moluscos pareados, o que pode indicar que essa glândula é formada mais tardiamente nos moluscos mantidos isolados. Para a caracterização do comportamento de retenção dos filhotes, foram constituídos dois grupos experimentais contendo cada 30 moluscos mantidos isolados. O grupo 1 foi mantido durante todo o experimento sob condições favoráveis de umidade, enquanto que na primeira fase do experimento o grupo 2 foi submetido a condições desfavoráveis de umidade. Foi possível averiguar que os moluscos expostos ao estresse hídrico são capazes de reter seus filhotes no oviduto, sendo que realizam a postura logo que as condições de umidade se tornam melhores. Observou-se também que os moluscos da espécie *L. unilamellata*, além de entrarem no estado metabólico de estivação também são capazes de formar epifragma vedando assim a abertura da concha, evitando a perda de água para o ambiente.

Palavras chaves: Subulinidae. Estratégia reprodutiva. Crescimento. Investimento reprodutivo. Histologia. Dessecação. Gastrópode pulmonado.

ABSTRACT

BIOLOGICAL AND HISTOLOGICAL REPRODUCTIVE FEATURES OF *Leptinaria unilamellata* (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, PULMONATA, SUBULINIDAE)

Most of the studies on snails reproduction were realized with species of temperate climate. This knowledge is important to development of management strategies of snails populations, so as to controlling parasites. The present work aimed to compare aspects of reproductive biology and development of reproductive system of *Leptinaria unilamellata* maintained isolated and grouped, besides to ascertain if this snail species when exposed to unfavorable humidity conditions retain its offspring in their reproductive tract. Two experimental groups were made to assess reproduction. One with 30 newly hatched individuals, maintained isolated and other with 30 individuals in pairs. Every fifteen days, the Shell length was measured. To verify the sexual maturity it was observed the presence of juveniles in the terrariums. Daily observations were realized too verify the number of reproductive events, the number of individuals in each event and the interval between reproductive events. To determinate the reproductive investment of snails from both groups, after birth, the parental snails and its offspring were heighted to provide data in order to calculate this index. With regard to shell growth, it was observed that in juveniles maintained in pairs showed higher growth rates in comparison to isolated ones. After maturity, the growth rates of isolated and paired snails were alike, with a trend to establishment in the course of time. Paired snails reached sexual maturity before isolated. Moreover, paired individuals presented more reproductive events and a larger number of juveniles when compared to isolated snails. The fecundity of isolated snails presented a mean significantly higher in relation to paired ($F=16.3585$; $p<0,0010$). During the observation period paired individuals showed mean reproductive investment significantly lower when compared to isolated individuals (8,15% and 12,28% respectively) (ANOVA $p=0$; $F=34.0539$). To assess the development of reproductive system, 30 individuals maintained isolated and 30 paired (with 6 individuals separated to the study of each age) at

the ages of 15, 45, 75, 90 and 105 days were utilized in histological study. It was observed that there is no difference in reproductive system in the different ages and among snails maintained isolated and paired. The ovotestis was observed in 15 days only in paired snails, which can indicate that this gland is formed lately in isolated snails. To verify the behavior of retention of the offspring it were made two groups, each one with 30 isolated snails. The group 1 was maintained under favorable humidity conditions, while in the first phase of the assay the group 2 was submitted to unfavorable humidity conditions. It was observed that snails exposed to water stress are capable to retain its offspring in the oviduct, realizing oviposition as soon as the humidity conditions improve. It was observed that *L. unilamellata*, besides aestivation they also can produce an epiphragm that sealing the shell and avoiding the water loss to the environment.

Key words: Subulinidae. Reproductive strategy. Growth. Reproductive investment. Histology. Dissection. Pulmonate gastropod.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Gráfico 1:** Gráfico 1. Taxas de crescimento da concha (cm/dia) dos indivíduos da espécie *Leptinaria unilamellata* mantidos isolados e pareados. As linhas azuis representam a taxa de crescimento e alcance da maturidade sexual pelos indivíduos isolados, enquanto as linhas vermelhas indicam esses mesmo índices para os moluscos mantidos pareados. (O eixo X representa as medições e o eixo Y representa a taxa de crescimento da altura da concha dos moluscos isolados)-----56
- Gráfico 2:** Comprimentos médios da concha dos indivíduos mantidos isolados em relação aos pareados da espécie *Leptinaria unimelamellata* em medições com intervalo de 15 dias (O eixo X representa as medições a intervalos de 15 dias e o eixo Y representa os valores médios do crescimento da altura da concha dos moluscos)-----57
- Gráfico 3:** Taxa de investimento reprodutivo dos moluscos isolados da espécie *Leptinaria unilamellata*. O eixo X representa o investimento reprodutivo médio em valores percentuais. O eixo Y representa o número dos eventos reprodutivos-----61
- Gráfico 4:** Taxa de investimento reprodutivo dos moluscos pareados da espécie *Leptinaria unilamellata*. O eixo X representa o investimento reprodutivo médio em valores percentuais. O eixo Y representa o número dos eventos reprodutivos-----61
- Figura 1:** Sistema reprodutor de molusco adulto da espécie *Leptinaria unilamellata*. a: átrio genital, p: pênis, ep: epifalo, v: vagina, pbc: pedúnculo da bolsa copuladora, bc: bolsa copuladora, pr: próstata, e: embrião, u: útero, ga: glândula de albúmem, ch: canal hermafrodita, vs: vesícula seminal, c: carrefour. Ilustração Sthefane D'ávila-----73

Figura 2: Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 15 dias; **A.** Glândula digestiva de molusco mantido isolado, sem a presença de ovotestis; **B.** Corte transversal do oviduto (seta preta) e ducto deferente (seta vermelha) de molusco mantido isolado; **C.** Ovotestis de molusco mantido pareado, com oócito (seta); **D.** Ovotestis de molusco mantido pareado, com espermatogônia (seta) e espermátides (asterisco). Barra de Escala = 50 μm -----75

Figura 3: Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 45 dias mantidos isolados. **A.** Início da formação do ovotestis (seta); **B.** Glândula de albúmen (seta); **C.** Oviduto (asterisco) e ducto deferente (seta); **D.** Flagelo (seta vermelha) e músculo retrator peniano (seta preta); **E.** Oviduto (asterisco) e ducto da bolsa copuladora (seta). Barra de Escala = 50 μm -----77

Figura 4: Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 45 dias mantidos pareados. **A.** Bolsa copuladora (seta); **B.** Oviduto (asterisco); **C.** Ovotestis apresentando oócitos (seta); **D.** Átrio genital (asterisco). Barra de Escala = 50 μm -----78

Figura 5: Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 75 dias. **A.** Embriões no útero (asteriscos) de molusco mantido isolado; **B.** Glândula de albúmen de molusco mantido isolado; **C.** Oviduto (asterisco) e ducto da bolsa copuladora (seta) de molusco mantido isolado; **D.** Próstata (asteriscos) de molusco mantido isolado; **E.** Ovotestis com oócitos (seta) de molusco mantido pareado; **F.** Oviduto de molusco mantido pareado (asterisco). Barra de Escala = 50 μm ----80

Figura 6: Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 90 dias. **A.** Ovotestis com espermatozóides formados de molusco mantido isolado (asteriscos); **B.** Próstata (seta vermelha), bolsa copuladora (seta preta) e espermatozóides (asterisco) de molusco mantido isolado; **C.** Oviduto de molusco mantido isolado (asterisco); **D.** Complexo peniano de molusco mantido pareado (asterisco); **E.** Próstata de molusco mantido pareado (asterisco); **F.** Glândula de albúmen de molusco mantido pareado. Barra de Escala = 50 μm -----82

Figura 7: Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 105 dias. **A.** Ducto da bolsa copuladora (seta) e oviduto (asterisco) de molusco mantido isolado; **B.** Ovotestis com espermatozóides (asterisco) e oócitos (seta) de molusco mantido isolado; **C.** Próstata de molusco mantido isolado (asterisco); **D.** Complexo da espermateca de molusco mantido pareado (asterisco); **E.** Oviduto de molusco mantido pareado (asterisco). Barra de Escala = 50 μm -----84

Fotografia 1: Molusco adulto da espécie *Leptinaria unilamellata* em processo de estivação, apresentando o epifragma fechando a abertura da concha. Barra igual a 1mm-----97

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Crescimento durante 270 dias da longevidade de *Leptinaria unilamellata*, aferido pela altura da concha (em centímetros) dos indivíduos mantidos isolados-----53
- Tabela 2:** Crescimento durante 270 dias da longevidade de *Leptinaria unilamellata*, aferido pela altura da concha (em centímetros) dos indivíduos mantidos pareados-----54
- Tabela 3:** Parâmetros reprodutivos observados durante 270 dias de vida de *Leptinaria unilamellata* dos indivíduos mantidos isolados-----55
- Tabela 4:** Parâmetros reprodutivos observados durante 270 dias de vida de *Leptinaria unilamellata* dos indivíduos mantidos pareados-----55
- Tabela 5:** Investimento reprodutivo (% de massa corporal) por evento reprodutivo, investimento reprodutivo médio por indivíduo e investimento reprodutivo médio dos moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* mantidos isolados-----59
- Tabela 6:** Investimento reprodutivo (% de massa corporal) por evento reprodutivo, investimento reprodutivo médio por indivíduo e investimento reprodutivo médio dos moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* mantidos pareados-----60
- Tabela 7:** Órgãos e/ou estruturas observadas através da análise das lâminas referente aos moluscos mantidos isolados e pareados em diferentes estágios-----85

Tabela 8: Tempo para liberação dos filhotes do primeiro evento reprodutivo, número de filhotes e intervalo entre eventos reprodutivos de *Leptinaria unilamellata* do grupo I (Moluscos que não foram submetidos à dessecação)-----98

Tabela 9: Tempo para liberação dos filhotes do primeiro evento reprodutivo, número de filhotes e intervalo entre eventos reprodutivos de *Leptinaria unilamellata* do grupo II (Moluscos que foram submetidos à dessecação)-----99

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1. A espécie <i>Leptinaria unilamellata</i> (d'Orbigny, 1835)	22
2.2. Autofecundação e biologia reprodutiva dos gastrópodes pulmonados terrestres	25
2.3. Relação entre ovoviviparidade e dessecação	35
2.3.1. Ovipostura e comportamento de cuidado parental nos gastrópodes pulmonados terrestres	37
2.3.2. Influência da umidade sobre a biologia	38
2.4. O sistema reprodutor dos gastrópodes pulmonados terrestres	40
2.4.1. Conflito sexual e digestão de esperma	43
3. ASPECTOS DA HISTÓRIA DE VIDA E INVESTIMENTO REPRODUTIVO DE MOLUSCOS DA ESPÉCIE <i>Leptinaria unilamellata</i> (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, PULMONATA, SUBULINIDAE) MANTIDOS ISOLADOS E PAREADOS	46
3.1. Introdução	46
3.2. Material e métodos	47
3.2.1. Obtenção e manutenção dos moluscos	47
3.2.2. Procedimentos para análise do crescimento, reprodução e mortalidade	48
3.2.3. Procedimentos para a análise do investimento reprodutivo	48
3.2.4. Análises estatísticas	49
3.3. Resultados	50
3.3.1. Crescimento	50
3.3.2. Reprodução	51
3.3.3. Mortalidade	52

3.3.4. Investimento reprodutivo-----	57
3.4. Discussão-----	62
3.5. Conclusões-----	68
4. ANÁLISE HISTOLÓGICA DO SISTEMA REPRODUTOR EM DIFERENTES IDADES DE <i>Leptinaria unilamellata</i> (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, PULMONATA, SUBULINIDAE) MANTIDOS ISOLADOS E PAREADOS-----	70
4.1. Introdução-----	70
4.2. Material e métodos-----	71
4.2.1. Local dos experimentos-----	71
4.2.2. Obtenção e manutenção dos moluscos-----	71
4.2.3. Fixação dos moluscos e procedimentos para o estudo histológico-----	72
4.3. Resultados-----	73
4.4. Discussão-----	85
4.5. Conclusões-----	92
5. CARACTERIZAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE RETENÇÃO DE FILHOTES NO OVIDUTO <i>Leptinaria unilamellata</i> (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, PULMONATA, SUBULINIDAE) SOB CONDIÇÕES DE DESSECAÇÃO-----	93
5.1. Introdução-----	93
5.2. Material e métodos-----	94
5.2.1. Local dos experimentos-----	94
5.2.2. Obtenção e manutenção dos moluscos-----	94
5.2.3. Procedimentos para análise da retenção de filhotes sob condições desfavoráveis de umidade-----	95
5.3. Resultados-----	96
5.4. Discussão-----	100
5.5. Conclusões-----	104
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS-----	105

Aspectos biológicos e histológicos da reprodução de *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny) (Mollusca, Pulmonata, Subulinidae)

1. INTRODUÇÃO

Os gastrópodes pulmonados são um dos grupos de animais mais diversos e adaptados aos ecossistemas terrestres. Estima-se que existam aproximadamente 24.000 espécies, vivendo em habitats terrestres variados: solo, cavernas subterrâneas, serra-pileira, vegetação rasteira, superfícies rochosas, epífitas e copas de árvores. Dessas, 20.500 espécies são pulmonados estilomatóforos e cerca de 3650 pertencem a outros grupos, principalmente aos caenogastropoda e neritopsinos (HELLER, 2001). Grande parte dessa diversidade é devida à capacidade desses moluscos de se reproduzir e colonizar novas áreas (GÓMEZ, 2001). A história de vida e a biologia reprodutiva dos gastrópodes pulmonados são igualmente diversas, provavelmente refletindo a irradiação do grupo, e têm sido investigadas sob a ótica de diferentes áreas de conhecimento, como a embriologia, histologia, ecologia e sistemática filogenética (BARKER, 2001; GÓMEZ, 2001; HEALY, 2001; HELLER, 2001).

Embora sejam animais sensíveis à dessecação, os moluscos apresentam estratégias fisiológicas e comportamentais que garantiram o sucesso na colonização do ambiente terrestre (STOREY, 2002). Tais estratégias são eficientes mecanismos contra a perda de água e permitiram até mesmo a colonização de ambientes extremos, como regiões congeladas e desérticas (STOREY, 2002; GIOKAS *et al.*, 2005; ANSART *et al.*, 2007; UDAKA *et al.*, 2007).

A compreensão dos eventos envolvidos na reprodução, desde a gametogênese até a liberação de ovos ou filhotes no meio externo permite discriminar as variações funcionais entre espécies (GÓMEZ, 2001) e compreender suas estratégias reprodutivas (MONTEIRO *et al.*, 1984; MONTEIRO & DIAS, 1989).

As funções primárias do sistema reprodutor dos moluscos pulmonados são a produção de espermatozoides e oócitos, o armazenamento e transporte dos gametas maduros em um meio apropriado, papéis estruturais e fisiológicos nos processos de corte e cópula, transferência de esperma endógeno para o parceiro, recepção de esperma exógeno, oferecer um sítio e microambiente próprios para a fertilização do oócito, recobrir os zigotos com

camadas nutritivas e protetoras e, finalmente, a ovipostura ou liberação de filhotes (GÓMEZ 2001).

A maior parte dos gastrópodes terrestres são pulmonados da subordem Stylommatophora, provavelmente excedendo 20.000 espécies. Entre estes moluscos pode ser observada a oviparidade, com o desenvolvimento dos embriões no ambiente externo, após a ovipostura. Entretanto, como uma modificação deste processo, pode ocorrer a retenção dos ovos no oviduto por um período variável e tais ovos só são depositados no ambiente em um estágio avançado de desenvolvimento dos embriões. Em outros casos, os ovos são retidos até a eclosão dos filhotes no interior do organismo parental, que são liberados diretamente no ambiente, o que caracteriza a ovoviviparidade. Viviparidade verdadeira é observada em poucas espécies, cujos embriões apresentam uma estrutura sacular junto ao pé, o podocisto, com funções presumivelmente de nutrição e circulação (HELLER, 2001). Acredita-se que a retenção dos embriões no organismo parental, caracterizando a retenção de ovos ou a ovoviviparidade, ocorra em resposta a condições desfavoráveis do ambiente e aumente as chances de sobrevivência dos filhotes, que só são liberados quando as condições ambientais tornam-se novamente propícias.

A maior parte dos estudos sobre estratégias de história de vida de moluscos terrestres foi realizada com espécies de climas temperados (BAUR & BAUR, 2000; HELLER, 2001; HOMMAY *et al.*, 2001; OCAÑA, 2003). No Brasil, o conhecimento das características do ciclo de vida desses animais, tais como estratégias reprodutivas, crescimento e longevidade, ainda se encontram em estado incipiente. Destacam-se os trabalhos de Bessa & Araújo (1995a,b) e D`ávila & Bessa (2005a, b,c), sobre a biologia de *Subulina octona*; Carvalho *et al.* (2008) sobre a história de vida de *Bradybaena similaris*; Silva *et al.* (2008), Meireles *et al.* (2008) e Meireles *et al.* (2010), sobre a biologia de *Bulimulus tenuissimus*; Silva *et al.* (2009), sobre a biologia de *Habroconus semenlini* e os de Almeida & Bessa (2001b), Brandoline & Gomes (2001) e Carvalho *et al.* (2009), sobre a biologia de *Leptinaria unilamellata*.

O conhecimento das relações existentes entre os padrões de reprodução, crescimento, mortalidade e longevidade, quando combinados representam as estratégias de história de vida das diferentes espécies de moluscos terrestres. O conhecimento dessas estratégias pode subsidiar estudos sobre a ecologia, filogenia, comportamento e biologia desses animais.

Além disso, esse conhecimento é essencial para a estruturação de formas de manejo das populações de moluscos em risco de extinção, estratégias de controle das populações de parasitos que utilizam esses moluscos como hospedeiros intermediários (D'ÁVILA *et al.*, 2004), assim como estratégias de controle de populações de moluscos que atuam como pragas agrícolas (PICORAL & THOMÉ, 1989).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os moluscos da família Subulinidae, são Stylommatophora atualmente classificados como pertencentes à Superfamília Achatinoidea (BARKER, 2001; SIMONE, 2006). Para o Brasil, foram registradas 17 espécies nativas, pertencentes a cinco gêneros, *Lamellaxis*: *Lamellaxis gracilis* (Hutton, 1834) e *L. godalli* (Mille, 1822); *Allopeas* Baker, 1927: *Allopeas micra* (Orbigny, 1835); *Leptopeas* Baker, 1827: *Lamellaxis (Leptopeas) mizus* (Marcus & Marcus, 1968), *Dysopeas* Baker, 1927: *Dysopeas muibum* Marcus & Marcus, 1968; *Leptinaria* Beck, 1837: *Leptinaria cf anomala* (Pfeiffer, 1846), *L. bequarti* Pilsbry, 1926, *L. charlottei* Baker, 1922, *L. concentrica*, (Reve, 1849), *L. lamellata* (Potiez & Michaud, 1838), *L. mamoreensis* Baker, 1926, *L. orysa* Bruguière, 1789, *L. monodon* (C.B. Adams, 1849), *L. parana* (Pilsbry, 1906), *L. ritchiei* Pilsbry, 1906 e *L. unilamellata* (Orbigny, 1835) e quatro espécies exóticas, pertencentes a três gêneros, *Subulina* Beck, 1837: *Subulina octona* (Bruguière 1792); *Lamellaxis* Strebel & Pfeiffer, 1882: *Lamellaxis clavulinus* (Potiez & Michaud, 1838) e *Opeas* Albers, 1850: *Opeas opella* Pilsbry & Vanatta e *O. pumilum* (Pfeiffer, 1840) (SIMONE, 2006). Pouco se conhece sobre a estratégia de história de vida, traduzida pelos padrões de crescimento, reprodução, desenvolvimento dos embriões, mortalidade e longevidade da maior parte desses subulinídeos.

2.1. A espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835)

D'Orbigny (1835) descreveu a espécie com o nome específico de *Helix unilamellata*, baseando-se em caracteres conquiliológicos. Esse autor descreveu a espécie em Voyage dans L'amérique Méridionale como possuindo concha de cor branca ou levemente amarelada apresentando 12 mm de comprimento e 11 de largura. Concha alongada, delgada, levemente arredondada, diáfana, com poucas estrias ou lisa. A abertura da concha é oval levemente oblíqua com borda delgada e cortante. Espira cônica possuindo sete voltas levemente

arredondadas, sendo que a última volta compõe a metade do comprimento da concha. Uma lâmina saliente ocupa a base da columela continuando no interior da concha, sendo a columela contorta, em saliência aguda, truncada à sua extremidade. Reeve (1849) redescreveu a espécie como *Achatina lamellata*, assinalando particularidades importantes da concha tal como o crescimento refletido da columela que se assemelha ao que ocorre em *Bulimus unilamellatus*. Baker (1931) após realizar uma expedição no Brasil, apresentou uma lista de espécies de moluscos com descrições conquiliológicas, indicando os locais de onde os espécimes foram coletados. Baker (1962) relatou que em trabalho anterior, adotou o primeiro nome mais utilizado *Leptinaria lamellata* (Potiez & Michaud), do que o primeiro nome adotado por Orbigny.

A família Subulinidae inclui várias espécies que podem atuar como hospedeiros intermediários de parasitos de animais domésticos e do homem (ARAÚJO & KELLER, 1993). Dentre essas espécies, destaca-se *L. unilamellata*, que é citada como hospedeiro intermediário de *Tanaisia (Paratanaisia) bragai* (ARAÚJO & KELLER, 1992), *Postharmostomum gallinum* (DUTRA, 1988; AMATO & BEZERRA, 1989), ambos trematódeos parasitos de aves domésticas e *Eurytrema coelomaticum* (ARAÚJO, 1982), parasito de bovinos.

De acordo com Simone (2006), *L. unilamellata* é restrita a região tropical da América do Sul (Brasil e Bolívia) e tem sua distribuição geográfica ampliada principalmente por ação antrópica. Araújo (1982) cita sua ocorrência no Brasil para os estados do: Amazonas, Roraima, Bahia, Mato Grosso, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná. Essa espécie é encontrada naturalmente na serrapilheira, sob pedras e em madeira em decomposição. Em períodos de maior índice pluviométrico ocorrem com maior frequência.

Dutra (1988) realizou um trabalho em que relatou aspectos da ecologia e reprodução de *L. unilamellata*. Na área estudada (Campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE) foi observado a co-ocorrência de *L. unilamellata*, *Bulimulus tenuissimus* (Orbigny, 1835), *Sarasinula* sp. e mais raramente *Subulina octona* (Bruguiere, 1792). A autora relata que *L. unilamellata* habita o solo, sobre e sob talos e folhas decaídas. No solo os moluscos se ocultam abaixo de entrelaçado de ramos de gramíneas secas e raízes de ervas evitando assim a incidência direta do sol e conseqüente ressecamento, sendo

encontrados mais facilmente nos meses mais quentes. De acordo com a determinação da distribuição espacial instantânea da malacofauna, *L. unilamellata* apresentou distribuição agregada. Com relação ao ciclo de vida e reprodução, a autora constatou, através do estudo anatômico do sistema reprodutor, a presença de embriões no útero de indivíduos com comprimento entre 6,1 a 7,0 mm, sendo esses considerados adultos. Observou-se também que os ovos dessa espécie são arredondados e flexíveis, envoltos em membrana não calcificada. Os embriões apresentam distribuição linear no útero quando em número reduzido e em número maior, podem ocorrer em filas paralelas ou alternadamente, variando em número de 1 a 8. Podem se apresentar em diferentes estágios de desenvolvimento, estando o mais maduro, geralmente, mais próximo à borda do manto. Os jovens nascem em média com 1,6 a 2,3 mm de comprimento, possuindo 2,2 a 2,5 voltas, apresentando lamela parietal e columela truncada.

Araújo & Keller (1993) realizaram um estudo morfológico de indivíduos da espécie *L. unilamellata* coletados em vários habitats terrestres no Rio de Janeiro. De acordo com esses autores, a concha dessa espécie é pequena, apresentando 4,5 mm de comprimento e cerca de 5 a 6,5 voltas de espira, linhas de crescimento não muito marcadas e suturas evidentes, mas não profundas. O autor caracterizou também o sistema digestivo (rádula e mandíbula) e o sistema genital.

Almeida & Bessa (2000) realizaram um estudo sobre o efeito da densidade populacional sobre o crescimento e reprodução de *L. unilamellata* e observaram que a densidade não afetou a reprodução influenciando apenas o crescimento nessa espécie.

Almeida & Bessa (2001b) realizaram um trabalho sobre o crescimento e reprodução de *L. unilamellata* mantendo indivíduos isolados e agrupados. Os autores observaram que essa espécie realiza autofecundação, já que todos os indivíduos mantidos isolados reproduziram-se. Não foi verificada diferença significativa no alcance da maturidade sexual entre os indivíduos mantidos isolados e agrupados. Os moluscos isolados produziram mais filhotes e apresentaram comprimento de concha menor ao atingir a maturidade sexual em relação aos agrupados. Verificou-se que o período preferencial de atividades dos moluscos foi o noturno, sendo que durante o dia os moluscos ficavam inativos, enterrados ou agregados.

Brandolini & Gomes (2002) estudaram a influência de diferentes dietas sobre o crescimento, sobrevivência e reprodução de *L. unilamellata*. Os autores concluíram que a dieta composta de ração para codornas em postura inicial, quando oferecida isoladamente, possibilitou um maior crescimento das conchas dos moluscos e, quando oferecida combinada com vegetais, propiciou o menor coeficiente de mortalidade e a maior produção de filhotes. Os moluscos submetidos à dieta composta apenas por vegetais apresentaram a maior taxa de mortalidade (40%).

D'ávila *et al.* (2004) verificaram a capacidade de resistência à dessecação e os comportamentos exibidos por indivíduos de *L. unilamellata*, submetidos a uma exposição contínua, por 48 horas, à temperatura de 35°C. Após 12 horas de exposição, houve retração da massa cefalopodal dos indivíduos. Com 36 horas de exposição houve a morte de um indivíduo e depois de 48 horas todos os moluscos estavam mortos.

Carvalho *et al.* (2009) descreveram a estratégia de história de vida de *L. unilamellata*. Verificou-se que essa espécie apresenta grande longevidade (1064 dias), uma curta fase jovem, um rápido alcance da maturidade sexual, numerosos eventos reprodutivos durante a vida e pequeno esforço reprodutivo em cada evento. Observou-se que os filhotes são retidos no útero do molusco parental até o término do desenvolvimento sem haver uma ligação morfológica entre eles. Os embriões dentro do útero são envoltos por uma membrana que é rompida antes da liberação desses no ambiente. Os autores concluíram, portanto, que *L. unilamellata* deve ser classificada como ovovivípara. Com relação à análise dos substratos energéticos, observou-se uma maior quantidade de galactogênio na glândula de albúmen dos indivíduos adultos, quando comparada aos indivíduos jovens e senescentes, indicando que a energia está sendo alocada para a reprodução, em detrimento do crescimento.

2.2. Autofecundação e biologia reprodutiva dos gastrópodes pulmonados

A grande maioria dos gastrópodes pulmonados terrestres são ovíparos, mas a ovoviviparidade, a retenção de ovos e raramente a viviparidade ocorrem em algumas

espécies de pulmonados. A fecundação cruzada é o modo mais freqüente de reprodução entre esses animais, porém existem espécies que também conseguem se reproduzir através da autofecundação, sendo que esses dois modos de reprodução são comuns em gastrópodes pulmonados terrestres (TOMPA, 1979; HELLER, 1993). A realização tanto da autofecundação como da fecundação cruzada (algumas vezes em um mesmo evento reprodutivo) é comum em algumas espécies de gastrópodes pulmonados terrestres. A frequência de ocorrência da autofecundação varia muito entre as espécies. Algumas espécies reproduzem-se predominantemente por autofecundação, outras realizam autofecundação quando não há parceiros sexuais disponíveis, enquanto outras espécies reproduzem-se exclusivamente por fecundação cruzada (BAUR & BAUR, 2000). Alguns estudos sugerem que as espécies que realizam autofecundação sejam melhores colonizadores do que as que realizam fecundação cruzada (HELLER, 2001).

A autofecundação tem sido observada em muitas famílias de gastrópodes pulmonados terrestres (PARAENSE & CORRÊA, 1988). Na maioria das espécies de gastrópodes terrestres, o processo de corte e a cópula são recíprocas, já que são todos hermafroditas silmultâneos, com ambos os animais atuando como macho e fêmea ao mesmo tempo (TOMPA, 1984).

A autofecundação tem sido estudada extensivamente de forma teórica e empírica, sendo que a maioria dos estudos é limitada a plantas. No entanto, a autofecundação ocorre tão amplamente em moluscos assim como em plantas (CHALLESWORTH & CHALLESWORTH, 1987; HOLSINGER, 1988; JARNE & DELAY, 1990). Esse modo de reprodução pode ser favorecido quando as populações sofrem um severo efeito gargalo, sempre que a depressão endogâmica for muito alta (CHALLESWORTH & CHALLESWORTH, 1987). A manutenção da diversidade genética é uma questão chave na evolução, já que a diversidade é a matéria base para a seleção, adaptação e/ou divergência principal para a especiação (MEUNIER *et al.*, 2004). Fatores como flutuação, seleção, migração e dinâmicas metapopulacionais, podem afetar a diversidade genética (PANELL & CHALLESWORTH, 2000). Em espécies que se reproduzem por autofecundação, o tamanho efetivo da população é reduzido comparado a espécies que se reproduzem por fecundação cruzada (JARNE, 1995; TACHIDA, 1996). Uma baixa taxa no índice de procriação

facilitaria a evolução e permitiria a permanência da autofecundação em uma população (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987).

Todos pulmonados são hermafroditas (DUNCAN, 1975) e muitas espécies pertencentes à Ordem Basommatophora realizam autofecundação. A comparação entre os dados do sucesso reprodutivo de indivíduos que realizam fecundação cruzada e autofecundação são importantes para o entendimento da evolução de populações naturais (JARNE & DELAY, 1990).

A manutenção da autofecundação deverá ser favorecida em populações que sofrem baixa pressão por endogamia. A autofecundação pode ainda ser mantida, apesar dos efeitos deletérios da endogamia, quando os organismos apresentam dificuldade em encontrar parceiros sexuais, por causa da mobilidade limitada ou pela baixa densidade populacional. A autofecundação é conhecida por oferecer uma garantia reprodutiva que pode ser vantajosa para populações que apresentam baixas densidades populacionais, permitindo a reprodução quando parceiros sexuais não estão disponíveis, mesmo à custa da depressão por endogamia. (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987; JARNE & CHARLESWORTH, 1993; GOW *et al.*, 2004; KALISZ *et al.* 2004).

Em estudos que abrangem populações que ocorrem na natureza percebe-se que as condições ambientais podem interferir na taxa de autofecundação, entretanto, análises de cruzamentos realizados em laboratório sugerem que a autofecundação possui também uma base genética, já que foram obtidas altas taxas, mesmo em tais condições (NJIOKOU *et al.*, 1993, DOUMS *et al.*, 1996).

A evolução da reprodução por autofecundação em gastrópodes também tem sido estudada sob a ótica da co-evolução parasito-hospedeiro. Sob condições ambientais estáveis é interessante para o parasito infectar hospedeiros que realizem autofecundação, pois assim será preservado nas gerações futuras, o complexo de genes co-adaptados para a susceptibilidade ao parasito. A interferência fisiológica do parasito pode favorecer a realização de autofecundação, energeticamente menos custosa para o hospedeiro, que devido à infecção apresenta reserva energética reduzida. A prole oriunda de autofecundação mantém os genes de susceptibilidade à infecção, aumentando o número de indivíduos susceptíveis ao parasito na população hospedeira (MINCHELLA, 1985).

Os animais que se reproduzem através da autofecundação, na ausência de um parceiro, apresentam um tempo de espera antes do início da reprodução (TSITRONE *et al.*, 2003). Segundo esse autor, esse tempo de espera levaria a uma realocação de recursos para o crescimento e reprodução futura. Em virtude da realocação de recursos, o atraso no início da reprodução é de fato parcialmente compensado pela maior fecundidade. Em alguns contextos do ciclo de vida de um indivíduo, pode ser mais vantajoso reproduzir-se por autofecundação e produzir uma ninhada com baixa diversidade genética do que chegar a morrer sem antes ter reproduzido (HENRY *et al.*, 2006).

A habilidade de realizar autofecundação possui um valor considerável sendo utilizada como um último recurso, quando devido a um declínio no número de indivíduos na população a chance de realizar fecundação cruzada diminui. A autofecundação pode também aprimorar a habilidade de colonização das espécies, assegurando assim a reprodução e estabelecimento das populações mesmo em baixa densidade. Esse modo de reprodução pode ainda reduzir o gasto energético com a função masculina e manter genes co-adaptados unidos. As desvantagens podem incluir uma imediata redução no sucesso reprodutivo causada pela depressão endogâmica e baixa diversidade genética resultada da recombinação reduzida (CHEN, 1993, 1994).

No geral, a autofecundação é mais comum nos gastrópodes que vivem em água doce e nos bivalves do que nos gastrópodes terrestres (HELLER, 2003). Segundo McCracken & Brussard (1980), quando a probabilidade de encontrar um parceiro é baixa, indivíduos que se encontram isolados podem realizar a autofecundação.

No molusco hermafrodita de água doce *Lymnaea peregra* (Müller, 1774), que pode se reproduzir através da autofecundação, descobriu-se que o aloesperma é estocado, sendo viável por vários meses após a cópula. Esse esperma é utilizado para a fecundação cruzada até ser esgotado ou invalidado, momento o qual a autofecundação aumenta. Desse modo, *L. peregra* se reproduz preferencialmente por fecundação cruzada sempre que há aloesperma disponível (BOYCOTT *et al.*, 1930; DUNCAN, 1975). O mesmo ocorre entre os moluscos das espécies *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *B. straminea* (Dunker, 1848) que se reproduzem preferencialmente por fecundação cruzada. O aloesperma recebido é quase todo utilizado imediatamente na fecundação cruzada. Se os moluscos forem colocados na condição de isolamento após a cópula, eles irão utilizar o esperma recebido para continuar

reproduzindo-se por fecundação cruzada. Nos primeiros dias depois da cópula apenas o alloesperma será usado, mas quando esse estoque começa a se esgotar, parte dos oócitos são fecundados por meio da autofecundação. Dessa forma, a prole é formada por filhotes oriundos tanto de fecundação cruzada quanto de autofecundação. A taxa de fecundação cruzada diminui progressivamente até que todo o alloesperma seja utilizado (PARAENSE, 1955; VIANEY-LIAUD, 1989.)

Existem evidências experimentais de que o sucesso reprodutivo de animais virgens isolados seja muito menor do que dos indivíduos pareados que possuem oportunidade de se acasalar. Jarne & Delay (1990) verificaram os efeitos da autofecundação e fecundação cruzada no sucesso reprodutivo do molusco hermafrodita de água doce *L. peregra*. Esses autores observaram que o número médio de ovos por cápsula ovígera foi duas vezes maior para os indivíduos que realizaram fecundação cruzada do que para aqueles que se reproduziram por autofecundação, mas não houve diferença significativa entre o número de cápsulas produzidas por molusco e por dia. Dessa forma, os moluscos que se reproduziram por autofecundação apresentaram menor fecundidade, em comparação com aqueles que se reproduziram através da fecundação cruzada. Devido ao baixo número de ovos e alta mortalidade, a densidade nas caixas com criações oriundas de autofecundação foi baixa. Em função da baixa densidade, os moluscos provenientes da autofecundação cresceram mais rapidamente do que os oriundos de fecundação cruzada.

Koene & Maat (2004) criaram espécimes do molusco aquático *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) isolados e em grupo. Esses autores observaram que os indivíduos criados isolados apresentaram maior massa corporal e conchas maiores e mais pesadas em relação aos indivíduos criados agrupados. A maior parte das massas ovígeras foi produzida pelos moluscos agrupados, em comparação àqueles mantidos isolados.

Costa *et al.* (2004) compararam a fecundidade e fertilidade de *B. glabrata* e *B. straminea*, ambas hospedeiras intermediárias do parasito *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907). Foi observado nesse estudo que os espécimes de *B. glabrata* criados isoladamente apresentaram menor produção de massas ovígeras, ovos por massa ovígera e ovos por molusco quando comparados aos indivíduos criados agrupados, sugerindo que para essa espécie a fecundação cruzada permanece preferencial, conforme ocorre na maioria dos gastrópodes. Já para *B. straminea* a média de massas ovígeras, ovos por massa ovígera e

ovos por molusco observadas para isolados e agrupados foi semelhante, indicando que a capacidade reprodutiva dessa espécie não diminui em grupo ou isoladamente. Esses resultados indicam que a autofecundação não se torna limitante para essa espécie em termos de capacidade reprodutiva, apesar de ser mencionada na literatura a preferência pela fecundação cruzada entre os planorbídeos. Analisando essas duas espécies, os autores observaram que *B. straminea* apresenta maior potencial reprodutivo quando comparada à *B. glabrata*, tanto para moluscos criados em grupo quanto para os criados isoladamente. Além disso, *B. straminea* apresenta algumas características particulares como a vagilidade, resistência à dessecação, alto índice de locomoção, amplo poder de exploração e grande adaptabilidade a condições ambientais. Todas essas características são importantes quando relacionadas à grande fecundidade, explicando a capacidade de sobrevivência e recolonização dessa espécie, frente a fatores adversos.

Paraense & Corrêa (1988) estudaram a autofecundação no molusco planorbídeo *Helisoma duryi* (Wetherby, 1879). Os autores observaram que essa espécie é capaz de se reproduzir por autofecundação, mas em taxas mais baixas em comparação com outras espécies de planorbídeos. Os autores concluíram que *H. duryi* beneficia-se muito menos do hermafroditismo funcional, o qual além de outras vantagens, habilita um único indivíduo virgem a fundar uma nova população.

Hofmann (1987) observou que alguns moluscos que possuíam baixo sucesso reprodutivo com a autofecundação apresentavam alguns comportamentos depois do acasalamento tais como: esterilidade (total inibição da reprodução); inibição da atividade feminina; inibição da atividade masculina; algum tipo de bloqueio nos mecanismos da autofecundação, embora o molusco seja funcional para ambos os sexos. Observou-se também que muitos indivíduos com problemas na autofecundação, possuíam no geral uma satisfatória performance na fecundação cruzada. Tem sido observado também que moluscos da mesma espécie criados isoladamente que realizam autofecundação, mantidos sob as mesmas condições em laboratório apresentem taxas reprodutivas diferentes (FREITAS *et al.*, 1997).

Van Duivenboden (1983) mostrou que a recepção de sêmen no molusco aquático *L. stagnalis* acelera o início da postura de ovos. Esse resultado pode aludir para a presença de um alohormônio no sêmen, o qual iniciaria o processo reprodutivo feminino no parceiro

(KOENE & TER MAAT, 2001) Uma substância candidata que poderia induzir o início da reprodução feminina é o hormônio da postura de ovos (CDCH), o qual está presente no sêmen (VAN MINNEN *et al.*, 1989).

Gow *et al.* (2004) estudaram o sistema de acasalamento do gastrópode pulmonado *Bulinus forskalli* (Ehrenberg, 1831) hospedeiro intermediário do trematódeo *Schistosoma guineensis*, parasito intestinal que ocorre em humanos. Para tanto, criaram moluscos em pares e analisaram o DNA dos parentais e dos filhotes utilizando microssatélites altamente polimórficos como marcadores para elucidar a taxa de autofecundação que ocorre nessa espécie. A maioria dos filhotes (90%) foi oriunda de autofecundação, sendo que 79% dos parentais reproduziram-se apenas por autofecundação e 21% por fecundação cruzada e autofecundação, demonstrando que nenhum molusco reproduziu-se exclusivamente por fecundação cruzada. A autofecundação pode ser muito vantajosa para essa espécie, já que comumente as populações apresentam baixa densidade e elevado efeito gargalo.

Henry *et al.* (2006) verificaram se os moluscos da espécie *Physa acuta* (Draparnaud, 1805) detectam sinais químicos da ocorrência de outros moluscos em águas condicionadas e testaram se o tempo de espera para o início da reprodução e a realocação de recursos está ajustado de acordo com a densidade. Eles perceberam que os indivíduos isolados adiaram o início da reprodução (11 dias) e apresentaram uma maior fecundidade quando comparados com os moluscos que tiveram livre acesso a parceiros sexuais. No geral, percebeu-se também que *P. acuta* não ajusta seu tempo de espera para reproduzir, não realocando seus recursos de acordo com a percepção da densidade populacional e encontro de possíveis parceiros sexuais, o que não concorda com o que foi sugerido por Tsitrone *et al.* (2003) e com a hipótese da garantia reprodutiva.

Jarne *et al.* (1990) compararam dados da reprodução de moluscos da espécie *Bulinus globosus* (Morelet, 1866) que se reproduziram através da autofecundação e fecundação cruzada. Esse molusco é hospedeiro intermediário de parasitos trematódeos do gênero *Schistosoma*. Os autores observaram uma grande diferença a favor da fecundação cruzada com relação ao número de ovos colocados, taxa de sobrevivência dos moluscos jovens e no número de moluscos que alcançaram a maturidade sexual.

Vianey-Liaud & Dussart (1993) usaram pares de moluscos albinos e pigmentados da espécie *B. glabrata* (Say, 1818) para constatar se esses animais são capazes de conservar e

utilizar o alloesperma mesmo passando por períodos de dessecação e privação de alimento. Cepas de animais passaram por 0, 5, 10, 15 e 20 dias de privação de alimentos, enquanto outras passaram por 0, 2, 4, 6, 8 e 10 semanas de dessecação. Após todos esses períodos de experimentação, os moluscos albinos ainda produziram números significativos de filhotes pigmentados, o que sugere uma preferência pela fecundação cruzada utilizando os alloespermatozóides estocados.

Chen (2009) observou em seus estudos que o gastrópode terrestre pulmonado *Arianta arbustorum* (Linnaeus, 1758) é capaz de se reproduzir utilizando a autofecundação, sendo que até então se acreditava que esse molusco era incapaz de se reproduzir de tal forma. Os moluscos mantidos isolados conseguiram se reproduzir, mas a produção de ovos e o sucesso na eclosão foram menores do que o observado para os moluscos que tiveram oportunidade de se acasalar, o que indica que essa espécie pode reproduzir-se através da autofecundação, mas com uma grande redução do seu fitness.

Os acasalamentos entre os moluscos podem acontecer ao acaso ou pode acontecer também a escolha do parceiro em que o indivíduo é mais propenso a acasalar com certos membros de sua espécie que possua características mais favoráveis. Nos gastrópodes pulmonados terrestres, há uma considerável variação na qualidade do parceiro, que é parcialmente influenciada pela relação positiva existente entre tamanho corporal e fecundidade. Geralmente, a escolha ao acaso ocorre quando há pouca variedade na qualidade dos parceiros ou quando os custos envolvidos na procura de parceiros são altos (PARKER, 1983). Por causa do tempo restrito de atividade e dos altos custos associados à locomoção, a melhor estratégia para os gastrópodes terrestres seria acasalar com qualquer adulto de sua espécie encontrado, de modo a minimizar os riscos de falha no acasalamento e/ou evitar a dessecação durante a busca de um parceiro (BAUR & BAUR, 1992).

Geralmente a distribuição espacial dentro das populações tende a ser agregada, fazendo com que os custos na procura de um parceiro sejam baixos quando a abundância é alta (HELLER, 2001). Os moluscos podem usar sinais químicos para comunicação e encontro de parceiros, como por exemplo, os caminhos feitos por muco os quais são polarizados podendo fornecer informação da direção seguida por um potencial parceiro sexual. Observa-se que indivíduos que ainda não encontraram parceiros para acasalar

seguem uma trilha de muco mais frequentemente do que os moluscos que já acasalaram (WELLS & BUCKLEY, 1972; TOWNSEND, 1974).

Durante a cópula, o comportamento masculino consiste em uma sequência fixa de comportamentos terminando com a intromissão de pênis e transferência de uma quantidade de esperma e fluido seminal (DE VISSER *et al*, 1994). O papel feminino consiste principalmente no recebimento do esperma. Consequentemente, a maioria dos recursos que são alocados para a função feminina parece ir para a produção de ovos (KOENE & MAAT, 2004).

Algumas espécies de gastrópodes pulmonados terrestres acasalam repetidas vezes durante a estação reprodutiva ou vida reprodutiva, mesmo quando ainda há espermatozoides armazenados oriundos de outros acasalamentos (TOMPA, 1984).

Os eventos que ocorrem na reprodução tais como a maturação de gônadas, manutenção e incubação dos filhotes e postura dos mesmos envolvem gastos energéticos. Esse investimento direcionado para a reprodução pode resultar em limitação do crescimento do indivíduo, já que os recursos energéticos estão direcionados para fins reprodutivos em vez de crescimento, podendo também afetar a fecundidade da próxima ovipostura ou até reduzir o desempenho reprodutivo (CALOW, 1979 apud LEME, 2006). Os indivíduos podem superar essas limitações e estocar energia através de alimentação contínua enquanto estão com filhotes no útero ou então mantendo um intervalo de tempo entre as oviposturas suficiente para que o animal consiga obter a energia necessária para ovipositar com sucesso (TUOMI *et al.*, 1983).

Koene & Maat (2004) observaram em seu estudo que a glândula de albúmen dos animais criados agrupados de *L. stagnalis* (Linnaeus, 1758) que produziram ovos foi significativamente menor que a dos grupos que não colocaram ovos, indicando que os animais que produzem muitos ovos têm parte da sua glândula de albúmen esgotada. Há uma tendência apontando que animais que colocam mais ovos mantêm-se menores, indicando um antagonismo entre crescimento e reprodução através da função feminina. A glândula prostática apresentou-se maior nos indivíduos criados isolados comparado com os criados agrupados, sendo que há correlação positiva entre esse órgão e o tamanho do indivíduo. O fato de a glândula prostática possuir maior tamanho quando a função feminina não é iniciada, revela o antagonismo entre a função masculina e feminina nesse hermafrodita

durante o desenvolvimento. Foi demonstrado que quando nenhum parceiro sexual está disponível, os indivíduos investem principalmente em crescimento e na função masculina durante o desenvolvimento. A alocação de recursos para o processo reprodutivo feminino apenas começa quando a cópula ocorre.

O Investimento reprodutivo (IR) define-se como a proporção de recursos em um organismo que são alocados na reprodução em um tempo determinado ou por algum intervalo de tempo (TUOMI *et al.*, 1983; PIANKA & PARKER, 1975). Esse índice pode ser estimado dividindo-se o peso dos filhotes recém-eclodidos pelo peso de seu parental multiplicando-se esse valor por 100 para obtenção de valores percentuais (HINES, 1982).

Para atingir o sucesso reprodutivo máximo durante a vida, uma quantidade limitada de recursos precisa ser repartida entre todos os componentes da história de vida de tal forma que um equilíbrio ótimo entre crescimento, manutenção e reprodução seja alcançado (KOENE & MAAT, 2004).

De visser *et al.* (1994) demonstraram que normalmente metade dos recursos reprodutivos que estão disponíveis no molusco adulto são investidos na função masculina. Esse achado concorda com as predições teóricas de que devido à digestão do esperma (e o conflito sexual resultante), o investimento deveria ser igual na reprodução feminina e masculina nos hermafroditas, desde que acasalamentos múltiplos e competição espermática ocorram (GREFF & MICHIELS, 1999).

O tamanho dos ovos dos moluscos terrestres varia muito em dimensão. Existe uma correlação significativa entre o tamanho corporal do molusco e o tamanho do ovo, sendo que o menor ovo registrado mede cerca de 0,4 mm e o maior 51X35 mm e pertence a espécie *Megalobulimus popelairianus* (Nyst, 1845) (HELLER, 2001). Quanto maior o tamanho do ovo maior será a quantidade de nutrientes armazenados nele e maior também será o período de desenvolvimento (BAUR, 1994).

Há dois modos básicos de estratégia reprodutiva entre os gastrópodes pulmonados terrestres: a semelparidade, em que os animais se reproduzem apenas durante uma única estação reprodutiva, morrendo em seguida e a itereoparidade, em que os animais se reproduzem durante uma estação e continuam vivos podendo se reproduzir mais vezes durante a vida (HELLER, 2001).

Uma das vantagens da itereoparidade seria que se um animal tivesse sua progênese aniquilada por condições ambientais desfavoráveis, os parentais teriam a oportunidade de se reproduzir novamente, criando uma nova geração (STEARNS & CRANDAL, 1981). Em habitats instáveis e em constante mudança, a seleção age em favor de um ciclo de vida curto, um investimento reprodutivo alto e da semelparidade. Já em habitats estáveis e competitivos, a seleção age a favor de um ciclo de vida longo, maturidade tardia, baixo investimento reprodutivo e itereoparidade (HELLER, 2001).

Outra classificação para a estratégia reprodutiva é a teoria de seleção r/K (MACARTHUR & WILSON, 1967). As espécies r estrategistas possuem um alto investimento reprodutivo, alcançam cedo a maturidade sexual, produzem grandes ninhadas com jovens pequenos e possuem um ciclo de vida curto. Já as K estrategistas possuem um baixo investimento reprodutivo, a maturidade sexual é tardia, produzem ninhadas pequenas com jovens robustos e ciclo de vida longo. É sugerido que a estratégia r pode ocorrer em habitats com condições ambientais instáveis, sendo que a estratégia K ocorra em habitats com condições ambientais estáveis, em que o tamanho da população é próximo do que o habitat pode suportar e a produção de poucas e pequenas ninhadas são mais vantajosas (MACARTHUR & WILSON, 1967; STEARNS, 1976).

2.3. Relação entre ovoviviparidade e dessecação

A maioria dos gastrópodes terrestres são ovíparos, colocando ovos que contêm apenas um zigoto unicelular ou em estágio de clivagem inicial de 2 a 4 células. Algumas espécies podem reter seus ovos dentro do trato reprodutivo durante uma parte do período embrionário, sendo que quando os ovos são liberados, os embriões já se encontram em uma fase avançada de desenvolvimento. Na ovoviviparidade, que é um caso extremo de retenção de ovos, os mesmos são retidos dentro do trato reprodutivo por todo o período embrionário, sendo que o jovem eclode dentro do corpo do molusco parental. Em alguns casos especializados de ovoviviparidade (denominado como viviparidade) os nutrientes passam do molusco parental para os embriões em desenvolvimento, os quais são retidos no trato

reprodutivo até se tornar um jovem livre. Algumas espécies podem ser flexíveis na sua estratégia de desenvolvimento, podendo reter os ovos, embriões ou jovens em função da condição ambiental vigente (HELLER, 2001).

Um critério ambiental importante para o sucesso do desenvolvimento dos ovos é um local que esteja permanentemente úmido. O ambiente seco é o fator mais comum de mortalidade dos ovos e a estratégia de oviposição gira em torno de minimizar o stress de umidade no embrião em desenvolvimento (TOMPA, 1984). Como exemplo, o molusco terrestre pulmonado *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758) apenas coloca seus ovos se o solo estiver completamente úmido (POTTS, 1975).

A retenção de ovos no trato reprodutivo geralmente ocorre quando as condições ambientais não são favoráveis para os ovos e juvenis (HELLER, 2001). Peake (1978) sugere que a ovoviviparidade possa contribuir na redução do nível de mortalidade e assim aumentar a probabilidade de sucesso na colonização de um novo hábitat, principalmente em espécies com taxas reprodutivas muito baixas.

A ovoviviparidade pode ser vantajosa entre os gastrópodes pulmonados terrestres, ou em áreas em que o início da estação chuvosa é imprevisível, ou quando a liberação dos filhotes no ambiente no começo da estação de crescimento poderia fornecer uma vantagem competitiva sobre os jovens oriundos de animais ovíparos (TOMPA, 1984). O principal benefício da retenção de ovos e ovoviviparidade pode ser uma minimização na taxa de mortalidade de ovos causada pela seca e por predadores. A ovoviviparidade é comum em espécies que vivem em habitats com condições ambientais extremas e em espécies que vivem em regiões tropicais (BAUR, 1994).

Em animais que possuem uma baixa taxa de fecundidade, uma estratégia para aumentar o sucesso reprodutivo seria reter os poucos ovos em desenvolvimento dentro do trato reprodutivo e liberar filhotes. Filhotes ativos são vantajosos em comparação com os ovos, já que a mobilidade torna-os capazes de escapar de condições desfavoráveis do microclima (HELLER, 2001).

A viviparidade é muito rara entre os gastrópodes pulmonados terrestres, sendo considerada até não existente por alguns autores. No entanto, algumas evidências mostram que ela pode ocorrer, mas em número bastante restrito (TOMPA, 1979; HELLER, 2001).

O gastrópode pulmonado *Limicolaria martensiana* (E. A. Smith, 1880) potencialmente pode ovipositar durante o decorrer de todo o ano, mas retém seus ovos em períodos secos do ano, quando os adultos estiverem. No início da estação chuvosa, os moluscos ovipõem imediatamente, o que garante as melhores perspectivas de sobrevivência para os filhotes (OWEN, 1965). *Lacinaria biplicata* (Montagu, 1803) é um espécie de gastrópode terrestre que usualmente é ovípara, mas sob condições ambientais desfavoráveis pode colocar os ovos com embriões bem desenvolvidos (BAUR, 1994). A espécie *Pupilla muscorum* (Linnæus, 1758) é parcialmente ovovivípara, podendo hibernar quando grávida, depositando os ovos com embriões parcialmente desenvolvidos no início da estação reprodutiva, fornecendo aos jovens um prolongado período de crescimento (TOMPA, 1984).

No estudo realizado por Carvalho *et al.* (2009) que observaram pela análise do útero grávido de espécimes de *L. unilamellata*, que não há nenhuma estrutura que possa indicar uma ligação entre os embriões e o molusco parental, sendo que esses são envolvidos em uma fina membrana que é rompida antes que ocorra o nascimento. Dessa forma pode-se dizer que *L. unilamellata* deve ser classificada como sendo ovovivípara.

Pouco se sabe sobre aspectos reprodutivos de gastrópodes pulmonados terrestres ovovivíparos tais como a história de vida, morfologia do sistema reprodutor e influência de fatores bióticos e abióticos no ciclo de vida. Isso é relacionado à raridade de espécies que apresentam a ovoviviparidade. A maioria dos estudos referentes a espécies ovovivíparas têm-se centrado em moluscos aquáticos de água doce (JOKINEN *et al.*, 1982).

2.3.1. Ovipostura e comportamento de cuidado parental nos gastrópodes pulmonados terrestres

Para a oviposição, algumas espécies de gastrópodes terrestres utilizam buracos naturais ou fendas no solo ou sobre pedras e pedaços de madeira. Em outras espécies, os moluscos primeiro aumentam ou escavam os buracos no solo e algumas espécies fazem um ninho para sua postura (TOMPA 1984; HELLER, 2001).

O gastrópode pulmonado *Cepaea nemoralis* (Linnaeus, 1758) possui como condições ótimas para a produção e postura de ovos, períodos curtos de alternância entre chuva e tempo seco com relativamente altas temperaturas (WOLDA & KREULEN, 1973).

Uma comparação interespecífica demonstrou que as espécies que retêm os ovos e ovovivíparas produzem menos filhotes ou menores ninhadas do que as espécies que são ovíparas. Isso pode sugerir um custo do cuidado parental realizado por essas espécies (BAUR, 1994). A reabsorção dos ovos, como um meio de reter nutrientes, pode ser uma estratégia comum entre os gastrópodes pulmonados (HELLER, 2001). Os moluscos ovovivíparos podem habitar locais que são impróprios para as espécies de moluscos ovíparos, como por exemplo paredes de rochas expostas (BAUR, 1994).

O cuidado parental entre os moluscos terrestres podem incluir a preparação de locais para a oviposição, uma produção de grande porte, ovos fortificados com grande quantidade de carbonato de cálcio, retenção de ovos e ovoviviparidade, sendo que o provisão de ovos com nutrientes e o carbonato de cálcio podem ser a forma mais comum de investimento parental. Não tem sido observado cuidado parental referente a moluscos jovens em nenhuma espécie de gastrópodes pulmonados.

2.3.2. Influência da umidade sobre a biologia

A umidade é um fator que afeta vários aspectos fisiológicos, ecológicos e comportamentais dos moluscos terrestres pulmonados (COOK, 2001). A baixa umidade do solo também pode influenciar a reprodução dos moluscos pulmonados, já que a produção de células germinativas é afetada por esse fator (SILVA *et al.*, 2009).

Vários moluscos terrestres pulmonados, quando submetidos a condições ambientais desfavoráveis de umidade e temperatura, podem apresentar comportamentos para garantir sua sobrevivência tais como a retração da massa cefalopodal no interior da concha, o enterramento no solo e a estivação. A capacidade de resistência à dessecação desses moluscos pode estar relacionada com o habitat e estilo de vida diferenciado desses animais (ARAD, 1993).

Silva *et al.* (2009) estudaram a influência da umidade do substrato sobre a biologia e reprodução do gastrópode terrestre pulmonado *Bulimulus tenuissimus* (Orbigny, 1835) comparando dados de 3 grupos de moluscos que tiveram seu substrato umedecido a intervalos de 1, 3 e 7 dias. Não houve diferença significativa no crescimento dos moluscos conforme houve o aumento no intervalo de reposição da água no substrato, embora o grupo que era umedecido a intervalos de 7 dias obteve um crescimento mais lento. Já com relação à fecundidade, a umidade teve grande influência, em que os moluscos que tiveram seu substrato umedecido a intervalos de 1 dia produziram significativamente mais ovos do que aqueles umedecidos a intervalos de 7 dias, sendo também que esse último grupo apresentou uma taxa de mortalidade significativamente maior do que a dos demais grupos.

Quando os moluscos estão submetidos a condições ambientais adversas, eles tendem a cessar suas atividades naturais e entrar no estado de estivação. A estivação é um mecanismo em que há uma forte redução na taxa metabólica, sendo utilizado para suportar condições sazonalmente áridas, muitas vezes em ambientes desérticos. Esse estado fisiológico pode ser utilizado como uma estratégia que possibilita a sobrevivência dos moluscos por longos períodos de seca. A capacidade de retenção de água e a disponibilidade de reservas energéticas que são continuamente consumidas, são fatores que possibilitam o molusco entrar no estado de estivação. Como os níveis de reservas energéticas são reduzidos, o animal passa a crescer menos e tem sua fecundidade diminuída (STOREY, 2002).

Alguns moluscos juntamente com a estivação, formam o epifragma que se trata de uma estrutura formada a partir do perístoma, basicamente composta por carbonato de cálcio, que fecha a abertura da concha temporariamente, diminuindo a superfície corporal sujeita à evaporação, impedindo a perda de água. Dessa forma, garante ao animal a manutenção das reservas energéticas e da água corporal em níveis compatíveis com a sua sobrevivência (STOREY, 2002; STRUTHERS *et al.*, 2002). O epifragma de *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758) possui como composição 86,75% de carbonato de cálcio; 0,96% de carbonato de magnésio; 5,36% de fosfatos alcalinos; 0,16% de ferro; 0,35% de sílica e 6,42% de material orgânico (WICKE, 1863 *in* HYMAN, 1967).

O molusco em estado de estivação conserva suas reservas energéticas através de uma drástica baixa em sua taxa metabólica. Essa redução na taxa metabólica provém da

diminuição dos movimentos voluntários, parada da digestão, redução na taxa de respiração e batimento cardíaco e padrões de respiração apnóica. No estado de estivação, o molusco apenas produz proteínas essenciais para a manutenção da vida (STOREY, 2002).

Os gastrópodes pulmonados terrestres perdem água e se reidratam através de seu tegumento, pela reidratação por contato. Quando se locomovem, os moluscos perdem água para o solo e atmosfera através do muco e evaporação. A perda da água pelo tegumento sem reidratação posterior pode levar a diversas alterações fisiológicas, comportamentais e ecológicas nesses animais, levando a mudanças na alimentação, ritmo do batimento cardíaco e locomoção. Esses fatores possuem implicação direta no crescimento, fecundidade e mortalidades desses moluscos (HODASI, 1979; COOK, 2001).

As estratégias de sobrevivência adotadas pelos moluscos diante de condições ambientais desfavoráveis tais como o enterramento, retração da massa cefalopodal para o interior da concha e estivação, podem ter efeito direto na ineficácia dos tratamentos com moluscicidas (PIERI & JURBERG, 1981).

2.4. O sistema reprodutor dos gastrópodes pulmonados terrestres

Há muitas informações sobre a morfologia do sistema reprodutor dos gastrópodes terrestres na literatura malacológica, primariamente como consequência dos estudos sobre a sistemática desses grupos. No entanto, informações mais detalhadas da estrutura e função do sistema reprodutor dos gastrópodes terrestres são limitadas a poucas espécies e amplamente focadas nos membros das famílias Achatinidae, Agriolimacidae, Arionidae, Helicidae, Limacidae e Streptaxidae. Na base dos estudos dessas famílias, pode-se concluir que os ductos e glândulas que compreendem os elementos essenciais do sistema reprodutor em estilomatóforos são estruturalmente e funcionalmente bem caracterizados. Todavia, permanece pouco estudada a variação estrutural e funcional em Stylomatophora. A escassez de dados é até mais aparente quando a consideração é feita para os grupos Archeopulmonata, Gymnomorpha e Prosobranchia (GÓMEZ, 2001).

O conhecimento da biologia reprodutiva dos gastrópodes terrestres, tal como informações da estrutura e função dos órgãos reprodutivos tem desempenhado um importante papel em estudos de sistemática, os quais procuram fornecer maior compreensão sobre a história evolutiva e entre as linhagens de gastrópodes pulmonados (GÓMEZ, 2001).

A reprodução dos gastrópodes terrestres é caracterizada por fertilização interna, comportamento de corte frequentemente elaborado e desenvolvimento direto dos embriões. Os pulmonados terrestres são hermafroditas simultâneos, com a gônada inicialmente na fase masculina e predominantemente na fase feminina ao final do ciclo reprodutivo. A fertilização cruzada, combinada com a oviparidade é prevalente, mas a autofecundação e a ovoviviparidade são variações disseminadas que evoluíram em várias linhagens filogenéticas independentemente (GÓMEZ, 2001).

Os gastrópodes pulmonados terrestres exibem uma grande diversidade com respeito ao sistema reprodutor, o que reflete na filogenia. Os órgãos do aparelho reprodutor desses animais apresentam grande variação mesmo em níveis taxonômicos próximos. Estudos demonstram que a seleção sexual desempenha um notável papel na condução sobre a divergência genital. Aponta-se também, que a variação na morfologia genital está ligada diretamente ao sucesso de reprodução da parte masculina desse sistema. Existem associações entre a complexidade genital e os padrões de acasalamento entre as espécies. Há também evidências de que os órgãos que compõe a parte masculina e feminina podem co-evoluir de forma antagônica (EBERHARD, 1989; GÓMEZ, 2001).

Todos os grupos dentro dos gastrópodes pulmonados terrestres possuem apenas uma gônada localizada na massa visceral, geralmente embutida na glândula digestiva. A gônada abre-se para o oviduto o qual funciona direcionando os gametas para a abertura genital, sendo que esse varia em complexidade de um táxon para outro (GÓMEZ, 2001).

O sistema reprodutor dos gastrópodes prosobrânquios consiste de tecidos que possuem diferentes origens embriológicas. A gônada e seus dutos associados são de origem mesodérmica e podem ser referidos como gonoduto celômico. A maior parte do gonoduto celômico que se estende através da cavidade visceral ligando-se com a cavidade palial é derivado do rim recebendo o nome de gonoduto renal. A porção distal do gonoduto é de origem ectodérmica, denominado como gonoduto palial. Na parte masculina, essa porção é ampla, com paredes formando a glândula prostática que secreta os fluidos seminais. Na parte

feminina, as paredes do gonoduto palial são diferenciadas em várias regiões glandulares associadas com nutrição e proteção dos zigotos fertilizados para produção de ovos. Essas glândulas femininas são volumosas e incluem a glândula de albúmen e as glândulas da cápsula, sendo localizadas próximas umas das outras. Dois tipos de bolsas espermáticas estão presentes no gonoduto palial feminino, ambas localizadas próximas à glândula de albúmen e glândulas da cápsula. São elas a bolsa copuladora a qual recebe espermatozóides e fluidos prostáticos do parceiro, e o receptáculo seminal em que os espermatozóides recebidos do acasalamento passam da bolsa copuladora para serem estocados e usados em uma fertilização posterior. Em adição aos gonodutos celômico e palial, um pênis muscular está localizado na parede anterior do corpo, geralmente no lado direito na cabeça. O vaso deferente juntamente com o pênis constituem a porção cefalopodal do sistema reprodutor dos prosobrânquios terrestres (FRETTER & GRAHAM, 1962; IBÁÑES & ALONSO, 1978; GÓMEZ, 2001).

Os gastrópodes pulmonados terrestres se diferenciam dos prosobrânquios terrestres por possuírem certas características como o hermafroditismo, em que os gametas femininos e masculinos são produzidos em uma única gônada; um afundamento do gonoduto palial dentro da cavidade do corpo; a separação da glândula de albúmen da glândula da cápsula; o desenvolvimento de um longo duto na bolsa copuladora e o desenvolvimento de um pênis que se retrai para dentro da cavidade do corpo quando o animal não está sexualmente ativo. Isso representa graus de evolução, em vez de uma sequência filogenética linear. O gonoduto celômico geralmente compreende o ovotestis e o duto hermafrodita. Esse por sua vez elaborado em uma vesícula seminal, uma porção alargada onde os espermatozóides produzidos são estocados. A junção dos gonodutos celômico e palial é denominada carrefour, estrutura a qual aparentemente funciona como uma câmara de fertilização. Na maioria dos gastrópodes pertencentes à subordem Stylommatophora, o receptáculo seminal é um divertículo, algumas vezes subdividido em vários túbulos de fundo cego. Essa região do trato reprodutivo tem também recebido o nome de complexo espermático, mas de acordo com RUNHAM (1988) a ausência de um órgão especial nessa região em alguns pulmonados faz com que o termo carrefour seja mais adequado (DUNCAN, 1975; NORDSIECK, 1985; HAASE & BAUR, 1995; GÓMEZ, 2001).

Sendo hermafrodita, o gonoduto palial dos pulmonados terrestres compreende o espermoduto com a glândula prostática e o oviduto com a glândula de albúmen e glândulas da cápsula. Quando o espermoduto e o oviduto têm suas luzes unidas o órgão inteiro passa a se chamar de espermooviduto. O espermoduto continua como vaso deferente até o pênis, sendo que frequentemente sua porção distal é alargada internamente dando origem a uma estrutura conhecida como epifalo. Se o vaso deferente não insere terminalmente no epifalo, um divertículo chamado de flagelo é formado (GÓMEZ, 2001).

2.4.1. Conflito sexual e digestão de esperma

A grande variação nas características reprodutivas femininas e masculinas pode ser resultado de uma coevolução entre esses dois tratos, sendo que uma variação fenotípica em um trato reprodutivo geraria uma seleção correspondente no trato do sexo oposto (BIRKHEAD & PIZZARIA, 2002). A grande quantidade de esperma que é transferida na cópula, o complexo órgão de armazenamento de esperma (a espermateca) e mecanismos elaborados que digerem o excesso de espermatozóides podem evidenciar a existência de interações intersexuais (MICHIELS, 1998).

Vários estudos nos ramos experimentais, comparativos e teóricos sugerem que a competição espermática, como um aspecto de seleção sexual pós-copulatória, atua com uma das forças principais que irão dirigir a evolução dos caracteres masculinos (GAGE & MORROW, 2003; SNOOK, 2005). Nos táxons animais em que ocorre fecundação interna, a competição espermática ocorre dentro do sistema reprodutivo feminino (BEESE *et al.*, 2006).

Uma considerável variação inter e intraespecífica na morfologia do sistema reprodutivo feminino dos gastrópodes pulmonados terrestres, como por exemplo o número de túbulos que compõe o órgão de armazenamento de espermatozóides (espermateca), indica uma potencial pressão seletiva atuando na parte do sistema reprodutor masculino assim como na porção feminina (BAUR, 1988).

Beese *et al.* (2006) compararam a variação intraespecífica nos sistemas reprodutivos feminino e masculino do gastrópode pulmonado terrestre *A. arbustorum* (Linnaeus, 1758). O principal resultado que esses autores obtiveram mostrou que o número de esperma transferido é relacionado positivamente com volume da espermateca, órgão o qual faz parte do sistema feminino. Esse resultado evidencia uma associação evolutiva entre uma característica ejaculatória masculina e um órgão do sistema reprodutor feminino em um animal hermafrodita simultâneo.

Nos gastrópodes pulmonados terrestres, a proporção da quantidade de esperma recebido armazenado (aloesperma) na espermateca é muito baixa quando comparada com o número de esperma recebido, o que estaria relacionado ao conflito sexual (ROGERS & CHASE, 2001). O esperma restante é digerido no órgão especializado em digestão de esperma, a bolsa copuladora (BEESE & BAUR, 2006).

Nos moluscos terrestres pulmonados, a espermateca pode apresentar uma estrutura complexa e há considerável variação entre e dentro das espécies no número de túbulos que armazenam esperma nesse órgão (BAUR, 1998). Beese & Baur (2006) observaram que a espermateca do gastrópode pulmonado *A. arbustorum* (Linnaeus, 1758) é expansível e pode acomodar mais esperma do que seria esperado, levando em conta a medida do volume inicial desse órgão antes da cópula. Essa expansão é possível graças ao epitélio da espermateca que possui intergitações entre a membrana celular basal e lateral, quando não possui esperma armazenado, possibilitando que o epitélio consiga se esticar. Eles observaram também que o preenchimento dos túbulos da espermateca segue uma sequência, sendo que o túbulo principal é preenchido primeiramente seguido dos túbulos laterais. Isso pode indicar uma possível separação especial de esperma de acasalamentos múltiplos em diferentes túbulos e assim representar um mecanismo para uma escolha crítica de esperma.

Em muitos táxons animais, a espermateca coevoluiu com o esperma e o trato ejaculatório, o que pode ter acontecido através de um conflito entre as funções sexuais sobre o controle da paternidade. Isso indica que a espermateca permite ao receptor de esperma, ao menos algum controle sobre o uso do esperma e fecundação (BIRKHEAD & PIZZARI, 2002).

Lind (1973) estudou o trajeto dos espermatozoides no trato genital do gastrópode pulmonado *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758). O autor observou que o aloesperma recebido

alcança o espermoduto pelo espermatóforo e vai até a espermateca, órgão o qual os espermatozoides são armazenados, sendo que a grande maioria dos alloespermatozoides é transportada para a bolsa copuladora, onde são digeridos. O longo período durante o qual o esperma permanece na espermateca e a atividade do esperma durante o armazenamento nesse órgão continuando viável, sugere que os espermatozoides podem adquirir energia na espermateca. Os longos túbulos podem fornecer aos espermatozoides a nutrição necessária (BEESE & BAUR, 2006).

3. ASPECTOS DA HISTÓRIA DE VIDA E INVESTIMENTO REPRODUTIVO DE MOLUSCOS DA ESPÉCIE *Leptinaria unilamellata* (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, PULMONATA, SUBULINIDAE) MANTIDOS ISOLADOS E PAREADOS

3.1. Introdução

O filo Mollusca apresenta grande diversidade e riqueza de espécies, sendo representado como o segundo maior filo animal. Os moluscos estão distribuídos em diversos ambientes, tais como marinho, água doce e terrestre (HYMAN, 1967; VALENTINE, 2004). Dentre os diferentes grupos dentro do filo Mollusca, os gastrópodes pulmonados estão entre os grupos de animais terrestres mais adaptados a esse ecossistema, sendo que se estima que haja mais de 24.000 espécies distribuídas em habitats diversificados (HELLER, 2001).

Conhecer os aspectos do crescimento, reprodução e mortalidade de cada espécie de molusco terrestre pulmonado, permite elucidar os diferentes padrões do ciclo de vida existentes entre eles. O conhecimento da biologia reprodutiva das espécies de moluscos pulmonados terrestres é essencial para estruturação de formas de manejo das populações de moluscos em risco de extinção, elaboração de estratégias de controle das populações de parasitos que utilizam esses moluscos como hospedeiros intermediários, bem como para o controle de populações de moluscos que atuam como pragas agrícolas (BACKELJAU *et al.*, 2001; D'ÁVILA *et al.*, 2004).

O investimento reprodutivo é definido como a quantidade de energia que é alocada por um indivíduo para o processo reprodutivo em um tempo determinado ou por um intervalo de tempo (PIANKA & PARKER, 1975; BAYNE *et al.*, 1983). Esse índice é importante para fornecer dados sobre o fracionamento da energia para fins reprodutivos e de crescimento do animal, além de fornecer base para comparação entre populações com relação à resposta ao stress (BAYNE *et al.*, 1983). Supõe-se que a energia alocada para a reprodução pode limitar o crescimento do animal que está se reproduzindo (CALOW, 1979).

Leptinaria unilamellata (d'Orbigny, 1835) é um gastrópode terrestre pulmonado conhecido por ser hospedeiro intermediário de trematódeos de importância médico-veterinária que parasitam bovinos e aves domésticas (ARAÚJO & KELLER, 1993). Essa espécie é encontrada na Bolívia e em todos os estados brasileiros, habitando locais úmidos, sendo que ocorrem com maior frequência em períodos com alto índice pluviométrico (ARAÚJO, 1982; SIMONE, 2006).

Os objetivos desse estudo foram analisar aspectos do crescimento, reprodução e sobrevivência de *L. unilamellata*, mantidos isolados e pareados, definidos pelos seguintes parâmetros: taxa de crescimento; tempo para o alcance da maturidade sexual; número de eventos reprodutivos; número de filhotes por evento reprodutivo; fecundidade e mortalidade, bem como suas inter-relações. Além disso, o investimento reprodutivo foi calculado em cada evento reprodutivo dos moluscos mantidos isolados e pareados, a partir do alcance da maturidade sexual.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Obtenção e manutenção dos moluscos

Os moluscos utilizados em todos os experimentos foram obtidos a partir de criações matrizes de laboratório. De diferentes criações matrizes, foram coletados indivíduos recém-nascidos para compor os grupos experimentais. Os moluscos foram mantidos em caixas plásticas com 14 cm de diâmetro e 9 cm de altura, tendo como substrato três centímetros de terra vegetal, umedecida a intervalos de um dia, com 10 ml de água clorada (despejada sobre o substrato) e alimentados com ração para ave de corte enriquecida com carbonato de cálcio (na proporção de 3:1) (BESSA & ARAÚJO, 1995a, b).

3.2.2. Procedimentos para análise do crescimento, reprodução e mortalidade

Para a realização desse experimento os indivíduos recém-eclodidos foram divididos em dois grupos experimentais. Trinta moluscos foram mantidos em caixas plásticas individuais e trinta foram mantidos pareados totalizando quinze caixas.

A intervalos de quinze dias, a partir do primeiro dia do experimento, foi aferido o comprimento da concha dos moluscos, com auxílio de um paquímetro Kanon (Mardened Stainless 1/28 in 1/20 mm).

O aparecimento de filhotes no terrário foi o parâmetro utilizado para a constatação da maturidade sexual dos moluscos. A partir da constatação do alcance da maturidade sexual, foram realizadas observações diárias para a verificação do número de eventos reprodutivos realizados, do número de filhotes por evento reprodutivo, intervalo entre eventos reprodutivos e fecundidade (número total de filhotes/número de indivíduos). Para o cálculo da taxa de mortalidade foram realizadas observações diárias e cada morte observada foi registrada. Os moluscos foram mantidos sob temperatura ambiente e condições naturais de luz e temperatura. O crescimento dos moluscos, aferido pelo aumento na altura da concha, foi acompanhado até os 270 dias de vida. Esse experimento teve início no mês de agosto do ano de 2011 e término em maio de 2012.

3.2.3. Procedimentos para a análise do investimento reprodutivo de moluscos mantidos isolados e pareados

A intervalos de 15 dias, a partir da idade de recém-nascido, os moluscos foram pesados em balança analítica de precisão até ao alcance da maturidade sexual.

Após o nascimento dos filhotes, os moluscos parentais e respectiva prole foram pesados para o cálculo do investimento reprodutivo. O investimento reprodutivo (IR) foi estimado dividindo-se o valor da massa de filhotes pela massa corporal do molusco parental, multiplicando-se o valor final por cem para a obtenção de valores percentuais. O IR foi

verificado em todos os eventos reprodutivos realizados durante o período de observação de 270 dias. Esse experimento teve início no mês de agosto do ano de 2011 e término em maio de 2012. No 91º dia de experimento, os moluscos mantidos isolados e pareados apresentaram os primeiros filhotes no terrário. A partir dessa data até o término do experimento foi calculado o investimento reprodutivo (IR) de cada molusco em cada evento reprodutivo.

3.2.4. Análises estatísticas

Foram realizadas análises estatísticas descritivas, para o cálculo da média, moda, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos de cada parâmetro observado, sendo que os dados descritos e os referentes ao investimento reprodutivo, calculado para os moluscos mantidos isolados e pareados, foram comparados entre si pelo teste de análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$). Utilizou-se o teste D'Agostino-Pearson (k amostras; $n \geq 20$) para avaliação da normalidade de distribuição dos dados. As análises foram realizadas no programa BioEstat 5.0.

Para verificar a existência de correlação entre o investimento reprodutivo e a fecundidade por evento reprodutivo, bem como entre o investimento reprodutivo e o número médio de filhotes por evento reprodutivo, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman (r_s) (significância de 0,05).

3.3. Resultados

3.3.1. Crescimento

Com relação ao crescimento da concha, observou-se que nos primeiros 100 dias de vida, durante a fase jovem, os indivíduos pareados apresentaram crescimento mais rápido quando comparados aos indivíduos isolados. Após a maturidade sexual que teve início no 91º dia de experimento, a taxa de crescimento dos moluscos isolados e pareados passou a ser semelhante e tendeu a se estabilizar com o decorrer do tempo. Houve diferença significativa até o 141º dia de vida comparando os dados da altura da concha entre os moluscos mantidos isolados e pareados (Gráfico 1 e 2). Após essa data, não houve diferença significativa entre os valores médios de comprimento da concha de indivíduos isolados e pareados. O comprimento máximo da concha dos indivíduos isolados foi de 1,54 cm enquanto os pareados apresentaram altura máxima de 1,58 cm (Tabelas 1 e 2).

Logo após o alcance da maturidade sexual pelos moluscos mantidos isolados, a taxa de crescimento sofreu declínio, aumentando no período entre 141 e 156 dias de vida, diminuindo após isso e tendendo à estabilidade (Gráfico 1). Os moluscos mantidos pareados apresentaram declínio na taxa de crescimento no período anterior ao alcance da maturidade sexual, entre 60 e 82 dias de vida. Após esse período de declínio, houve alguns pequenos picos de crescimento, e ao longo das observações subsequentes, a curva de crescimento tendeu a estabilizar (Gráfico 1). A taxa de crescimento média dos indivíduos isolados durante a fase jovem foi 0,006 cm/dia e durante a fase adulta, 0,002 cm/dia. A taxa de crescimento média dos indivíduos pareados, durante a fase jovem foi 0,011 cm/dia e durante a fase adulta, 0,002 cm/dia. Pode-se observar que após o alcance da maturidade sexual, os moluscos tanto isolados como pareados continuaram a crescer o que significa que *L. unilamellata* possui crescimento indeterminado.

Foi possível observar através do coeficiente de variação que a partir do 156º dia de experimento, esse índice passou a diminuir tanto para os indivíduos isolados quanto para os

pareados, mostrando tendência à homogeneização do crescimento nesses indivíduos (Tabelas 1 e 2).

3.3.2. Reprodução

No 91º dia do experimento foi observado o primeiro aparecimento de filhotes tanto nos indivíduos isolados quanto nos indivíduos pareados. O tempo médio para o alcance da maturidade sexual nos indivíduos isolados foi de 99,9 dias e para os indivíduos pareados foi de 93,6 dias. Houve diferença significativa no tempo do alcance da maturidade sexual entre os moluscos mantidos isolados e pareados ($F= 5,1334$; $p= 0,0257$).

No decorrer de 270 dias de observação constatou-se que os moluscos da espécie *L. unilamellata* são capazes de se reproduzir realizando autofecundação, sendo que todos os indivíduos mantidos isolados, com exceção de dois moluscos que morreram logo no início do experimento, reproduziram-se dessa forma.

Os indivíduos isolados realizaram oito eventos reprodutivos, enquanto os indivíduos pareados realizaram 13 eventos, sendo que no total os primeiros obtiveram o máximo de 134 filhotes e mínimo de dois por evento reprodutivo e os últimos apresentaram máximo de 177 filhotes e mínimo de 15 por evento reprodutivo (Tabelas 3 e 4). Somando-se o número total de filhotes ao término do experimento, os indivíduos isolados tiveram 867 filhotes enquanto os pareados tiveram 1028 filhotes. Analisando o número total de filhotes por evento reprodutivo dos moluscos isolados e pareados, constatou-se que não houve diferença significativa entre o número de filhotes por eles obtido ($F=2,0329$; $p=0,1672$). Com relação à fecundidade, os moluscos mantidos isolados apresentaram uma média de 6,24 filhotes por evento reprodutivo (2,75 - 8,62), a qual foi maior em relação aos moluscos mantidos pareados que obtiveram a fecundidade média de 3,42 (1 - 4,8). Comparando os dados, constatou-se que há diferença significativa entre a fecundidade dos moluscos isolados e pareados ($F=16,3585$; $p<0,0010$).

No presente trabalho, os indivíduos pareados iniciaram a atividade reprodutiva mais cedo e apresentaram mais eventos reprodutivos do que os indivíduos isolados, isso pode

explicar o fato dos moluscos mantidos pareados terem produzido mais filhotes até o término do experimento.

3.3.3. Mortalidade

Ao decorrer do desenvolvimento do experimento, seis indivíduos mantidos isolados morreram (taxa de mortalidade de 20%) e sete indivíduos mantidos pareados morreram (taxa de mortalidade de 23,3%). Analisando esses dados referentes à mortalidade, foi observado que não ocorreu diferença significativa entre os indivíduos mantidos isolados e pareados ($F=0,07$; $p=0,80$).

Tabela 1. Crescimento durante 270 dias da longevidade de *Leptinaria unilamellata*, aferido pela altura da concha (em centímetros) dos indivíduos mantidos isolados.

Medição	Dias de vida	Número de indivíduos	Altura média da concha (cm)	Coefficiente de variação	Altura mínima	Altura máxima	Taxa de crescimento (cm/dia)
1 ^o	3	30	0,24 ± 0,03	18 %	0,19	0,3	0,004
2 ^o	21	30	0,31 ± 0,05	17 %	0,21	0,42	0,003
3 ^o	40	30	0,38 ± 0,06	19 %	0,26	0,56	0,006
4 ^o	56	30	0,48 ± 0,07	18 %	0,31	0,66	0,01
5 ^o	70	30	0,62 ± 0,08	19 %	0,43	0,78	0,008
6 ^o	82	30	0,72 ± 0,10	17 %	0,55	0,94	0,01
7 ^o	98	30	0,88 ± 0,09	22 %	0,68	1,06	0,01
8 ^o	114	30	1,07 ± 0,09	15 %	0,83	1,16	0,003
9 ^o	128	30	1,11 ± 0,20	20 %	0,83	1,23	0,002
10 ^o	141	30	1,14 ± 0,11	19 %	0,84	1,35	0,006
11 ^o	156	25	1,24 ± 0,13	14 %	1,05	1,45	0,002
12 ^o	171	25	1,27 ± 0,10	12 %	1,07	1,46	0,0006
13 ^o	186	25	1,28 ± 0,10	12 %	1,13	1,47	0,001
14 ^o	202	25	1,30 ± 0,10	10 %	1,15	1,46	0
15 ^o	218	25	1,30 ± 0,10	10 %	1,15	1,45	0,0005
16 ^o	237	25	1,31 ± 0,10	10 %	1,12	1,49	0,0005
17 ^o	255	24	1,32 ± 0,10	9 %	1,15	1,54	0
18 ^o	270	24	1,32 ± 0,10	9 %	1,15	1,54	

Tabela 2. Crescimento durante 270 dias da longevidade de *Leptinaria unilamellata*, aferido pela altura da concha (em centímetros) dos indivíduos mantidos pareados.

Medição	Dias de vida	Número de indivíduos	Altura média da concha (cm)	Coefficiente de variação	Altura mínima	Altura máxima	Taxa de crescimento (cm/dia)
1 ^o	6	30	0,23± 0,03	13 %	0,18	0,29	0,005
2 ^o	28	30	0,34 ± 0,05	15 %	0,25	0,46	0,008
3 ^o	41	30	0,45 ± 0,06	12 %	0,34	0,6	0,01
4 ^o	56	30	0,60 ± 0,08	13 %	0,44	0,75	0,03
5 ^o	60	30	0,74 ± 0,09	11 %	0,53	0,99	0,006
6 ^o	82	30	0,87 ± 0,10	11 %	0,62	1,12	0,009
7 ^o	98	30	1,02 ± 0,12	12 %	0,76	1,4	0,005
8 ^o	114	30	1,14 ± 0,09	8 %	0,99	1,38	0,003
9 ^o	128	29	1,19 ± 0,09	7 %	1,04	1,42	0,005
10 ^o	141	26	1,25 ± 0,10	8 %	1,05	1,45	0,002
11 ^o	156	26	1,28 ± 0,10	8 %	1,1	1,45	0,002
12 ^o	171	26	1,31 ± 0,08	6 %	1,12	1,48	0,0006
13 ^o	186	26	1,32 ± 0,08	6 %	1,13	1,52	0,001
14 ^o	202	26	1,34 ± 0,08	6 %	1,13	1,57	0,0006
15 ^o	218	26	1,35 ± 0,08	6 %	1,13	1,58	0
16 ^o	237	26	1,35 ± 0,08	6 %	1,13	1,58	0,0005
17 ^o	255	26	1,36 ± 0,09	6 %	1,14	1,57	0
18 ^o	270	23	1,36 ± 0,08	6 %	1,14	1,57	

Tabela 3. Parâmetros reprodutivos observados durante 270 dias de vida de *Leptinaria unilamellata* dos indivíduos mantidos isolados.

Eventos reprodutivos	Número de indivíduos	Número médio de filhotes por evento reprodutivo	Coefficiente de variação	Número mínimo de filhotes	Número máximo de filhotes	Número total de filhotes	Fecundidade (Número total de filhotes/Número de indivíduos)
1°	28	4,61 ± 2,85	49%	1	6	77	2,75
2°	27	5,37 ± 3,18	66%	1	7	111	4,11
3°	26	5,97 ± 3,95	60%	1	9	145	5,57
4°	24	6,54 ± 5,02	72%	1	9	137	5,7
5°	24	5,37 ± 4,08	63%	1	11	177	7,37
6°	16	6,47 ± 4,53	98%	5	12	138	8,62
7°	8	7,23 ± 5,35	182%	2	11	67	8,37
8°	2	5,68 ± 5,37	381%	7	8	15	7,5

Tabela 4. Parâmetros reprodutivos observados durante 270 dias de vida de *Leptinaria unilamellata* dos indivíduos mantidos pareados.

Eventos reprodutivos	Número de indivíduos	Número médio de filhotes por evento reprodutivo	Coefficiente de variação	Número mínimo de filhotes	Número máximo de filhotes	Número total de filhotes	Fecundidade (Número total de filhotes/Número de indivíduos)
1°	30	4,66 ± 1,71	37 %	2	8	70	2,3
2°	30	4,8 ± 3,53	73%	1	12	72	2,4
3°	28	5,14 ± 3,72	72%	1	14	72	2,8
4°	28	6,5 ± 2,97	46%	1	19	91	3,2
5°	28	9,5 ± 3,89	41%	1	16	133	4,7
6°	28	8,85 ± 5,36	60%	1	24	124	4,4
7°	28	8,71 ± 4,9	56%	1	16	122	4,3
8°	28	9,57 ± 4,63	48%	3	16	134	4,8
9°	20	8,2 ± 4,88	59%	2	17	82	4,1
10°	16	7,12 ± 6,12	86%	1	18	57	3,6
11°	10	7,8 ± 10,4	133%	1	19	39	3,9
12°	10	5,25 ± 3,6	68%	2	9	30	3
13°	2	2 ± 0	0%	2	2	2	1

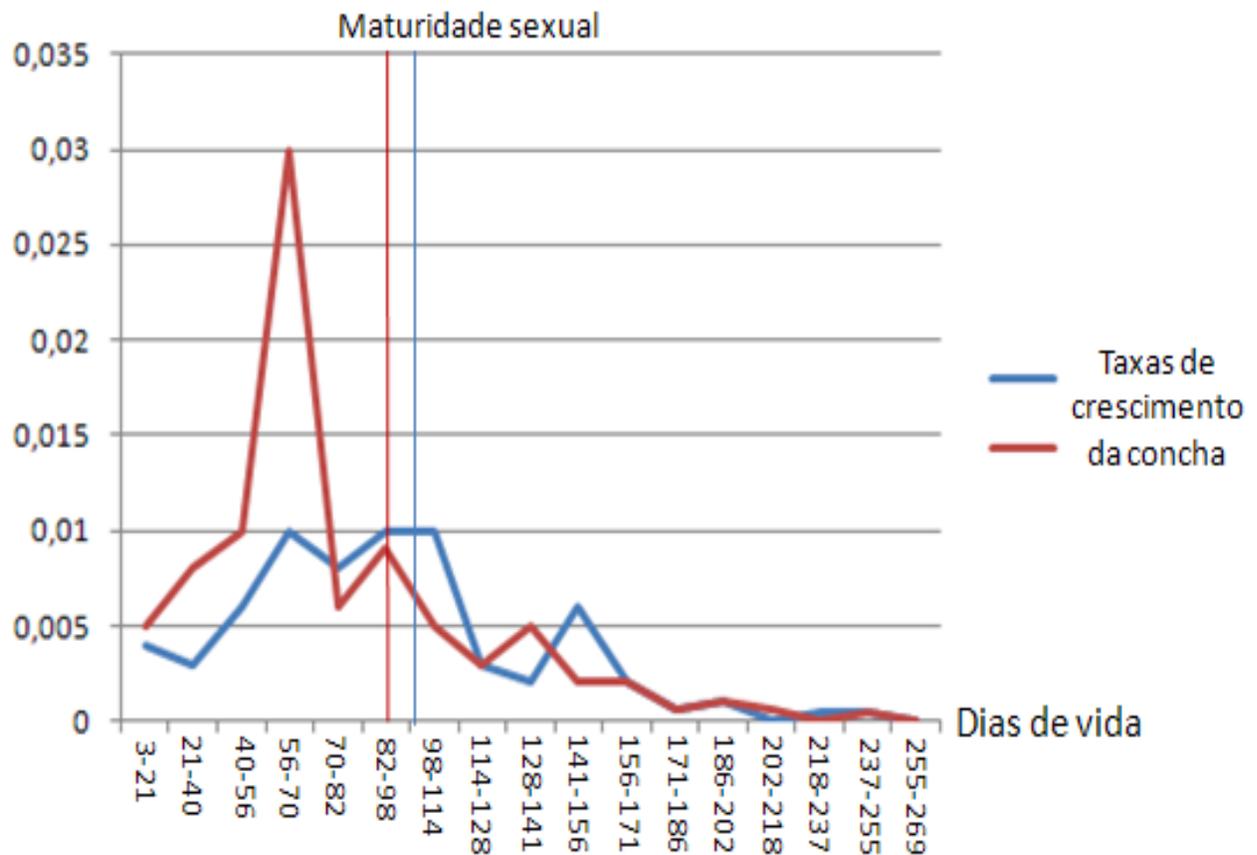


Gráfico 2. Taxas de crescimento da concha (cm/dia) dos indivíduos da espécie *Leptinaria unilamellata* mantidos isolados e pareados. As linhas azuis representam a taxa de crescimento e alcance da maturidade sexual pelos indivíduos isolados, enquanto as linhas vermelhas indicam esses mesmo índices para os moluscos mantidos pareados. (O eixo X representa as medições e o eixo Y representa a taxa de crescimento da altura da concha dos moluscos isolados).

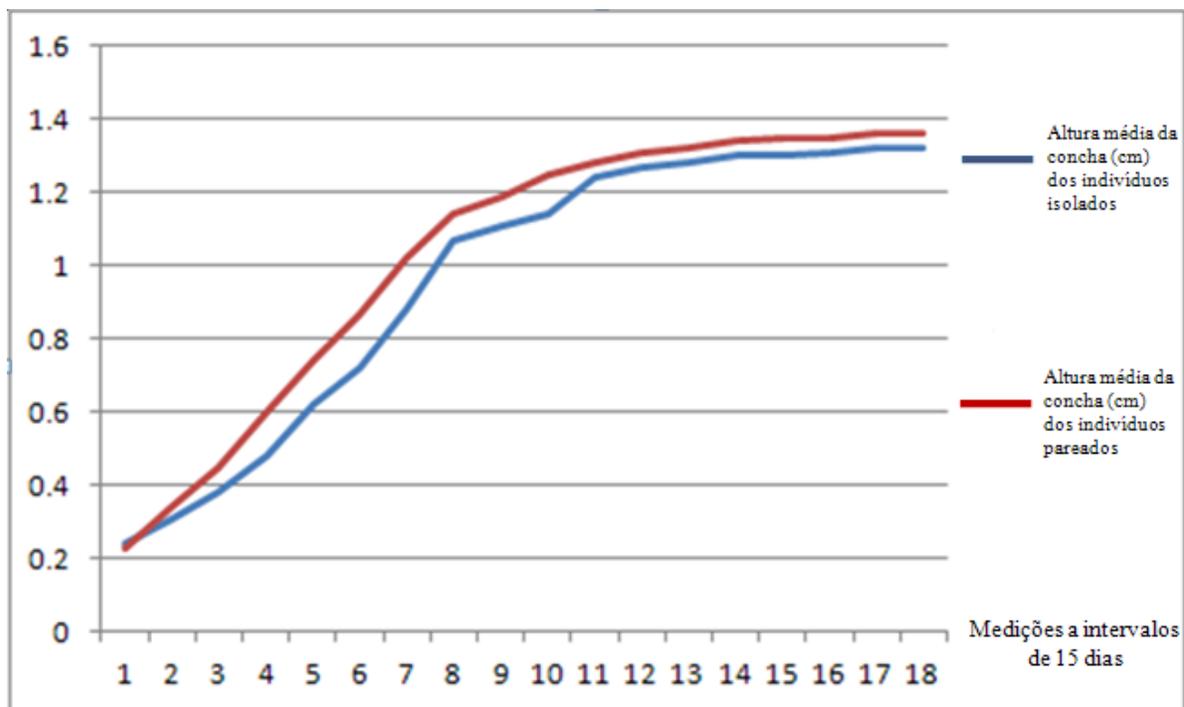


Gráfico 2. Comprimentos médios da concha dos indivíduos mantidos isolados em relação aos pareados da espécie *Leptinaria unilamellata* em medições com intervalo de 15 dias (O eixo X representa as medições a intervalos de 15 dias e o eixo Y representa os valores médios do crescimento da altura da concha dos moluscos).

3.3.4. Investimento reprodutivo

Nos indivíduos isolados, o investimento reprodutivo manteve-se estável nos quatro primeiros eventos, aumentando no quinto, sexto e sétimo e diminuindo no oitavo (Gráfico 3). Nos indivíduos pareados, o investimento reprodutivo oscilou atingindo o valor máximo no segundo evento reprodutivo e mínimo no décimo primeiro evento (Gráfico 4). Na tabela 5 e 6, estão descritos os valores de IR para os moluscos mantidos isolados e pareados, respectivamente, em cada um dos eventos reprodutivos. Ao longo de todos os eventos reprodutivos, os indivíduos pareados apresentaram investimento reprodutivo médio de 8,15% de massa corporal (6,02-14,29), significativamente menor quando comparado ao IR

de 12,28% de massa corporal (8,7-19,9) encontrado para os indivíduos isolados (ANOVA $p=0$; $F=34,0539$). Os indivíduos mantidos isolados apresentaram valores médios de IR por evento reprodutivo superiores àqueles dos moluscos pareados, 11,89-17,7 e 4,45-10,65% de massa corporal, respectivamente (ANOVA $p=0$; $F=42,0497$). Tanto os indivíduos isolados quanto pareados produziram filhotes com massa corporal entre 0,002-0,004g. Não foram detectadas diferenças significativas entre as médias de massa corporal dos filhotes recém-eclodidos de indivíduos isolados e pareados ($p=0,22$; $F=1,6433$).

Verificou-se que os moluscos parentais liberam seus filhotes em cavidades escavadas na terra por eles, aparentemente com ausência de algum tipo de proteção secretada pelo molusco parental.

Através do teste de Coeficiente de Correlação de Spearman foi possível constatar que houve correlação positiva entre o investimento reprodutivo e a fecundidade por evento reprodutivo nos moluscos mantidos isolados ($r_s=0,95$; $t=8,06$; $p=0,0002$) e não houve correlação entre esses dados para os indivíduos pareados ($r_s=0,3$; $t=1,02$; $p=0,32$). Com relação às análises entre o investimento reprodutivo e o número médio de filhotes por evento não houve correlação para os moluscos isolados ($r_s=0,65$; $t=2,13$; $p=0,07$) e pareados ($r_s=0,3$; $t=1,01$; $p=0,33$).

Tabela 5. Investimento reprodutivo (% de massa corporal) por evento reprodutivo, investimento reprodutivo médio por indivíduo e investimento reprodutivo médio dos moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* mantidos isolados.

Indivíduos isolados	Investimento Reprodutivo (% de massa corporal) por evento reprodutivo								Investimento Reprodutivo médio (IR) por indivíduo (% de massa corporal)
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	
1	14,4	14,4	16,1	13,1	24,7	27,9	-	-	18,4
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	7,2	18,2	12,6	2,2	20,3	16,5	18,6	-	13,6
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	7,6	9,1	7,5	8,4	14,3	16,6	-	-	10,6
6	14,2	13,4	16,4	18,2	-	-	-	-	15,5
7	28,5	28,5	14,8	16	17,8	14,1	-	-	19,9
8	13,4	20,3	7,5	17,7	20,6	13,7	-	-	15,5
9	13,2	6,5	6,5	-	-	-	-	-	8,7
10	9,5	14,1	16	17,3	-	-	-	-	14,2
11	22,3	7,2	1,4	21,8	15,2	15,3	-	-	13,8
12	13,8	13,9	14,8	14,7	20,8	20,7	-	-	16,4
13	9,5	16	14,9	-	-	-	-	-	13,4
14	4,6	10,7	5,9	11,8	17,3	-	-	-	10
15	13,4	2,2	2,2	19,2	11,7	16,7	23,9	16,7	13,2
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	12	12	16,1	14,9	17,6	14,1	7,9	-	13,5
18	10,6	10,6	8,7	3,7	20	24,6	20	10,5	13,6
19	8,4	16,9	16,9	1,8	13,2	-	-	-	11,4
20	16,4	15,5	17,4	15,1	-	-	-	-	16,1
21	3,7	13	15,6	14,9	16,5	-	-	-	12,7
22	10,5	13,6	17,5	16,2	15,1	17,7	-	-	15,1
23	8	15,1	12,4	1,4	19,4	-	-	-	11,2
24	8,7	-	-	-	-	-	-	-	8,7
25	21,2	12,4	16,5	19,3	-	-	-	-	17,4
26	16,7	2,8	16,3	15,9	13,9	-	-	-	13,1
27	10	4,9	12,7	2,4	14,5	14,9	-	-	9,9
28	4,2	17,3	22	12	7,6	18,3	-	-	13,5
29	13,6	15,1	15,8	14,4	16,8	-	-	-	15,1
30	5,6	13,7	16,4	16,8	1,9	-	-	-	10,9
IR médio por evento reprodutivo	11,89	12,97	13,11	12,88	15,96	17,7	17,6	13,6	12,28%

Tabela 6. Investimento reprodutivo (% de massa corporal) por evento reprodutivo, investimento reprodutivo médio por indivíduo e investimento reprodutivo médio dos moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* mantidos pareados.

Investimento Reprodutivo (% de massa corporal) por evento reprodutivo													
Indivíduos pareados	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	Investimento Reprodutivo médio por indivíduo (% de massa corporal)
1	7,43	16,65	6,23	6,23	6,12	16,27	17,65	16,93	-	-	-	-	11,68
2	7,43	6,33	4,68	1,27	12,58	3,66	15,45	10,96	1,97	-	-	-	14,29
3	9,73	8,75	1,72	1,72	8,06	8,01	1,42	16,4	16,26	15,52	7,54	9,46	8,71
4	8,29	28,16	6,77	6,9	11,64	17,89	8,42	8,65	4,49	-	-	-	11,24
5	7,06	11,37	5,91	12,26	10,51	16,36	7,85	5,35	9,58	-	-	-	9,5
6	5,07	8,05	6,91	7,87	6,58	11,03	6,15	8,1	6,14	8,95	4,96	1,83	6,8
7	1,46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,46
8	7,96	7,38	7,38	4,85	14,71	1,16	7,7	6,45	15,6	13,95	-	-	8,71
9	5,62	19,53	7,67	8,31	18,11	7,98	4,96	-	-	-	-	-	8,88
10	7,52	5,72	11,51	7,47	6,75	0,75	10,88	6,46	1,01	18,42	1,27	-	7,07
11	5,98	7,09	6,67	9,11	10,81	8,11	8,96	8,46	6,22	-	-	-	7,93
12	4,92	5,56	9,03	9,95	3,63	3,24	10,1	3,19	4,59	-	-	-	6,02
13	2,54	8,89	6,9	1,18	1,78	16,24	17,79	5,04	2,93	0,92	7,18	-	6,49
14	3,25	8,89	1,76	8,87	5,25	11,98	12,08	12,02	-	-	-	-	8,0
15	3,49	6,81	6,28	5,23	9,58	4,48	9,19	3,02	9,42	5,99	1,32	8,94	6,14
IR médio por evento reprodutivo	5,85	10,65	6,38	6,51	9	9,08	9,9	8,4	7,11	10,62	4,45	6,74	8,15%

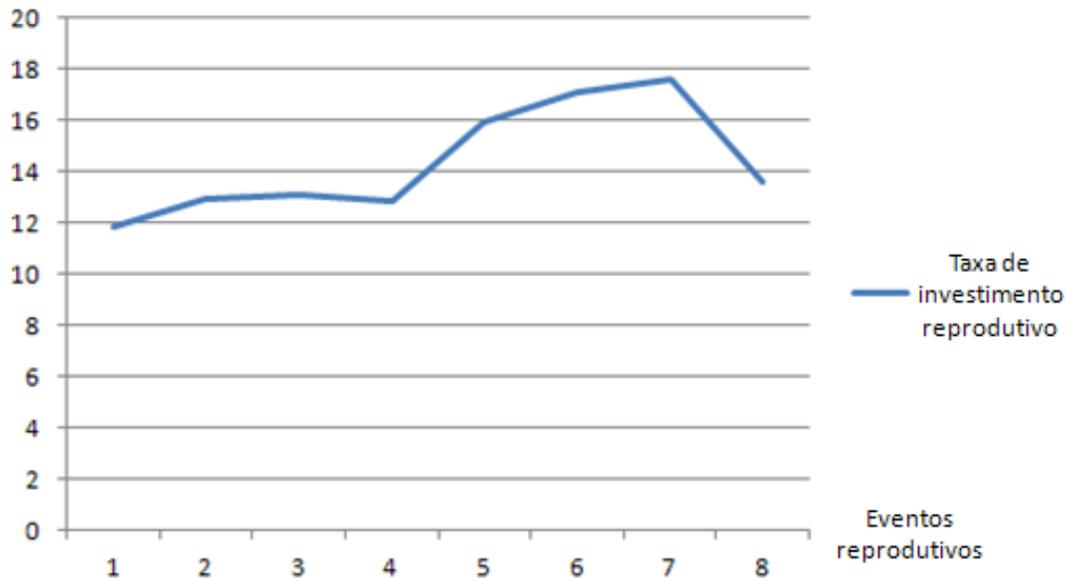


Gráfico 3. Taxa de investimento reprodutivo dos moluscos isolados da espécie *Leptinaria unilamellata*. O eixo X representa o investimento reprodutivo médio em valores percentuais. O eixo Y representa o número dos eventos reprodutivos.

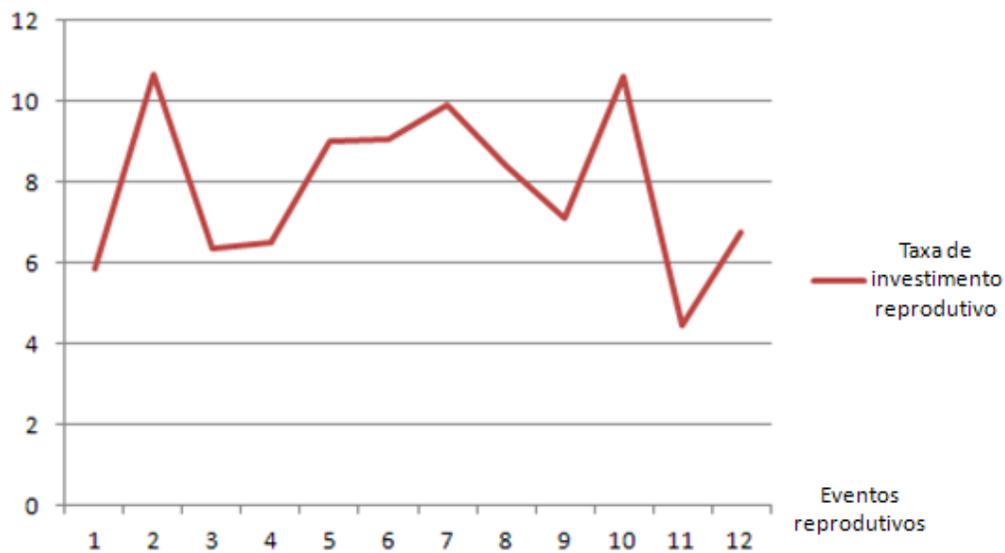


Gráfico 4. Taxa de investimento reprodutivo dos moluscos pareados da espécie *Leptinaria unilamellata*. O eixo X representa o investimento reprodutivo médio em valores percentuais. O eixo Y representa o número dos eventos reprodutivos.

3.4. Discussão

Os moluscos terrestres pulmonados possuem duas estratégias de alocação de recursos durante a vida, o crescimento determinado e o indeterminado. No crescimento determinado toda a energia excedente é alocada para o crescimento antes da reprodução e com o alcance da maturidade sexual a energia é alocada apenas para a reprodução sendo que o molusco tem seu crescimento cessado. Já no crescimento indeterminado o animal cresce após o alcance da maturidade sexual de forma desacelerada até o fim de sua vida (CICHÓN, 1999).

Com relação ao crescimento aferido pela altura da concha, dos moluscos da espécie *L. unilamellata* tanto isolados como pareados, pôde-se observar que no período anterior ao alcance da maturidade sexual, a taxa de crescimento manteve-se alta e após tal evento, a taxa tendeu a cair e estabilizar com o passar do tempo, mostrando que os moluscos antes de alcançarem a maturidade sexual alocaram suas energias em favor do seu crescimento e quando atingiram a maturidade, alocaram grande parte de sua energia para o sucesso reprodutivo, mas também uma parte para o crescimento. Isso pode ser comprovado analisando os valores das taxas médias dos indivíduos isolados e pareados, em que ambos apresentaram maiores taxas de crescimento na fase jovem e na fase adulta valores menores. Esse resultado corrobora as observações de Catvalho *et al.* (2009), que afirmam que *L. unilamellata* possui crescimento indeterminado, já que continua a crescer, mesmo que em menores taxas, após o alcance da maturidade sexual. Outros gastrópodes pulmonados também apresentam crescimento indeterminado tais como *Achatina achatina* (Linné, 1758) (Achatinidae) (HODASI, 1979), *Subulina octona* (Brugüiere, 1792) (Subulinidae) (BESSA & ARAÚJO, 1995; D'AVILA & BESSA, 2005b) e *Bulimulus tenuissimus* (d'Orbigny, 1835) (Bulimulidae) (SILVA *et al.*, 2008).

Essa estratégia adotada de crescimento corporal mesmo após o alcance da maturidade sexual associado à distribuição do esforço reprodutivo em vários eventos durante a vida, permite ao animal compensar futuramente as desvantagens do antagonismo existente entre crescimento e reprodução no evento reprodutivo atual. O crescimento corporal leva ao aumento da capacidade de produzir e armazenar filhotes nos próximos eventos reprodutivos,

aumentando o sucesso reprodutivo ao longo da vida do molusco, desde que a fecundidade seja compensada pelo maior tamanho corporal (CICHÓN, 1999; SILVA *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2009).

Os resultados desse estudo comprovaram que *L. unilamellata* é capaz de se reproduzir através de autofecundação, conforme observado por Almeida & Bessa (2001b). A autofecundação tem sido observada em muitas famílias de gastrópodes pulmonados, sendo um modo comum de reprodução nesse grupo (PARAENSE & CORRÊA, 1988). Os moluscos mais amplamente estudados são basomatóforos, tais como os planobídeos afálicos, onde o acasalamento é ausente e a autofecundação é o único modo de reprodução. A autofertilização foi demonstrada em todas as espécies de Basommatophora estudadas e não é incomum em Stylommatophora, mas a maioria desses pulmonados aparentemente se reproduz primariamente por fecundação cruzada (GOMOT-DE-VAUFLEURY, 2001).

A reprodução dos gastrópodes terrestres é caracterizada por fertilização interna, comportamento de corte freqüentemente elaborado e desenvolvimento direto dos embriões. Os pulmonados terrestres são hermafroditas simultâneos, com a gônada inicialmente na fase masculina e predominantemente na fase feminina ao final do ciclo reprodutivo. A fertilização cruzada, combinada com a oviparidade é prevalente, mas a autofertilização e a ovoviviparidade são variações disseminadas que evoluíram em várias linhagens filogenéticas independentemente (GÓMEZ, 2001). Os resultados do presente estudo confirmaram que a espécie *L. unilamellata* é ovovivípara, como já havia sido relatado por Carvalho *et al.* (2009). Além de se reproduzir por fecundação cruzada é capaz também de realizar autofecundação.

Alguns indivíduos podem apresentar dificuldade em encontrar parceiros sexuais, por causa da mobilidade limitada ou pela baixa densidade populacional. A autofecundação é conhecida por oferecer uma garantia reprodutiva que pode ser vantajosa para populações que apresentam baixas densidades populacionais, permitindo a reprodução quando parceiros sexuais não estão disponíveis, mesmo à custa da depressão da variabilidade genética por endogamia (JARNE & CHARLESWORTH, 1993; GOW *et al.*, 2004; KALISZ *et al.*, 2004).

No presente estudo foi observado que os indivíduos pareados alcançaram a maturidade sexual mais cedo do que os indivíduos isolados. É possível que estímulos químicos estimulem a reprodução quando os moluscos estão mantidos na presença de

coespecíficos. A fecundação cruzada é apontada como o sistema de acasalamento mais propício, quando comparado à autofecundação, em função dos efeitos deletérios da endogamia. Neste sentido, a autofecundação seria uma estratégia alternativa, na ausência de parceiros para o acasalamento e o retardo para o início da reprodução nos indivíduos isolados poderia refletir a espera pela oportunidade do encontro de um parceiro. Van Duivenboden (1983) mostrou que a recepção de esperma no molusco aquático *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) acelera o início da postura de ovos. Esse resultado pode aludir para a presença de um alohormônio no esperma, o qual iniciaria o processo reprodutivo feminino no parceiro (KOENE & TER MAAT, 2001). Uma substância candidata que poderia induzir o início da reprodução feminina é o hormônio da postura de ovos (CDCH), o qual está presente no esperma (VAN MINNEN *et al.*, 1989).

Os moluscos mantidos isolados obtiveram fecundidade maior do que a apresentada pelos moluscos pareados. Resultado que não está em conformidade com a maioria dos dados presentes na literatura, como o estudo realizado por Almeida & Bessa (2001a), em que indivíduos da espécie de molusco terrestre *Bradybaena similaris* apresentaram menor fecundidade quando mantidos isolados. Outro exemplo, seria o estudo realizado por Jarne & Delay (1990) em que o número médio de ovos por cápsula ovígera na espécie *Lymnaea peregra* (Müller, 1774) foi duas vezes maior nos indivíduos que realizaram fecundação cruzada do que nos que se reproduziram por autofecundação, demonstrando que os moluscos que se reproduziram por autofecundação mostraram tiveram menor sucesso na postura de ovos em comparação com aqueles que se reproduziram através da fecundação cruzada. Outro resultado antagônico foi o obtido por Koene & Maat (2004) que criaram espécimes do molusco aquático *L. stagnalis* isolados e em grupo e perceberam que os moluscos agrupados produziram maior número de massas ovígeras quando comparados aos moluscos isolados.

No presente estudo, foi observado que indivíduos da espécie *L. unilamellata* mantidos isolados demoraram um maior tempo para alcançar a maturidade sexual e quando alcançaram possuíam uma maior fecundidade em relação aos moluscos mantidos pareados. Segundo Tsitrone *et al.* (2003), os animais que se reproduzem através da autofecundação, na ausência de um parceiro, apresentam um tempo de espera antes do início da reprodução. Isso levaria a uma realocação de recursos para o crescimento e reprodução futura. Em virtude da

realocação de recursos, o atraso no início da reprodução é de fato parcialmente compensado pela maior fecundidade. Indivíduos mantidos isolados da espécie de molusco aquático *Physa acuta* (Draparnaud, 1805) adiam o início da reprodução e apresentam uma maior fecundidade quando comparados com os moluscos que tiveram livre acesso a parceiros sexuais (HENRY *et al.*, 2006)

Paraense & Corrêa (1988) estudaram a autofecundação no molusco planorbídeo *Helisoma duryi* (Wetherby, 1879). Os autores observaram que *H. duryi* é capaz de se reproduzir por autofecundação, mas tal capacidade é muito baixa em comparação com outras espécies de planorbídeos descritas na literatura, sendo assim esse modo de reprodução não é uma alternativa tão eficiente como ocorre em outras espécies de gastrópodes pulmonados. Assim os autores concluíram que *H. duryi* beneficia-se muito menos do hermafroditismo funcional, o qual além de outras vantagens, habilita um único indivíduo virgem a fundar uma nova população.

Silva *et al.* (2008), estudando a reprodução de indivíduos isolados, pareados e agrupados encontrou que a taxa de ovos produzidos pelos moluscos *Bulimulus tenuissimus* (Orbigny, 1835) mantidos isolados eram muito baixas em relação aos outros grupos. Resultados semelhantes também foram encontrados para os pulmonados *Bradybaena similaris* (Ferussac, 1821) (ALMEIDA & BESSA, 2001a) e *Arianta arbustorum* Linnaeus, 1758 (Helicidae) (BAUR *et al.*, 1998). Silva *et al.* (2008) chegaram à conclusão de que a autofecundação é possível, mas não confere um grande sucesso reprodutivo, tal como foi observado no presente estudo para *L. unilamellata*, sendo importante apenas quando os animais estão vulneráveis a condições desfavoráveis.

Um caso que se assemelha ao de *L. unilamellata* é o do molusco *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) que foi estudada por Costa *et al.* (2004). Os autores compararam a fecundidade e fertilidade de *B. glabrata* e *B. straminea*, ambas espécies hospedeiras intermediárias do trematódeo *Schistosoma mansoni*. Foi observado nesse estudo que os espécimes de *B. glabrata* criados isoladamente apresentaram menor produção de massas ovíferas, ovos por massa ovígera e ovos por molusco quando comparado com os indivíduos criados agrupados, sugerindo que para essa espécie a fecundação cruzada permanece preferencial, conforme a maioria dos dados na literatura. Já *B. straminea* o número médio de massas ovíferas, ovos por massa ovígera e ovos por molusco observado para indivíduos

isolados e agrupados foi semelhante, indicando que a capacidade reprodutiva dessa espécie não diminui em grupo ou isoladamente. Essa estratégia favorece *B. straminea* consideravelmente no que diz respeito à autofecundação, forma de reprodução a qual não se torna limitante para essa espécie. Tal molusco comporta-se, com relação à autofecundação, de maneira semelhante ao que foi observado no presente estudo para *L. unilamellata*, em termos de capacidade reprodutiva, apesar de ser mencionado na literatura a preferência pela fecundação cruzada entre os planorbídeos. *Biomphalaria straminea* possui algumas características particulares como a vagilidade, resistência à dessecação (assim como *L. unilamellata*), alto índice de locomoção, amplo poder de exploração e grande adaptabilidade a condições ambientais. Todas essas características são importantes quando relacionadas à grande fecundidade dessa espécie, explicando o grande sucesso em face de fatores adversos.

Os processos envolvidos na reprodução, tais como o desenvolvimento e maturação das gônadas, manutenção e incubação dos ovos ou filhotes e postura dos mesmos, demandam um grande investimento energético. Por essa razão, após o alcance da maturidade, a energia destinada para o crescimento será limitada, já que o investimento energético majoritário será destinado para fins reprodutivos (CALOW, 1979; LEME, 2006). Os animais podem armazenar energia, superando suas limitações quando estão em processo reprodutivo, alimentando-se continuamente durante o período em que os filhotes estão dentro do trato reprodutivo e dando um intervalo entre os eventos reprodutivos, para que a energia gasta na última reprodução seja repostada (TUOMI *et al.*, 1983).

A espécie *L. unilamellata* possui longevidade estimada entre 2 a 3 anos, além de apresentar crescimento indeterminado (continuando a crescer mesmo após o alcance da maturidade sexual), sendo uma espécie iterópara (CARVALHO *et al.*, 2009). Pode-se observar que o investimento reprodutivo na prole, mesmo entre os indivíduos mantidos isolados e pareados, é mediano e mantêm-se estável nos primeiros eventos reprodutivos, o que demonstra que essa espécie distribui sua energia acumulada em vários eventos reprodutivos. Esse resultado é diferente ao que ocorre entre espécies que realizam um alto investimento reprodutivo em um evento, o que pode acarretar com que as próximas proles não obtenham tanto sucesso quanto a primeira, além de afetar diretamente o crescimento do indivíduo parental (WILLIAMS, 1966; CALOW, 1979; PIANKA & PARKER, 1983). Entre os moluscos, as espécies semélparas realizam maior investimento reprodutivo na prole, já

que possuem uma oportunidade única para se reproduzir, em comparação com as espécies iteróparas, sendo que nessas últimas o investimento aumenta de acordo com os sucessivos eventos reprodutivos (BROWNE & HUNTER, 1978). O crescimento continuado do animal associado a essa distribuição da energia em vários eventos reprodutivos, pode compensar o antagonismo relatado por Calow (1979) existente entre investimento reprodutivo e tempo de vida do indivíduo parental.

Através dos dados expostos pelas tabelas 5 e 6 é possível observar que tanto os indivíduos mantidos isolados como os mantidos pareados, apresentaram um maior índice de investimento reprodutivo nos eventos subsequentes ao primeiro. Em espécies iteróparas esse resultado é esperado, já que com o aumento da idade e do tamanho do corpo do indivíduo, mais energia estará disponível e será alocada para fins reprodutivos, aumentando assim o investimento reprodutivo nos sucessivos eventos reprodutivos (BROWNE & HUNTER, 1978; PERRON, 1982).

Existem evidências de que o investimento reprodutivo seja correlacionado positivamente com o índice de mortalidade na vida adulta do indivíduo e negativamente com o sucesso na sobrevivência dos juvenis, tanto em espécies semélparas quanto iteróparas (PERRON, 1982). Além disso, acredita-se também que o investimento reprodutivo seja inversamente proporcional ao nível de stress a que uma população ou indivíduo está submetido (GOODMAN, 1979).

Na maioria das espécies de moluscos bivalves, o investimento reprodutivo aumenta com a idade do animal, ocorrendo variação intra e interespecífica nos valores absolutos (THOMPSON, 1984). O investimento reprodutivo pode ser maior em nos eventos reprodutivos subsequentes ao primeiro, como foi observado para *L. unilamellata* e em espécies que apresentam um maior comprimento corporal. Como exemplo disso tem-se o caso do bivalve *Perna perna* (Linnaeus, 1758) que é uma espécie pequena, com alta taxa de crescimento sendo que pouca energia é alocada para a reprodução. Já as vieiras da espécie *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758) possuem um grande tamanho e valores proporcionalmente mais alto de investimento reprodutivo (BAYNE & WORRALL, 1980; BAYNE *et al.*, 1983).

O investimento reprodutivo pode variar entre populações dentro de pequenas regiões geográficas. Como exemplo pode-se citar o caso das vieiras da espécie *Placopecten*

magellanicus (Gmelin, 1791) que habitam águas rasas e apresentam investimento reprodutivo maior quando comparado às vieiras que estão em águas mais profundas, onde a suplementação alimentar é mais escassa (BAYNE *et al.*, 1983).

Os resultados do presente estudo evidenciaram que os moluscos que se reproduziram por autofecundação realizaram um maior investimento energético na reprodução, quando comparados aos moluscos mantidos pareados, os quais provavelmente reproduziram-se por fecundação cruzada. Apesar do maior investimento energético, os moluscos mantidos isolados produziram número de filhotes semelhante ao encontrado para os moluscos mantidos pareados. Os filhotes de indivíduos isolados e pareados apresentaram massa corporal semelhante, indicando que a energia extra gasta na reprodução pelos indivíduos isolados não foi direcionada para a produção de filhotes com maior tamanho. Esses resultados podem indicar que a reprodução por autofecundação é energeticamente mais custosa do que a reprodução cruzada, uma vez que os moluscos precisam desempenhar o papel feminino e masculino, produzindo espermatozóides e oócitos. Esses resultados são inéditos para essa espécie, sendo que o investimento reprodutivo ainda é pouco estudado nos gastrópodes pulmonados terrestres.

3.5. Conclusões

Com os resultados do presente estudo foi possível concluir que:

O isolamento e a autofecundação não foram fatores limitantes para a fecundidade de *L. unilamellata*, entretanto o menor tempo para o alcance da maturidade sexual, o maior número de eventos reprodutivos e filhotes produzidos pelos indivíduos pareados indica que a presença de um co-específico pode estimular a reprodução nessa espécie, fenômeno conhecido como facilitação social.

Os moluscos mantidos isolados apresentaram maior investimento reprodutivo médio com relação aos mantidos pareados, o que pode indicar que a autofecundação é mais custosa energeticamente em comparação com a fecundação cruzada.

4. ANÁLISE HISTOLÓGICA DO SISTEMA REPRODUTOR EM DIFERENTES IDADES DE *Leptinaria unilamellata* (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, PULMONATA, SUBULINIDAE) MANTIDOS ISOLADOS E PAREADOS

4.1. Introdução

Aspectos morfológicos e histológicos do sistema reprodutor dos gastrópodes pulmonados terrestres trazem informações sobre a estrutura e função dos diversos órgãos reprodutores. Esses dados contribuem para os estudos de sistemática para a diferenciação dos grupos taxonômicos, além de auxiliar no conhecimento sobre a reprodução e comportamento desses grupos animais (ARAÚJO, 1982; GÓMEZ, 2001). Os órgãos do sistema reprodutor dos moluscos pulmonados terrestres apresentam grande variação, no que diz respeito à forma e função (EBERHARD, 1989).

Os gastrópodes terrestres são animais hermafroditas, sendo que os gametas femininos e masculinos são produzidos em uma única gônada localizada na massa visceral, geralmente embutida na glândula digestiva. Esse grupo exibe uma grande diversidade com respeito ao sistema reprodutor, o que reflete na filogenia (GÓMEZ, 2001).

Os moluscos terrestres pulmonados são conhecidos por possuírem importância econômica, atuando como pragas agrícolas, e importância médico-veterinária, sendo hospedeiros intermediários de vários parasitos de animais vertebrados (ARAÚJO, 1982; D'ÁVILA *et al.*, 2004). A espécie de gastrópode pulmonado *Leptinaria unilamellata* (d'orbigny, 1835) é conhecida por ser hospedeiro intermediário de *Tanaisia (Paratania) bragai* (ARAÚJO & KELLER, 1992), *Postharmostomum gallinum* (DUTRA, 1988; AMATO & BEZERRA, 1989), ambos trematódeos parasitos de aves domésticas e *Eurytrema coelomaticum* (ARAÚJO, 1982), parasito de bovinos. O conhecimento detalhado da biologia reprodutiva e sistema reprodutor desses moluscos podem auxiliar na estruturação de estratégias de controle de populações de moluscos e de parasitos que os utilizam como hospedeiros, assim como na construção de formas de manejo de populações que possam estar em risco de extinção (BACKELJAU *et al.*, 2001; D'ÁVILA *et al.*, 2004).

O objetivo do presente estudo foi comparar o desenvolvimento do sistema reprodutor de moluscos da espécie *L. unilamellata* mantidos isolados e pareados em diferentes faixas etárias através de análise histológica.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Local dos experimentos

A criação dos moluscos e a preparação do material destinado ao estudo histológico foram desenvolvidas no Laboratório Avançado de Zoologia (LAZ) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais. A observação das lâminas foi realizada no mesmo Laboratório com auxílio de uma câmera digital acoplada ao Microscópio de Interferência Diferencial (DIC) BX51 Olympus.

O material destinado ao estudo histológico foi processado no Laboratório de Histologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais.

4.2.2. Obtenção e manutenção dos moluscos

De diferentes criações matrizes foram obtidos indivíduos recém-eclodidos, dentre os quais trinta foram mantidos isolados e os outros trinta foram mantidos pareados. Indivíduos mantidos isolados e pareados, com as idades de 15, 45, 75, 90 e 105 dias de vida, totalizando seis moluscos para cada idade, foram destinados ao estudo do desenvolvimento do sistema reprodutor. Os moluscos foram mantidos em caixas plásticas com 14 cm de diâmetro e 9 cm de altura, tendo como substrato três centímetros de terra vegetal, umedecida a intervalos de

um dia, com 10 ml de água clorada (despejada sobre o substrato) e alimentados com ração para ave de corte enriquecida com carbonato de cálcio (na proporção de 3:1) (BESSA & ARAÚJO, 1995a, b).

4.2.3. Fixação dos moluscos e procedimentos para o estudo histológico

Os moluscos foram deixados em um recipiente contendo solução fisiológica, por aproximadamente 24 horas a 20° C em geladeira para que a massa cefalopodal ficasse relaxada e exposta. Posteriormente os espécimes foram fixados em Formalina de Carson Milloning, por no mínimo, 24 horas para o estudo histológico (CARSON *et al.*, 1973).

O material destinado ao estudo histológico foi obtido seguindo-se protocolo proposto por Furtado *et al.* (2004) para as etapas da técnica histológica convencional. Seis indivíduos mantidos isolados e seis pareados nas idades de 15, 45, 75, 90 e 105 dias, todos previamente fixados, foram desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico. A bateria de desidratação foi iniciada com álcool a 70% e finalizada com álcool absoluto, em seis séries de duas horas, perfazendo o total de 12 horas. Em seguida, foi realizada diafanização em Xilol por três horas e a impregnação pela parafina fundida em estufa a 60°C, em dois banhos de duas horas. Para a obtenção de um bloco regular de parafina, o material foi imerso em um molde retangular contendo parafina fundida. Os blocos com os tecidos incluídos foram seccionados em micrótomo. Os cortes de 5 micrômetros foram estirados em água quente e colocados em lâminas. Para a visualização dos componentes teciduais, utilizou-se a coloração por hematoxilina-eosina. Após a coloração as lâminas foram montadas em bálsamo do Canadá, observadas e fotografadas.

4.3. Resultados

De forma geral, o sistema reprodutor de *L. unilamellata* pode ser dividido em duas sessões, a parte palial em que se localizam a próstata, o espermoduto, a glândula de albúmem e o oviduto e a parte celômica onde estão o ovotestis e o ducto hermafrodita. Os ductos das porções masculina e feminina se abrem distalmente para um lúmen denominado átrio genital, que por sua vez abre-se para o exterior (Figura 1).

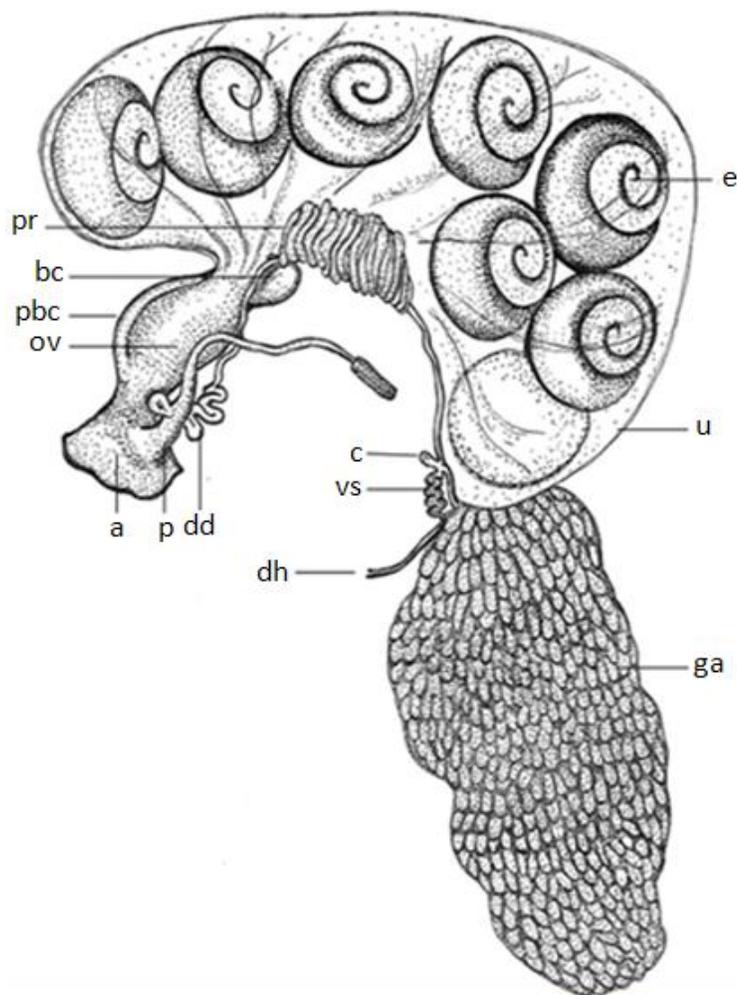


Figura 1- Sistema reprodutor de molusco adulto da espécie *Leptinaria unilamellata*. a: átrio genital, p: pênis, dd: ducto deferente, ov: oviduto, pbc: pedúnculo da bolsa copuladora, bc: bolsa copuladora, pr: próstata, e: embrião, u: útero, ga: glândula de albúmem, dh: ducto hermafrodita, vs: vesícula seminal, c: carrefour. Ilustração Sthefane D'ávila. Barra de escala = 60 μ m.

Com relação à análise de lâminas referente aos moluscos com 15 dias de vida mantidos isolados, pôde-se observar nas primeiras voltas corporais apenas a glândula digestiva, sem a presença do ovotestis (Figura 2A), evidenciando que esta estrutura ainda não havia sido formada nessa idade. Com relação à porção palial do sistema reprodutor, observou-se a presença do oviduto e do ducto deferente (Figura 2B). O vaso deferente é um ducto estreito filiforme com o epitélio de revestimento formado por células cuboides ciliadas. Esse epitélio apresenta reentrâncias no interior do lúmen e uma membrana basal formada por uma camada de tecido conjuntivo que contem fibras musculares longitudinais e mais externamente encontra-se uma camada espessa e contínua de fibras musculares circulares.

O epitélio do oviduto é formado por células prismáticas com o núcleo localizado na porção terço basal e apresentando longos cílios que possivelmente auxiliam o movimento dos espermatozoides no trato feminino. O epitélio simples possui uma lâmina basal formada por tecido conjuntivo denso. É possível observar várias pregas em seção transversal no oviduto (o que permite a expansão do órgão) e uma espessa parede muscular, características as quais auxiliam na oviposição e na cópula. A glândula de albúmen e a próstata não foram observadas.

Já nos moluscos mantidos pareados referentes à mesma idade, observou-se o início da formação do ovotestis já contendo oócitos (Figura 2C) e células da linhagem masculina, espermatogônia e espermátides (Figura 2D), que são células caracterizadas por serem arredondadas com o núcleo ocupando grande parte da porção celular. O ovotestis é formado por vários ácinos irregulares ou arredondados possuindo células da linhagem masculina dispostas de maneira central, sendo que as da linhagem feminina ocupam a parte periférica do mesmo. Os ácinos abrem-se para o ducto hermafrodita através do ducto eferente. A parede do ácino é composta por epitélio liso envolto por uma camada de tecido conjuntivo frouxo, vasos sanguíneos e nervos. Há dois tipos de células dentro de casa ácino: os gametas masculinos e femininos e as células auxiliares (Sertoli e células foliculares). Assim como nos indivíduos isolados, a glândula de albúmen e a próstata não foram observadas.

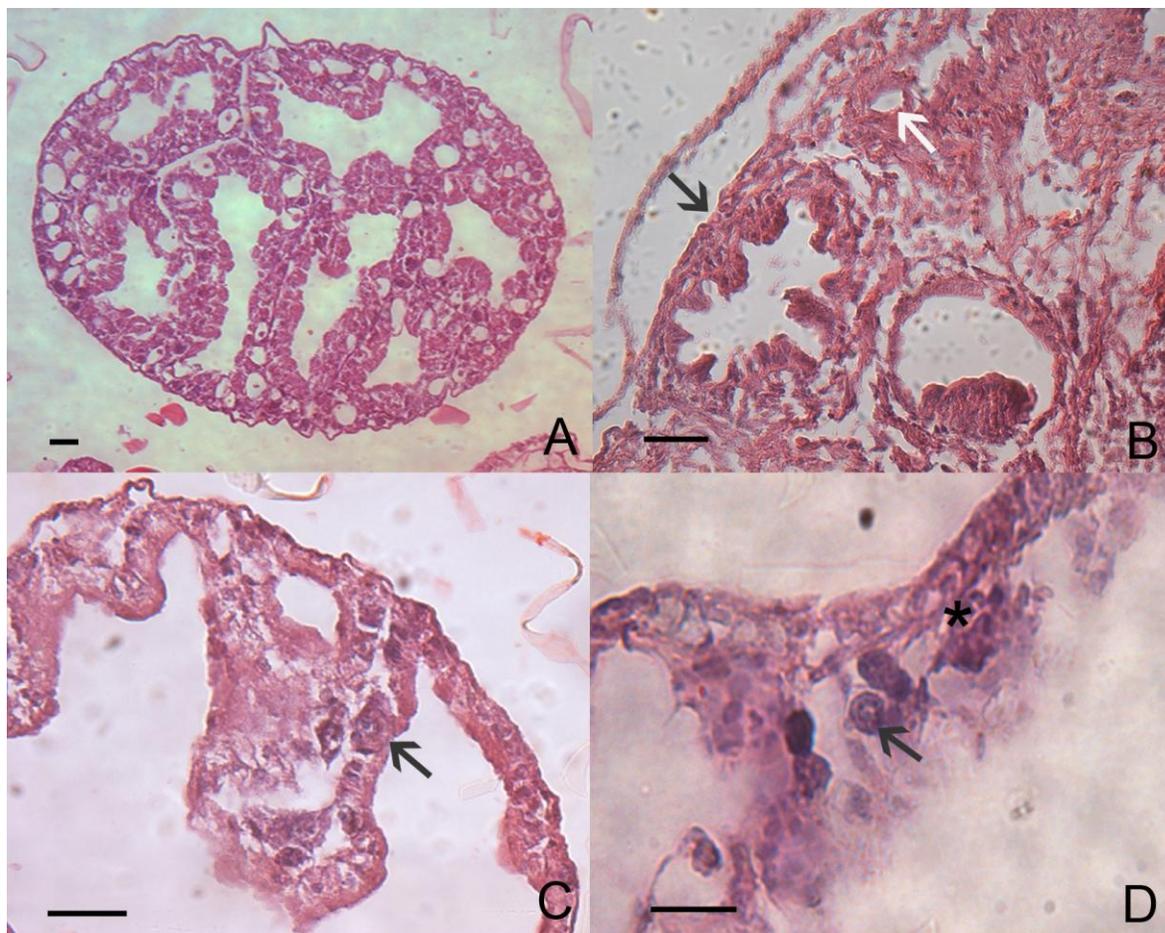


Figura 2. Cortes histológicas evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 15 dias (A-B): Isolados; (B-C): Pareados; **A.** Glândula digestiva, sem a presença de ovotestis; **B.** Corte transversal do oviduto (seta preta) e ducto deferente (seta branca); **C.** Ovotestis com oócito (seta); **D.** Ovotestis com espermatogônia (seta) e espermatídes (asterisco). Barra de Escala = 50 μ m.

Com relação aos moluscos isolados com 45 dias de vida, foi possível observar o início da formação do ovotestis (Figura 3A) e um maior número de estruturas da região palial do sistema reprodutor. Na porção feminina, foi observado o oviduto, com as características histológicas descritas anteriormente (Figura 3C e 3E), a glândula de albúmen (Figura 3B) e o ducto da bolsa copuladora (Figura 3E). A glândula de albúmen é envolvida por uma camada fina de tecido conjuntivo, sendo composta por volumosas células glandulares secretoras basofílicas e arredondadas, cujos citoplasmas estão repletos de grânulos de secreção, fazendo com que o núcleo seja basal. Entremeados com as células

glandulares, há túbulos alinhados por onde a secreção é liberada. O ducto da bolsa copuladora é revestido por células epiteliais prismáticas ciliadas e na sua porção basal repousa sobre a camada de tecido conjuntivo que compõe a lâmina basal do oviduto. Dentre as estruturas da porção masculina, foram observados o ducto deferente (Figura 3C), além do músculo retrator peniano e o flagelo, referentes ao complexo peniano (Figura 3D).

Nos moluscos mantidos pareados foi possível observar o átrio genital (Figura 4D), que é uma estrutura tubular, revestida por células epiteliais prismáticas ciliadas, que repousam sobre uma espessa lâmina basal de tecido conjuntivo, contendo fibras elásticas e musculares. A parede do átrio genital projeta-se na luz dessa estrutura, conferindo-lhe uma forma característica, em corte transversal, referida por vários autores como “lúmen em forma de H”. Observou-se também a bolsa copuladora, o oviduto e o ovotestis com presença de oócitos em diferentes estágios de maturação. A bolsa copuladora (Figura 4A) possui um epitélio com células prismáticas possuindo microvilosidades, rodeado por uma fina camada de tecido conjuntivo com fibras musculares circulares ali encaixadas. As células epiteliais produzem uma secreção apócrina que é possível observar logo acima do epitélio. Na luz do órgão observa-se um emaranhado de material eosinofílico que possivelmente são espermatozóides que estão sendo digeridos. A parede do ducto da bolsa copuladora possui dobras e um epitélio cúbico ciliado que não possui características secretoras, rodeado por uma camada de tecido conjuntivo com numerosas fibras musculares que permitem os movimentos peristálticos na parede do pedúnculo.

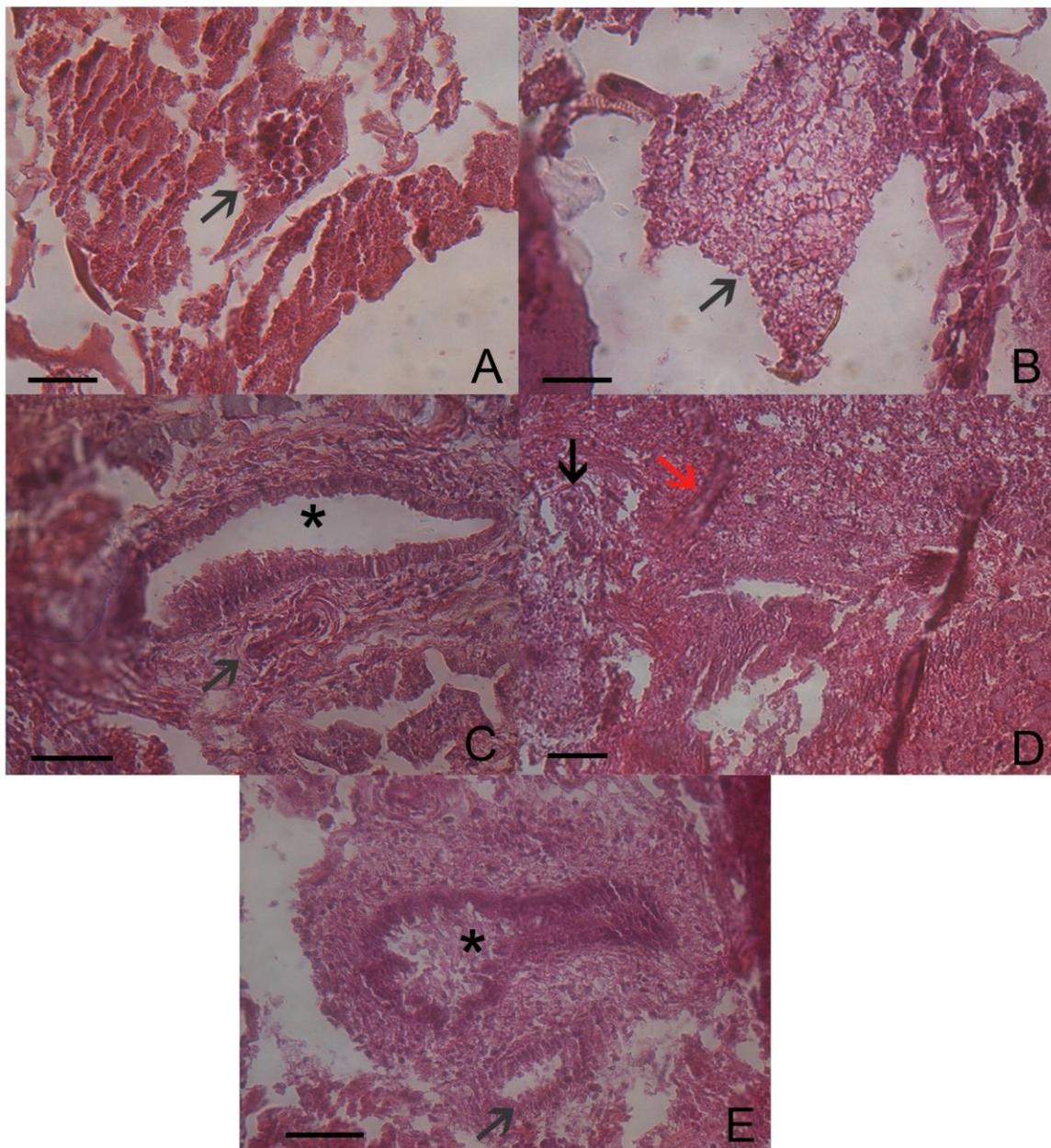


Figura 3. Cortes histológicas evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 45 dias mantidos isolados. **A.** Início da formação do ovotestis (seta); **B.** Glândula de albúmen (seta); **C.** Oviduto (asterisco) e ducto deferente (seta); **D.** Flagelo (seta vermelha) e músculo retrator peniano (seta preta); **E.** Oviduto (asterisco) e ducto da bolsa copuladora (seta). Barra de Escala = 50 μm .

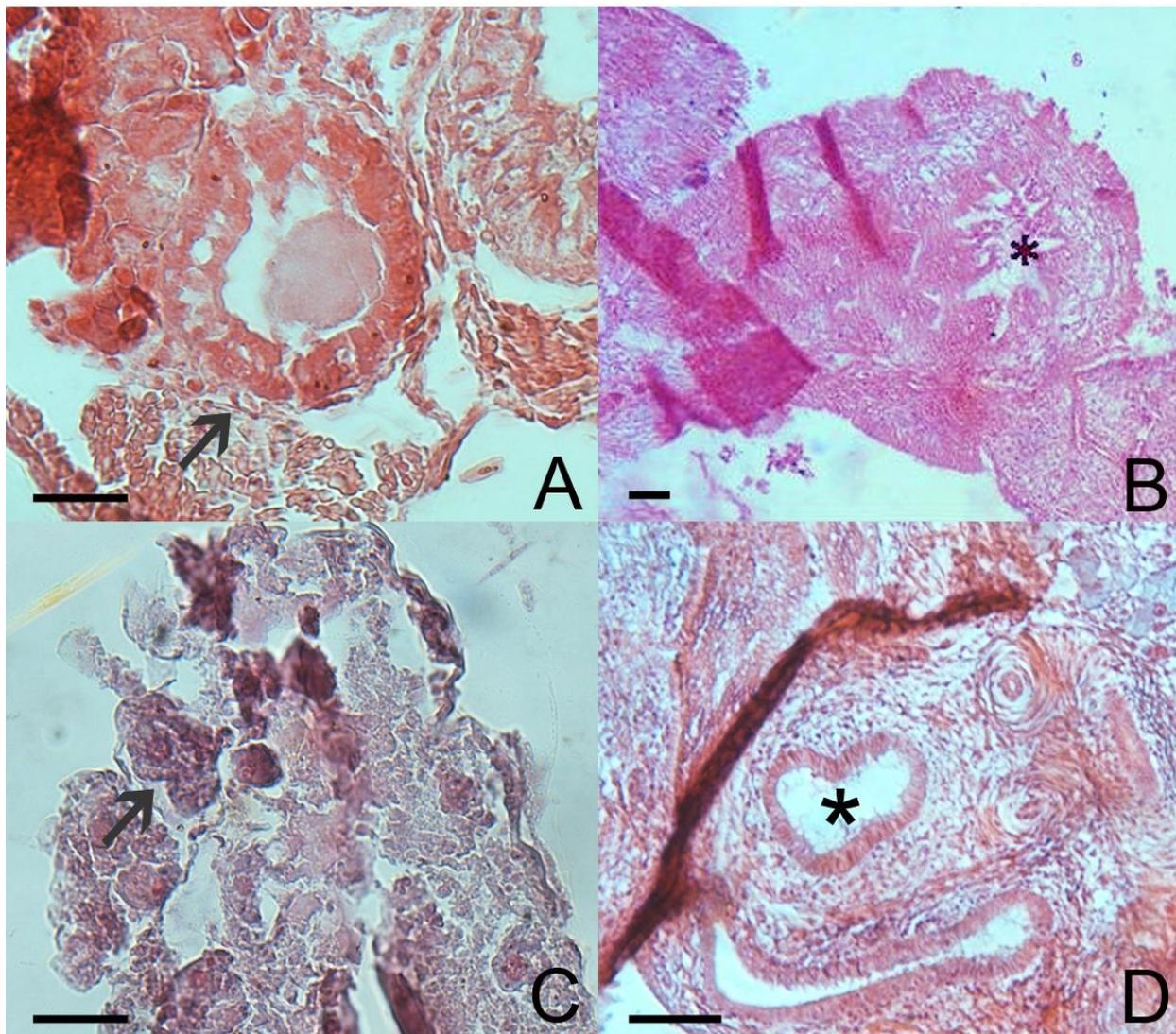


Figura 4. Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 45 dias mantidos pareados. **A.** Bolsa copuladora (seta); **B.** Oviduto (asterisco); **C.** Ovotestis apresentando oócitos (seta); **D.** Átrio genital (asterisco). Barra de Escala = 50 μ m.

Nos moluscos isolados referentes à idade de 75 dias, observou-se pela primeira vez a presença de embriões no útero (Figura 5A) e a próstata (Figura 5D). A glândula de albúmen apresenta-se mais desenvolvida. Além disso, alguns cortes evidenciaram também o oviduto, o ducto da bolsa copuladora, e o ovotestis. A próstata é formada por células glandulares secretoras acidofílicas, com abundante conteúdo citoplasmático, de aspecto granular, que formam os ácinos prostáticos. Entre os ácinos ocorrem lumens caracterizados como ductos

prostáticos. Devido às células possuírem o citoplasma repleto por conteúdo granular acidofílico, o núcleo é deslocado para a base das mesmas. Outra parte desse órgão não apresenta composição em ácinos e possui células com conteúdo basofílico, sendo que os núcleos estão localizados na periferia. Nos pareados observou-se o oviduto e ovotestis (Figura 5E e 5F) com presença de oócitos.

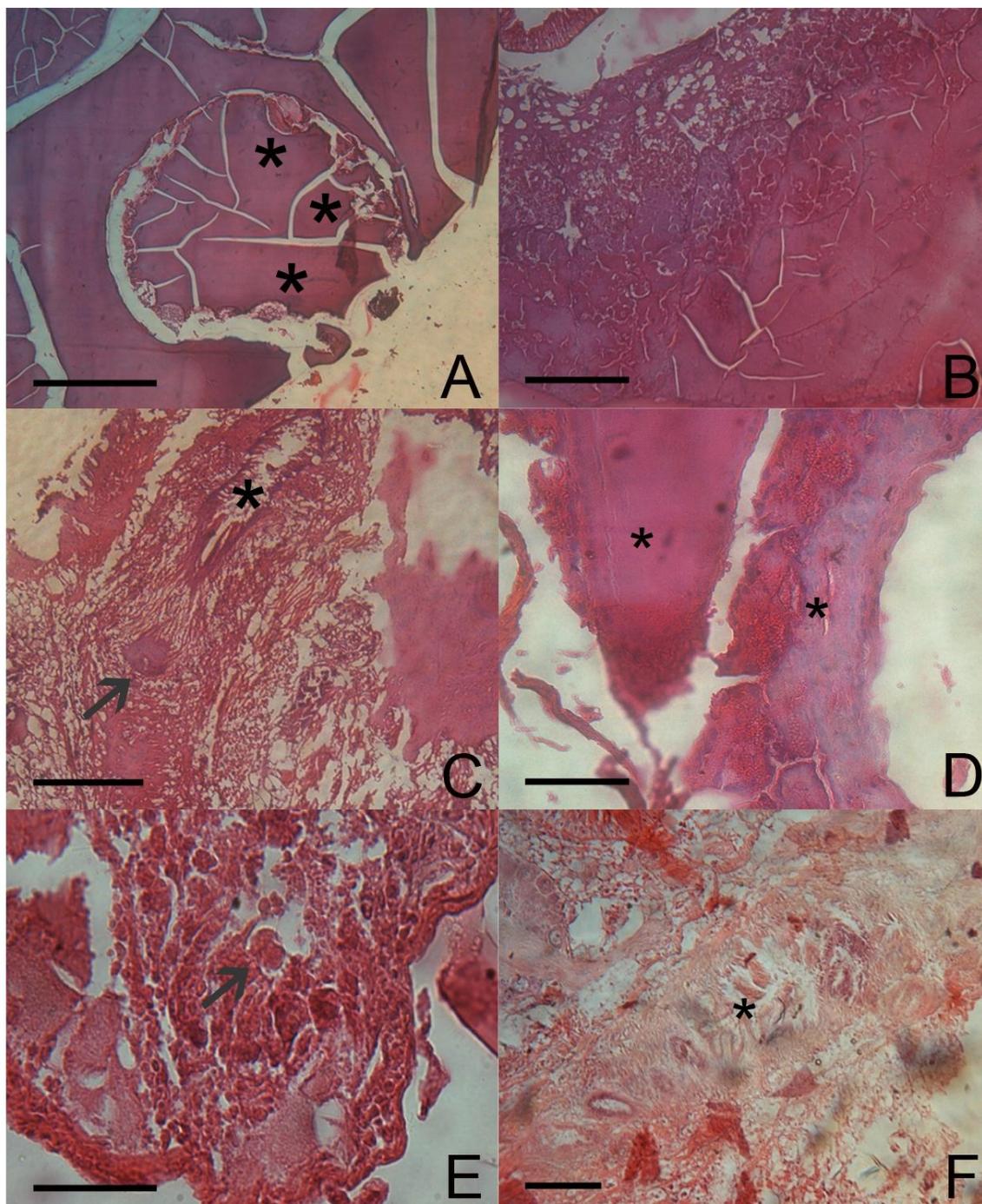


Figura 5. Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 75 dias. (A-D): Isolados; (E-F): Pareados **A.** Embriões no útero (asteriscos); **B.** Glândula de albúmen; **C.** Oviduto (asterisco) e ducto da bolsa copuladora (seta); **D.** Próstata (asteriscos); **E.** Ovotestis com oócitos (seta); **F.** Oviduto (asterisco). Barra de Escala = 50 μ m.

Os moluscos isolados referentes à idade de 90 dias apresentaram o ovotestis com espermatozóides formados (Figura 6A). Foi possível também observar a bolsa copuladora aparentemente possuindo espermatozóides em seu interior, o que indica que os espermatozóides passam por ela quando ocorre a autofecundação, sendo parte deles digeridos (Figura 6B). Além disso, observou-se também a próstata (Figura 6B) e o oviduto (Figura 6C).

Nos indivíduos mantidos pareados pôde-se observar o oviduto, o complexo peniano (formado pelo pênis, epifalo e flagelo), a glândula de albúmen e a próstata (Figura 6E e 6F) em que fica evidente o núcleo periférico devido à grande quantidade de vesículas de secreção no citoplasma. O pênis é um órgão com uma forte estrutura muscular. A sua estrutura é em forma de tubo que possui um epitélio sem cílios e glândulas, com células cuboides, rodeado por uma espessa parede de musculatura circular interna e longitudinal externa. O epifalo é um órgão altamente muscular, cilíndrico, com um lúmen largo e possuindo um epitélio simples prismático, sem presença de cílios, apresentando microvilosidades. Tecido conjuntivo reveste esse órgão sendo rodeado por camadas de musculatura longitudinal e circular. O flagelo possui um epitélio simples cúbico sobre uma camada de tecido conjuntivo, sendo um órgão longo possuindo um pequeno lúmen (Figura 3D).

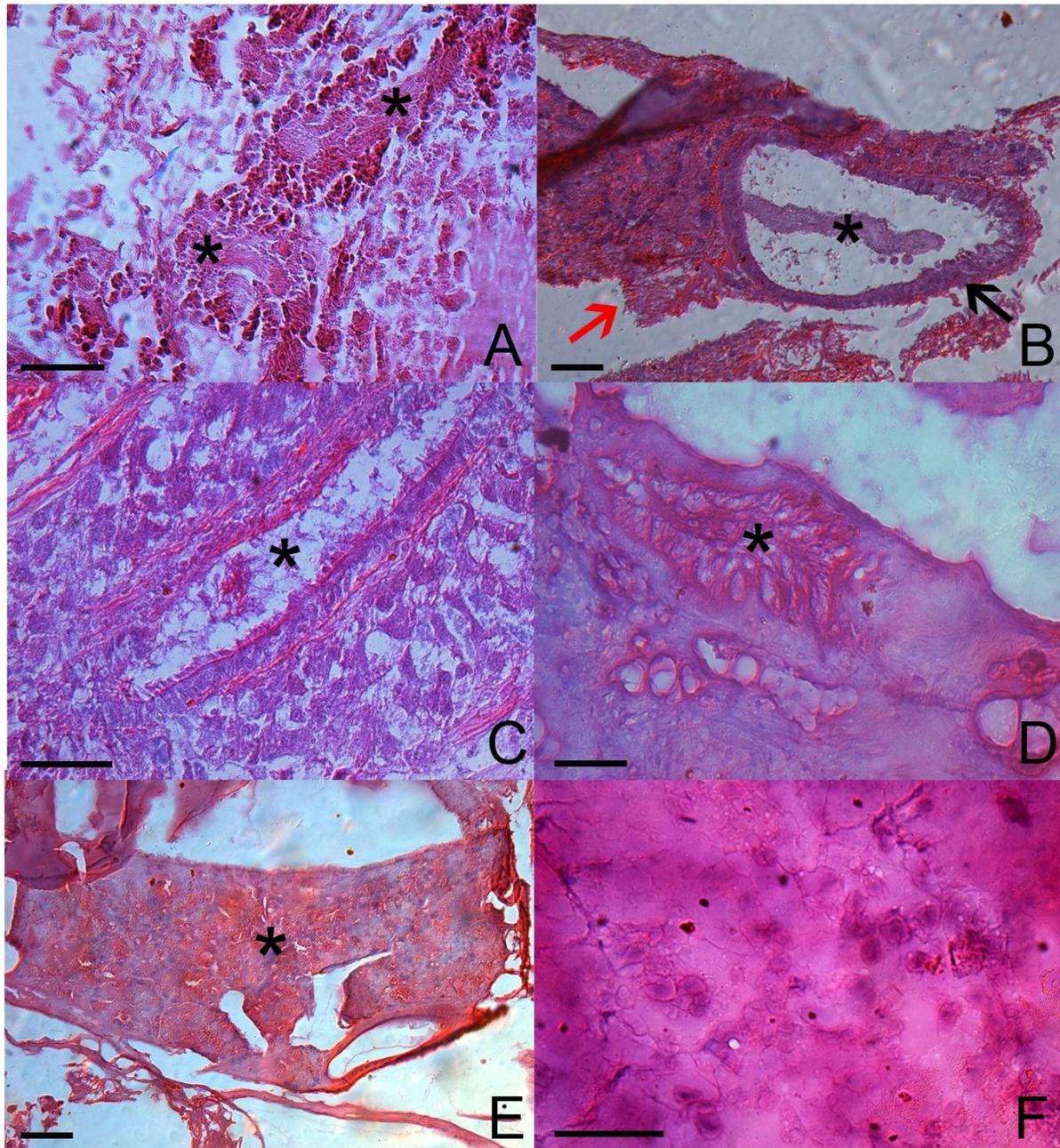


Figura 6. Cortes histológicas evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 90 dias. (A-C): Isolados; (D-F): Pareados **A.** Ovotestis com espermatozoides formados (asteriscos); **B.** Próstata (seta vermelha), bolsa copuladora (seta preta) e espermatozoides (asterisco); **C.** Oviduto (asterisco); **D.** Complexo peniano (asterisco); **E.** Próstata (asterisco); **F.** Glândula de albúmen. Barra de Escala = 50 μm.

Nos moluscos isolados com a idade de 105 dias, foi possível observar a bolsa copuladora, o oviduto (Figura 7A) e a próstata (Figura 7C). Na lâmina em que há a presença do ovotestis, pode-se observar oócito e espermatozóides (Figura 7B). Os oócitos são grandes células arredondadas de grande volume, com um grande núcleo arredondado eosinofílico e nucléolo evidente. Nos moluscos pareados foi possível observar ovotestis, o oviduto e o complexo da espermateca que é constituído de um epitélio simples cúbico glandular, com os núcleos localizados ao centro possuindo muitos cílios. Todo o complexo apresenta-se envolvido por uma fina camada de tecido conjuntivo.

A análise histológica dos órgãos reprodutivos do aparelho masculino e feminino dos moluscos mantidos isolados e pareados mostrou não haver diferenças entre esses dois grupos experimentais quanto às características estruturais. Também não houve diferenças na estrutura dos órgãos de acordo com as diferentes idades, sendo que as características dos órgãos observados se mantêm desde a primeira análise com moluscos possuindo idade referente a 15 dias. A disposição do sistema reprodutor nessa espécie é característico ao observado na maioria dos moluscos, sendo que inicia-se na porção superior da cabeça, onde está presente a abertura genital, estendendo-se até as últimas voltas corporais do animal, onde se localiza o ovotestis.

Na tabela 7 podem-se verificar os órgãos e estruturas que foram possíveis de se observar nos moluscos mantidos isolados e pareados nas diferentes idades estudadas.

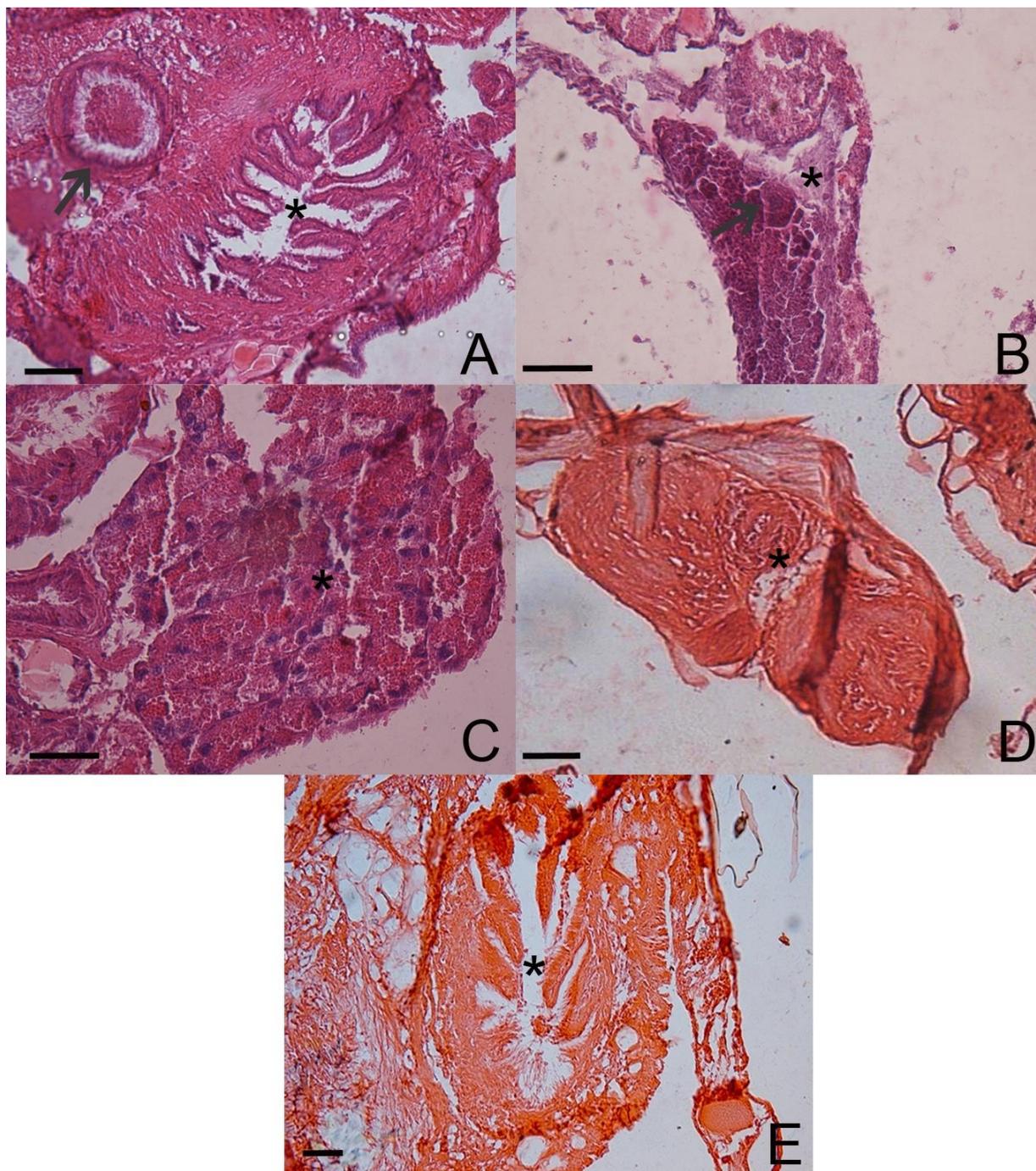


Figura 7. Cortes histológicos evidenciando o sistema reprodutor de moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) com idade de 105 dias. (A-C): Isolados; (D-E): Pareado **A.** Ducto da bolsa copuladora (seta) e oviduto (asterisco); **B.** Ovotestis com espermatozóides (asterisco) e oócitos (seta); **C.** Próstata (asterisco); **D.** Complexo da espermateca (asterisco); **E.** Oviduto (asterisco). Barra de Escala = 50 μ m.

Tabela 7. Órgãos e/ou estruturas observadas através da análise das lâminas referente aos moluscos mantidos isolados e pareados da espécie *Leptinaria unilamellata* em diferentes estágios.

Órgãos/estruturas observadas		
Idade (dias)	Indivíduos isolados	Indivíduos pareados
15	Oviduto e ducto deferente.	Início da formação do ovotestis (oócitos, espermatogônias e espermátides).
45	Início da formação do ovotestis; oviduto; glândula de albúmen; ducto da bolsa copuladora; ducto deferente; músculo retrator peniano e flagelo.	Átrio genital; bolsa copuladora; oviduto e ovotestis (oócitos em diferentes estágios).
75	Embriões no útero; próstata; glândula de albúmen; oviduto; ducto da bolsa copuladora e ovotestis.	Oviduto e ovotestis (oócitos bem desenvolvidos).
90	Ovotestis (espermatozóides formados); bolsa copuladora; próstata e oviduto.	Oviduto; complexo peniano (pênis epifalo e flagelo); glândula de albúmen e próstata.
105	Bolsa copuladora; oviduto; próstata e ovotestis.	Ovotestis; oviduto e complexo da espermateca.

4.4. Discussão

Pelos resultados obtidos através da análise histológica, constatou-se que os indivíduos mantidos pareados com a idade de 15 dias já apresentavam o início da formação do ovotestis, enquanto que nos indivíduos mantidos isolados possuindo a mesma idade, a presença da gônada não foi observada. Isso pode ter correlação com o fato dos moluscos pareados alcançarem a maturidade sexual antes dos moluscos isolados. Possivelmente esses dois acontecimentos estão relacionados à presença de estímulo químico para a reprodução que poderiam influenciar no desenvolvimento da gônada. Em geral, os indivíduos que realizam autofecundação na ausência de um parceiro sexual, realocam suas energias em

favor do crescimento e reprodução futura, apresentando assim um tempo de espera antes de iniciar a reprodução (TSITRONE *et al.*, 2003). Nas lâminas referentes à idade de 15 dias, tanto para os indivíduos isolados quanto pareados, não foi observado presença da glândula de albúmen, essencial no processo da reprodução. Possivelmente essa estrutura é formada mais tarde, após certo acúmulo de reservas e crescimento do animal.

Observou-se nos dois grupos experimentais que o ovotestis, desde a primeira idade em que foi possível observá-lo, produz ao mesmo tempo células da linhagem feminina e masculina o que indica que esses moluscos são hermafroditas simultâneos e podem se reproduzir por autofecundação, corroborando os resultados de experimentos realizados por observações em laboratório e o que foi observado por Almeida & Bessa (2001b). A autofecundação tem sido observada em muitas famílias de gastrópodes pulmonados. Uma depressão na procriação facilitaria a evolução e permitiria a manutenção da autofecundação em uma população (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987). A autofecundação, dentre outras vantagens, habilita um único indivíduo virgem a fundar uma nova população (PARAENSE & CORRÊA, 2001).

Os gastrópodes pulmonados são caracterizados por serem animais hermafroditas simultâneos, possuindo apenas uma gônada composta por vários ácinos onde ocorre a produção de gametas masculinos e femininos simultaneamente, o ovotestis, que se localiza próximo a glândula digestiva sendo envolvido por essa (BAKER, 1945). Essa disposição descrita para a glândula hermafrodita dos pulmonados foi observada nesse estudo para a espécie *L. unilamellata*. Além disso, o ovotestis é constituído por agregados irregulares de ácinos foliculares envolvidos por uma camada de tecido conjuntivo frouxo continuado pelos ácinos da glândula digestiva, sendo irrigado por um emaranhado de vasos sanguíneos. Esse tecido conjuntivo frouxo provavelmente teria a função segundo Bride & Gomot (1989) de reserva sendo esgotado conforme o animal se desenvolve. As células da linhagem feminina ocorrem na periferia da glândula hermafrodita, enquanto as da linhagem masculina localizam-se na porção central. Essa constituição do ovotestis é semelhante às descritas para outras espécies de moluscos, como por exemplo para *Achatina fulica* (Férussac, 1821) (TEIXEIRA *et al.*, 2006), *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (FURTADO *et al.*, 2004), *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (JONG-BRINK *et al.*, 1977), *Helix aspersa* (O. F. Müller, 1774) (GRIFFOND *et al.*, 1991), *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) (JOOSE &

REITZ, 1969), *Megalobulimus abbreviatus* (Bequaert, 1848) (HORN *et al.*, 2005) e *Thaumastus (Thaumastus) taunaisii* (Férussac, 1821) (SALGADO *et al.*, 1995). SILVA *et al.* (2009) observaram a presença de glândulas nos espaços entre os ácinos do ovotestis de *B. similis*, que podem estar envolvidas no fornecimento de material nutritivo para a produção dos gametas. No presente estudo, não foi detectado a presença dessas glândulas no ovotestis de *L. unilamellata*.

Foi possível observar pela análise do sistema reprodutor que a espermateca desses moluscos é composta por vários túbulos possuindo cílios longos, como foi observado por Carvalho *et al.* (2009). Entre os moluscos pulmonados terrestres, há diferenças consideráveis no número de túbulos que compõem a espermateca dentro e entre as espécies (BAUR, 1998). O gastrópode pulmonado *Arianta arbustorum* (Linnaeus, 1758) possui uma espermateca expansível, sendo que o preenchimento dos túbulos segue uma sequência, indicando uma separação espacial dos espermatozoides de acasalamentos diferentes, o que pode indicar um mecanismo de seleção pós-copulatória (BEESE & BAUR, 2006). Sendo a espermateca de *L. unilamellata* composta por túbulos com longos cílios, há a possibilidade de que também ocorra esse mecanismo de seleção pós-cópula nessa espécie, assim como em *A. arbustorum*.

O ócito é envolto por células foliculares, permanecendo em contato com essas células durante todo seu desenvolvimento, sendo separado das células do epitélio germinativo por uma camada de células de Sertoli. Já os gametas masculinos associam-se permanentemente às células de Sertoli. Essas células formam uma camada que dividem o lúmen de cada ácino em duas partes, sendo que as células da linhagem masculina localizam-se mais ao centro e as da linhagem feminina permanecem na periferia em contato com a parede do ácino (JOOSE & REITZ, 1969; JONG-BRINK *et al.*, 1976; HOGG & WIJDENES, 1979; RUNHAM, 1982; BRIDE & GOMOT, 1989; FURTADO *et al.*, 2004).

Apenas um tipo de célula do tronco gonadal diferencia-se em gametas masculinos, femininos, células de Sertoli, foliculares e do ducto hermafrodita. Dessa forma, acredita-se que o microambiente formado pela parede de células de Sertoli e células foliculares estão envolvidas nessa diferenciação, além de outros fatores como os genéticos (RUNHAM, 1982). As células de Sertoli possuem como funções sustentar, nutrir, produzir hormônios,

transportar espermatozóides, fagocitar, além de estarem envolvidas no processo de especialização dos espermatozóides (JONG-BRINK *et al.*, 1977; PARIVAR, 1980).

Dentro do ácino do ovotestis a oogênese ocorre no córtex e a espermatogênese ocorre na área medular (GOMÉZ, 2001). No início do processo de oogênese, o oócito encontra-se entre uma camada de epitélio germinativo e de células de Sertoli. Conforme ocorre a vitelogênese, o oócito aumenta gradativamente de tamanho, sendo que uma camada de células foliculares penetra entre as camadas que estão em contato com o oócito, encapsulando-o. Sugeriu-se que essa cápsula estaria envolvida na otimização do crescimento do oócito (JONG-BRINK *et al.*, 1976; HILL, 1977; JONG-BRINK & GERAERTS 1982; KHAN & SALEUDDIN, 1983). Além da função de transporte e nutrição do oócito, as células foliculares também realizam fagocitose, produzem hormônios e estão envolvidas no processo de ovulação (JONG-BRINK *et al.*, 1976; HILL, 1977; KHAN & SALEUDDIN, 1983). Após o término da espermatogênese, os espermatozóides são levados até a vesícula seminal através do ducto deferente. Já os oócitos maduros são transportados até o Carrefour onde ocorre a fecundação (GÓMEZ, 2001).

Em *Stylommatophora*, comumente o carrefour está associado com as seguintes funções: fecundação do oócito, armazenamento de espermatozóides e revestimentos dos zigotos com camada de albúmen. A fecundação ocorre em uma região especializada do carrefour com aparência de uma bolsa (GÓMEZ, 2001). Essa bolsa ou saco de fertilização foi observada na análise do complexo de fertilização de *L. unilamellata* por Carvalho *et al.* (2009). Runham & Hogg (1992) observaram que os aloespermatozóides recebidos durante o acasalamento em várias espécies de gastrópodes pulmonados terrestres, alcançam o carrefour dentro de quatro horas após o início da cópula.

A glândula de albúmen tende a aumentar de tamanho de acordo com a maturidade sexual do molusco (TOMPA, *et al.*, 1984). Essa característica foi observada no decorrer do experimento, em que foi possível perceber que a glândula de albúmen dos animais jovens era menor do que a dos animais adultos. O tamanho desse órgão parece estar relacionado com o número máximo de ovos que o animal pode produzir por vez. Essa glândula sintetiza o fluido perivitelino que é adicionado aos ovos que por sua vez provê o desenvolvimento dos embriões (TOMPA *et al.*, 1984). A substância que é secretada pela glândula de albúmen tem se mostrado ser o galactogênio que é um polissacarídeo amplamente ramificado

composto em sua maior parte por D-galactose. Essa secreção é liberada pelas volumosas células secretoras através de túbulos que se abrem para ductos maiores desembocando no carrefour (GÓMEZ, 2001).

A glândula prostática dos estilomatóforos, geralmente sintetizam uma mistura de fosfolípídeos e proteínas, com uma concentração pequena de glicosaminoglicanos e carboidratos neutros (ZUBIAGA *et al.*, 1990). A secreção produzida pela próstata é o componente principal do fluido seminal, o qual os espermatozóides estão imersos e imobilizados, durante sua passagem através do sistema reprodutor. A próstata continua ativa mesmo após o acasalamento, quando a função masculina diminui. Isso pode indicar que esse órgão possui outras funções além de sintetizar secreções para o fluido seminal. Tem-se observado que a secreção prostática alcança o oviduto, mas sua função nesse local ainda é incerta (ELS, 1978). Foi possível perceber que a próstata de *L. unilamellata*, como já havia sido observado por Carvalho *et al.* (2009), possui dois tipos distintos de células, caracterizando duas fases de desenvolvimento ou atividade glandular diferenciadas.

A glândula localizada no oviduto dos estilomatóforos sintetizam gliconasaminoglicanos, proteínas e carboidratos neutros. Juntas essas secreções formam a membrana perivitelina dos ovos e a matriz orgânica que recobre o ovo interna e externamente que são depositadas em sequência durante a descida do zigoto através do oviduto (BAYNE, 1968). A conformação do oviduto observada para *L. unilamellata*, apresentando um lúmen com epitélio pregreado internamente, é similar à que foi descrita para *Achatina fulica* (TEIXEIRA *et al.*, 2006). O epitélio do oviduto possui características estruturais típicas de tecidos que são transportadores de cálcio. A quantidade de cálcio que recobre o ovo aumenta gradativamente conforme vai passando pelo oviduto, o que demonstra que esse órgão está envolvido na calcificação dos ovos (TOMPA, 1984). Nas espécies ovovivíparas, como é o caso de *L. unilamellata*, a parte distal da glândula do oviduto juntamente com a oviduto livre adjacente, acabam funcionando como um útero para os filhotes após a eclosão nos dutos femininos (TOMPA, 1979).

Os movimentos peristálticos que ocorrem no vaso deferente, proporcionados pela musculatura, juntamente com a ação dos cílios presentes no epitélio, auxiliam na movimentação dos fluidos seminais ao longo do ducto, incluindo a expulsão dos mesmos durante a cópula (RUNHAM, 1988). Foi observado que *L. unilamellata* possui uma

musculatura bem desenvolvida no vaso deferente assim como apresenta longos cílios no seu lúmen.

A bolsa copuladora de *L. unilamellata* possui uma estrutura semelhante a descrita para a maioria do pulmonados terrestres, consistindo de um epitélio simples prismático rodeado por uma camada de tecido conjuntivo entremeado a fibras musculares, além disso, as células epiteliais secretam uma substância apócrina quando em fase ativa (ROGERS *et al.*, 1980; ELS, 1974; VORSTER, 1983). Entre os estilomatóforos a bolsa copuladora funciona digerindo e reabsorvendo o excesso de gametas e outras substâncias que são oriundas do processo reprodutivo, tais como as secreções da glândula de albúmen, do oviduto e canal seminal, bem como os espermatóforos e espermatozóides recebidos durante a cópula. Inicialmente, ocorre a digestão extracelular pelas secreções enzimáticas. Os materiais que são digeridos parcialmente sofrem endocitose pelas células epiteliais do órgão e os produtos da digestão são reabsorvidos intracelularmente (GÓMEZ *et al.*, 1991; LIND, 1973; ELS, 1978).

O gastrópode pulmonado terrestre *A. arbustorum* possui um mecanismo de seleção pós-cópula para controle da diversidade genética entre os espermatozóides armazenados utilizando a bolsa copuladora. Quando o espermatozóide recebido é interpretado como sendo de qualidade inferior, o molusco direciona parte ou todos esses aloespermatozóides para a bolsa copuladora por meio de rápida atividade peristáltica do ducto da bolsa copuladora, sendo esses digeridos por essa estrutura. Essa espécie copula com diferentes parceiros durante um mesmo ciclo reprodutivo (HAASE & BAUR, 1995).

O átrio genital possui um subepitélio secretor que forma uma mistura complexa de lipídeos que são aplicados sobre os ovos durante a postura (BAYNE, 1968).

O pênis dos estilomatóforos é altamente muscular, sendo evertido e extrudado durante a cópula, transportando os autoespermatozóides para dentro do sistema reprodutor do parceiro, na forma de espermatóforo ou massa seminal (GÓMEZ, 2001). No molusco pulmonado *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758), o espermatóforo é formado rapidamente, estando completo no epifalo em 70 segundos após o início da cópula. Os espermatozóides são embebidos em um fluido produzido pelas células secretoras do ducto deferente junto com secreções prostáticas formando o núcleo do espermatóforo. Já a túnica é formada por secreções oriundas do vaso deferente e epifalo, sendo moldados e endurecidos no epifalo.

Após a túnica ser formada, o espermatóforo é preenchido com os autoespermatozóides e fluido seminal. A túnica protege os espermatozóides contra os fluidos digestivos da bolsa copuladora (LIND, 1973). A glândula prepucial localizada no flagelo, parece estar envolvida na formação do espermatóforo. Em seu estudo sobre o sistema reprodutor de *L. unilamellata*, Carvalho *et al.* (2009) observaram a presença dessa glândula no tecido conjuntivo do flagelo, o que indica que essa espécie transfere seus espermatozóides através de um espermatóforo. A intromissão do pênis juntamente com o espermatóforo é comum nos gastrópodes pulmonados que realizam uma troca rápida de gametas, enquanto que o ato de depositar uma massa de esperma externamente ocorre entre os moluscos que possuem um longo processo de corte e acasalamento (EMBERTON, 1994). Portanto, a glândula prepucial e o epifalo são estruturas essenciais para que haja a formação do espermatóforo. O epifalo de *L. unilamellata* possui longas microvilosidades, característica essa que é comum entre os moluscos estilomatóforos (GÓMEZ, 2001).

Aos 15 dias foi possível observar o ovotestis formado, possuindo gametas, mas apenas aos 75 dias constataram-se embriões no útero, pois o primeiro evento reprodutivo depende da formação completa do sistema reprodutor e na idade de 15 dias, não foram observadas estruturas essenciais desse sistema como a glândula de albúmen. Outro fator que pode influenciar nesse dado é o fato do molusco primeiramente alocar energia para o crescimento e depois para a reprodução, assim com um maior tamanho corporal mais filhotes poderão ser produzidos e armazenados. Aos 75 dias foi possível observar a presença de embriões no útero, o que indica que os moluscos nessa idade já são sexualmente maduros e capazes de se reproduzir.

Observou-se aos 90 e aos 105 dias a presença de uma estrutura ou conteúdo no interior do ducto da bolsa copuladora dos indivíduos mantidos isolados. Essa estrutura pode se tratar de um espermatóforo ou de secreções da glândula gametolítica. A presença de espermatozóides na bolsa copuladora dos moluscos mantidos isolados, pode indicar que no processo de autofecundação, os autoespermatozóides percorrem toda a porção celômica do sistema reprodutor (ducto hermafrodita, complexo da espermateca, espermoduto), e a porção palial (próstata, ducto deferente, complexo peniano) para depois chegar ao trato feminino. No complexo peniano, os espermatozóides são provavelmente envoltos pelo espermatóforo que por um processo de autocópula é transferido para a porção feminina e encaminhado a

bolsa copuladora, como ocorreria durante a fecundação cruzada. Na bolsa copuladora, o espermatóforo e parte dos espermatozóides são digeridos. Aqueles espermatozóides que conseguirem deixar a bolsa copuladora deverão percorrer o oviduto, chegando até o allospermoduto e finalmente ao complexo da espermateca, onde ocorrerá a autofecundação.

A necessidade de os espermatozóides percorrerem todo o trato reprodutor, incluindo a porção palial, ao invés de se deterem no complexo da espermateca, na porção celômica, pode estar relacionada com o processo de ativação desses gametas. É possível que os autoespermatozóides, após deixarem o ovotestis, chegando ao complexo da espermateca, ainda não estejam prontos para a fertilização, sendo necessário que percorram todo o trato reprodutivo, sendo modificados durante o percurso e capacitados para a fertilização dos oócitos. As secreções produzidas pela próstata podem desempenhar algum papel neste processo de maturação dos espermatozóides (ELS, 1978).

4.5. Conclusões

Com os resultados obtidos no presente estudo foi possível concluir que:

Pela análise histológica dos órgãos reprodutores dos moluscos mantidos isolados e pareados em diferentes idades, foi possível perceber que não há diferenças na estrutura do sistema como um todo, assim como na conformação dos órgãos que foram observados.

A presença do ovotestis em meio à glândula digestiva nos moluscos possuindo 15 dias de vida foi observada apenas nos indivíduos mantidos pareados, sugerindo que essa se desenvolve mais rapidamente nesses do que nos mantidos isolados.

As lâminas dos moluscos isolados contendo 90 e 105 dias, mostraram um material amorfo dentro da bolsa copuladora que provavelmente seria o espermatóforo do próprio molusco, o que sugere que ocorre a autocópula, sendo que os autoespermatozóides percorrem toda a extensão do trato reprodutivo do animal.

5. CARACTERIZAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE RETENÇÃO DE FILHOTES NO OVIDUTO EM *Leptinaria unilamellata* (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, PULMONATA, SUBULINIDAE) SOB CONDIÇÕES DE DESSECAÇÃO

5.1. Introdução

Entre os gastrópodes terrestres o teor de umidade do sítio de oviposição é um fator ambiental fundamental para que haja um adequado desenvolvimento dos ovos e filhotes, já que o ambiente seco está entre os fatores que mais influencia na mortalidade dos ovos e filhotes. Dessa forma, uma estratégia relacionada ao sucesso reprodutivo seria minimizar o estresse relacionado à umidade, diminuindo assim o impacto sobre o embrião em desenvolvimento (TOMPA, 1984).

A umidade é um dos fatores abióticos que mais interferem na biologia e reprodução dos gastrópodes pulmonados terrestres, influenciando aspectos comportamentais, fisiológicos e ecológicos desses indivíduos. A umidade, em condições favoráveis, é essencial para que haja uma boa atividade em vários aspectos da biologia dos moluscos, tais como o ritmo cardíaco, a espermatogênese, a alimentação, a locomoção e todo o desenvolvimento embrionário (HODASI, 1979; COOK, 2001; FURTADO *et al.*, 2004).

Quando as condições ambientais estão desfavoráveis para os ovos e juvenis, algumas espécies de gastrópodes terrestres podem reter os ovos ou filhotes no sistema reprodutor a espera de condições mais propícias para o sucesso da ovipostura (HELLER, 2001).

Nesse sentido, é provável que a oviviparidade possa auxiliar no declínio do índice de mortalidade dos moluscos juvenis, aumentando assim a perspectiva de sucesso na colonização de um hábitat novo (PEAKE, 1978).

O objetivo do presente trabalho foi verificar se moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* (d'orbigny, 1835) retêm os filhotes no oviduto em condições desfavoráveis a espera de condições mais propícias de umidade do solo, favorecendo assim a sua sobrevivência.

5.2. Material e Métodos

5.2.1. Local dos experimentos

Os experimentos e a criação dos moluscos foram realizados no Laboratório de Zoologia Avançada (LAZ) do Programa de Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais.

5.2.2. Obtenção e manutenção dos moluscos

Os moluscos utilizados em todos os experimentos foram obtidos a partir de criações matrizes de laboratório. De diferentes criações matrizes, foram coletados indivíduos recém-nascidos para compor os grupos experimentais. Os moluscos foram mantidos em caixas plásticas com 14 cm de diâmetro e 9 cm de altura, tendo como substrato três centímetros de terra vegetal, umedecida a intervalos de um dia, com 10 ml de água clorada (despejada sobre o substrato) e alimentados com ração para ave de corte enriquecida com carbonato de cálcio (na proporção de 3:1) (BESSA & ARAÚJO, 1995a, b). Os moluscos dos dois grupos experimentais foram mantidos em condições naturais de luz, temperatura e umidade relativa do ar.

5.2.3. Procedimentos para análise da retenção de filhotes sob condições desfavoráveis de umidade

Para a realização do experimento foram constituídos dois grupos experimentais, compostos por trinta caixas cada uma contendo um molusco recém-nascido. Os moluscos foram observados desde a idade de recém-nascidos até a constatação da maturidade sexual, pela detecção da presença de filhotes no oviduto por transparência da concha. O experimento teve início quando foi constatado o alcance da maturidade sexual por todos os moluscos. Na primeira fase do experimento, um grupo (Grupo I) foi mantido em condições favoráveis de umidade do substrato, umedecido a intervalos de dois dias, enquanto o Grupo II foi mantido em condições de dessecação, uma vez que o substrato não foi mais umedecido a partir do início do experimento. Foi verificada a frequência de liberação de filhotes pelos moluscos de ambos os grupos e estes filhotes foram quantificados. As observações foram conduzidas durante 30 dias. Após este período, o substrato da caixa em que foi mantido o grupo submetido à dessecação foi novamente umedecido a intervalos de dois dias, por mais 30 dias, constituindo a segunda fase do experimento. A frequência de liberação de filhotes e o número de filhotes liberados foram verificados e anotados.

No 51º dia de vida, todos os moluscos apresentaram filhotes no oviduto pela primeira vez. Nesta data, teve início a primeira fase do experimento, na qual os substratos dos terrários dos moluscos do grupo II não foram mais umedecidos. No 81º dia, teve início a segunda fase do experimento, na qual os terrários do grupo II foram novamente umedecidos. A manutenção dos terrários do grupo I foi realizada normalmente, com oferta de água, nas duas fases do experimento.

Ao final do experimento, os dados referentes ao número de filhotes liberados pelos moluscos dos dois grupos experimentais, nas duas fases do experimento, foram comparados entre si pelo teste de análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$). As análises foram realizadas no programa BioEstat 5.0.

5.3. Resultados

Todos os moluscos do grupo I liberaram os filhotes do primeiro evento reprodutivo, (observados no útero ao 51º dia de vida) na primeira fase do experimento, enquanto os moluscos do grupo II liberaram filhotes do primeiro evento reprodutivo tanto na primeira fase, embora em menor número, quanto na segunda fase do experimento. Portanto, os moluscos do grupo I levaram menos tempo para liberar os filhotes do primeiro evento reprodutivo, quando comparados aos moluscos do grupo II, tendo o grupo I como média 31 dias (24-52 dias) e o grupo II 48 dias (24-71 dias), (ANOVA $F=37,0869$; $p<0,0001$), resultados os quais apresentaram diferença significativa.

Os moluscos do grupo I liberaram 127 filhotes na primeira fase do experimento e 132 filhotes na segunda fase. Os moluscos do grupo II liberaram 24 filhotes na primeira fase do experimento, durante o período de dessecação e 89 filhotes na segunda fase, quando os terrários foram novamente umedecidos (Tabelas 8 e 9). Houve diferença significativa entre os dados dos grupos I e II na primeira fase do experimento (ANOVA $F=29,12$; $p<0,01$), já na segunda fase do experimento, não houve diferença significativa entre o número de filhotes liberados pelos dois grupos (ANOVA $F=2,35$; $p=0,13$). Esses resultados evidenciam que os moluscos do grupo II submetidos à dessecação retiveram os filhotes no oviduto por mais tempo, quando comparados a moluscos do grupo I, mantidos em condições favoráveis de umidade.

No primeiro evento reprodutivo, os moluscos do grupo I liberaram 128 filhotes, apresentando fecundidade média de 4,4 filhotes por indivíduo, enquanto os moluscos do grupo II produziram 93 filhotes e apresentaram fecundidade média de 3,8 filhotes por molusco. Ao final de 112 dias de experimento, os moluscos do grupo I realizaram 4 eventos reprodutivos e produziram no total 259 filhotes enquanto os moluscos do grupo II realizaram 2 eventos reprodutivos e obtiveram 113 filhotes, sendo que o número total de filhotes liberados pelos dois grupos apresentou diferença significativa (ANOVA $F=16,22$; $p<0,01$).

Outro resultado observado durante o decorrer da realização desse experimento, foi que os moluscos da espécie *L. unilamellata* são capazes de entrar no estado de estivação quando expostos a condições ambientais desfavoráveis de umidade, produzindo o epifragma

que é uma estrutura temporária que recobre a abertura da concha dos moluscos evitando a perda de água para o ambiente. Após o retorno às condições favoráveis de umidade dos terrários, os moluscos perderam o epifragma voltando à atividade normal com a posterior deposição dos filhotes no solo. Não se observou os moluscos que apresentaram o epifragma ingerindo os mesmos logo após o retorno às suas atividades normais.



Fotografia 1: Molusco adulto da espécie *Leptinaria unilamellata* em processo de estivação, apresentando o epifragma fechando a abertura da concha. Barra igual a 1mm.

Tabela 8. Tempo para liberação dos filhotes do primeiro evento reprodutivo, número de filhotes e intervalo entre eventos reprodutivos de *Leptinaria unilamellata* do grupo I (Moluscos que não foram submetidos à dessecação).

	Primeiro evento reprodutivo		Segundo evento reprodutivo		Terceiro evento reprodutivo		Quarto evento reprodutivo	
	Tempo para a liberação dos filhotes (dias)	Nº de filhotes	Intervalo entre o 1º e 2º eventos (dias)	Nº de filhotes	Intervalo entre o 2º e 3º eventos (dias)	Nº de filhotes	Intervalo entre o 3º e 4º eventos (dias)	Nº de filhotes
Indivíduos								
1	29	2	5	1	-	-	-	-
2	27	6	7	1	4	1	33	6
3	27	5	44	7	-	-	-	-
4	34	5	37	6	-	-	-	-
5	38	4	9	2	-	-	-	-
6	34	6	-	-	-	-	-	-
7	27	7	7	1	-	-	-	-
8	52	4	19	1	-	-	-	-
9	27	5	11	1	-	-	-	-
10	24	3	5	3	9	2	33	1
11	29	3	5	1	37	9	-	-
12	29	4	5	1	4	1	-	-
13	24	6	-	-	-	-	-	-
14	29	4	9	1	33	10	-	-
15	27	5	11	1	9	1	24	8
16	34	4	13	1	-	-	-	-
17	47	2	-	-	-	-	-	-
18	34	6	37	9	-	-	-	-
19	29	6	5	6	4	1	33	14
20	38	1	33	9	-	-	-	-
21	29	5	42	4	-	-	-	-
22	27	4	11	1	-	-	-	-
23	29	3	5	1	4	2	33	9
24	29	6	-	-	-	-	-	-
25	29	5	-	-	-	-	-	-
26	38	6	-	-	-	-	-	-
27	27	3	7	1	-	-	-	-
28	34	3	-	-	-	-	-	-
29	27	5	44	7	-	-	-	-
Valores médios	31,3	4,4	16,8	3	13	3,3	31,2	7,6

Tabela 9. Tempo para liberação dos filhotes do primeiro evento reprodutivo, número de filhotes e intervalo entre eventos reprodutivos de *Leptinaria unilamellata* do grupo II (Moluscos que foram submetidos à dessecação).

	Primeiro evento reprodutivo		Segundo evento reprodutivo	
	Tempo para a liberação dos filhotes (dias)	Nº de filhotes	Intervalo entre o 1º e 2º eventos (dias)	Nº de filhotes
Indivíduos				
1	47	3	-	-
2	47	5	24	1
3	47	5	-	-
4	47	2	-	-
5	47	1	-	-
6	57	4	24	1
7	57	3	-	-
8	47	4	-	-
9	47	5	-	-
10	47	3	-	-
11	71	4	-	-
12	47	7	-	-
13	71	4	-	-
14	57	2	-	-
15	47	3	24	1
16	47	5	-	-
17	47	4	-	-
18	27	5	-	-
19	57	4	-	-
20	24	9	30	1
21	27	6	44	11
22	27	4	44	5
23	71	1	-	-
Valores médios	48,2	4	31,6	3,3

5.4. Discussão

Em moluscos a conceituação de oviparidade e viviparidade é controversa (DUTRA, 1988). Essa classificação se baseia no local do desenvolvimento do embrião (dentro do trato reprodutivo ou não), na origem dos nutrientes e no meio de obtê-lo pelo embrião (MACKIE, 1978). A maioria dos gastrópodes terrestres é ovípara e liberam seus ovos contendo uma única célula zigótica. Algumas espécies podem reter seus ovos dentro do duto reprodutivo, e quando estes são liberados podem conter embriões em estado avançado de desenvolvimento, os casos extremos de retenção de ovos em que os nutrientes utilizados provêm somente do ovo são chamados de ovoviviparidade. Em espécies em que os nutrientes são passados do organismo parental ao embrião, o termo viviparidade é aplicado (HELLER, 2001). *Leptinaria unilamellata* é uma espécie ovovivípara, sendo que os embriões completam o desenvolvimento dentro do organismo parental e dessa forma são protegidos contra injúria mecânica e dessecação (CARVALHO *et al.*, 2009). A retenção dos ovos no útero parece ser vantajosa durante condições desfavoráveis de umidade do ambiente e permite que os filhotes sejam protegidos, no interior do molusco parental, sendo liberados quando as condições ambientais voltam a ser favoráveis. Assim sendo, o principal benefício da retenção de ovos e ovoviviparidade pode ser uma minimização na taxa de mortalidade de filhotes causada pela seca e por predadores. Além disso, a ovoviviparidade pode ser vantajosa entre os gastrópodes pulmonados terrestres em locais em que o início da estação úmida é algo incerto, ou quando a liberação dos filhotes no ambiente no começo da estação de crescimento poderia fornecer uma vantagem competitiva sobre os jovens oriundos de animais ovíparos. A ovoviviparidade é comum em espécies que vivem em habitats com condições ambientais extremas e em espécies que vivem em regiões tropicais (TOMPA, 1984; BAUR, 1994).

Outra vantagem na ovoviviparidade está no fato de que os filhotes ativos podem obter vantagem sobre os ovos, pois a mobilidade torna-os capazes de procurar por locais com melhores condições de microclima (HELLER, 2001). Um exemplo seria a ovoviviparidade ocasional que ocorre no molusco *Lacinaria biplicata* (Montagu, 1803) que é uma espécie de gastrópode terrestre que usualmente é ovípara, mas sob condições

ambientais desfavoráveis pode colocar os ovos com embriões bem desenvolvidos (BAUR, 1994).

Os resultados do presente estudo demonstram que os moluscos da espécie *L. unilamellata* retêm os filhotes no oviduto quando em condições desfavoráveis, protegendo-os contra a dessecação e esperando melhores condições ambientais para liberá-los. Esta estratégia permite que os moluscos obtenham maior sucesso reprodutivo, por garantir a sobrevivência dos filhotes. A retenção dos filhotes no duto reprodutivo geralmente ocorre quando as condições ambientais não são favoráveis para os ovos e para os juvenis (HELLER, 2001). Um local que esteja permanentemente úmido é uma característica ambiental de suma importância para que haja o sucesso do desenvolvimento dos ovos. O ambiente seco é o fator mais comum de mortalidade dos ovos e filhotes, sendo que a estratégia de oviposição gira em torno de minimizar o estresse de umidade no embrião em desenvolvimento (TOMPA, 1984). Assim como *L. unilamellata* o molusco pulmonado terrestre *Helix pomatia* também apenas deposita seus ovos se o solo estiver completamente úmido (POTTS, 1975). Dessa forma, a ovoviviparidade pode contribuir na diminuição do índice de mortalidade dos juvenis, aumentando a probabilidade de sucesso efetivo na colonização de um hábitat novo, principalmente naquelas espécies em que o índice reprodutivo é considerado baixo (PEAKE, 1978).

A retenção de ovos e oviviparidade, que foram observadas em *L. unilamellata*, são características que estão incluídas nos modos de cuidado parental que já foram registrados para os gastrópodes pulmonados terrestres. Comparando-se espécies ovíparas com ovovivíparas percebeu-se que as primeiras produzem mais filhotes ou maiores ninhadas, o que sugere um custo pelo cuidado parental apresentado pelas espécies que retém os ovos no trato reprodutivo (BAUR, 1994).

O gastrópode pulmonado *Limicolaria martensiana* (E. A. Smith, 1880), assim como *L. unilamellata*, possui a capacidade de realizar oviposturas durante todo o ano, mas durante o período seco os adultos estavam retendo os ovos no trato reprodutivo, sendo que logo no início da estação chuvosa os moluscos ovipõem garantindo melhores condições de sobrevivência para seus filhotes (OWEN, 1965). A espécie *Pupilla muscorum* (Linnaeus, 1758) que é um gastrópode pulmonado parcialmente ovovivíparo, assim como *L. unilamellata*, também possui a capacidade de estar com os ovos no útero, depositando-os

com embriões parcialmente desenvolvidos no início da estação reprodutiva (TOMPA, 1984).

A espécie *Bulimulus tenuissimus* (d'Orbigny, 1835) é um gastrópode terrestre que tem sua fecundidade influenciada pela umidade do solo, característica a qual também foi possível observar para *L. unilamellata* no presente estudo. No estudo realizado por Silva *et al.* (2009), os moluscos pertencentes à espécie *B. tenuissimus* que tiveram seu substrato umedecido a intervalos de 1 dia produziram significativamente mais ovos do que aqueles umedecidos a intervalos de 7 dias, sendo também que esse último grupo apresentou uma taxa de mortalidade significativamente maior do que a do primeiro grupo. Os gastrópodes pulmonados terrestres perdem água e se reidratam através de seu tegumento, por meio da reidratação por contato. Quando se locomovem, os moluscos perdem água para o solo e atmosfera pela eliminação do muco e através do mecanismo da evaporação. A perda da água pelo tegumento sem reidratação posterior pode levar a diversas alterações fisiológicas, comportamentais e ecológicas nesses animais, levando a mudanças na alimentação, ritmo do batimento cardíaco e locomoção. Esses fatores possuem implicação direta no crescimento, fecundidade e mortalidade desses moluscos, sendo que a baixa umidade pode influenciar fortemente a reprodução desses animais, pois o processo de produção das células germinativas é afetado por esse fator (HODASI, 1979; COOK, 2001; SILVA *et al.*, 2009).

Muitos gastrópodes pulmonados terrestres podem apresentar comportamentos para garantir sua sobrevivência quando diante de condições ambientais adversas. Dentre esses comportamentos destacam-se o enterramento no solo, a retração da massa cefalopodal para o interior da concha e a estivação (ARAD, 1993). No presente estudo, foi observado que os adultos de *L. unilamellata* quando submetidos a condições desfavoráveis de umidade do solo retraem sua massa cefalopodal no interior da concha, cessam suas atividades naturais e entram em estivação. A estivação é um mecanismo utilizado para suportar condições ambientais ocasionalmente áridas muitas vezes em ambientes desérticos, em que o molusco conserva suas reservas energéticas através de uma drástica redução na taxa metabólica. Essa redução na taxa metabólica provém da diminuição dos movimentos voluntários, da parada da digestão, da redução na taxa de respiração e do batimento cardíaco e dos padrões de respiração apnóica. No estado de estivação, o molusco apenas produz proteínas essenciais para a manutenção da vida. Esse estado fisiológico pode ocorrer por períodos curtos, mas

pode ser empregado como uma estratégia que garante a sobrevivência dos moluscos por longos períodos de seca. A estivação é possível graças à capacidade de retenção de água e a disponibilidade de reservas energéticas que são continuamente consumidas. Com a redução nos níveis de reserva energética, o animal passa a ter menores taxas de crescimento e fecundidade (STOREY, 2002).

Juntamente com o processo fisiológico de estivação alguns moluscos formam o epifragma que se trata de uma estrutura composta principalmente por carbonato de cálcio, formada a partir do perístoma que fecha a abertura da concha temporariamente, diminuindo a superfície corporal sujeita à evaporação, mantendo a água corporal em níveis compatíveis com a sua sobrevivência (STOREY, 2002; STRUTHERS *et al.*, 2002). O epifragma de *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758) possui como composição 86,75% de carbonato de cálcio; 0,96% de carbonato de magnésio; 5,36% de fosfatos alcalinos; 0,16% de ferro; 0,35% de sílica e 6,42% de material orgânico (WICKE, 1863 *in* HYMAN, 1967). No presente trabalho, foi possível detectar que os adultos de *L. unilamellata* quando submetidos a condições desfavoráveis de umidade além de entrarem no estado fisiológico de estivação também são capazes de formar o epifragma para minimizar a perda de água para o ambiente, assim como outros gastrópodes pulmonados terrestres como é o caso de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (D'ÁVILA *et al.*, 2004). Esse resultado difere do observado por D'ávila *et al.*, 2004, onde se avaliou a resistência à dessecação de três espécies de gastrópodes pulmonados submetidos à exposição em temperaturas altas, dentre elas *L. unilamellata*. Esses autores observaram apenas uma retração pronunciada da massa cefalopodal dessa espécie, chegando à conclusão que essa espécie não produz o epifragma. Possivelmente essa espécie produz o epifragma em condições desfavoráveis de umidade a longo prazo, portanto não foi possível observar a formação dessa estrutura no estudo realizado por esses autores, já que os moluscos foram observados por apenas 48 horas.

D'ávila *et al.* (2004) observaram pela primeira vez o comportamento de ingestão do epifragma após o retorno de suas atividades normais pelos moluscos da espécie *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821). Tal comportamento não foi observado para as outras espécies de moluscos terrestres abordadas no estudo, tal como *L. unilamellata*. No presente estudo também não foi observada essa ação, corroborando o estudo anteriormente realizado.

Essas estratégias de sobrevivência adotadas pelos moluscos diante de condições ambientais adversas tais como o enterramento, retração da massa cefalopodal para o interior da concha e estivação, podem ter efeito direto na ineficácia dos tratamentos com moluscidas (PIERI & JURBERG, 1981).

5.5. Conclusões

Com os resultados oriundos do presente estudo, foi possível concluir que:

Os moluscos da espécie *Leptinaria unilamellata* quando sujeitados a condições desfavoráveis de umidade do substrato, retém os filhotes no trato reprodutivo por mais tempo do que os submetidos a condições favoráveis, à espera de melhores condições ambientais.

Os moluscos submetidos a condições de baixa umidade, além de reterem os filhotes no oviduto, cessam suas atividades naturais e entram num estado de drástica redução metabólica, conhecido como estivação.

Quando os moluscos são novamente expostos a condições favoráveis de umidade, eles saem do estado fisiológico de estivação e realizam a postura dos filhotes que estavam retidos no trato reprodutivo.

Foi possível também detectar que esses moluscos juntamente com a estivação, formam o epifragma que é uma estrutura que fecha a abertura da concha, evitando que o animal perca água para o ambiente.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os dados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

A espécie *Leptinaria unilamellata* é capaz de se reproduzir realizando autofecundação, além de possuir crescimento indeterminado e ser iterópara.

Os indivíduos dessa espécie mantidos pareados alcançam a maturidade sexual mais rapidamente do que os isolados. Porém os isolados obtiveram maior índice de fecundidade quando comparados aos indivíduos mantidos pareados, além de apresentarem maior investimento reprodutivo médio na prole. Em relação à mortalidade entres esses dois grupos, não houve diferença significativa. Os moluscos mantidos isolados apresentaram maior investimento reprodutivo médio em relação ao mostrado pelos moluscos pareados. Os resultados do presente estudo evidenciam que existem diferenças nos aspectos da reprodução e crescimento de indivíduos da espécie *L. unilamellata* mantidos isolados e pareados.

Percebe-se que não há diferenças estruturais entre os órgãos do sistema reprodutor entres os indivíduos mantidos isolados e pareados. É possível que o trato reprodutivo dos moluscos mantidos pareados tenha seu desenvolvimento iniciado antes do que o dos moluscos isolados. É provável que esses moluscos realizem a autocópula, já que foi observado um material amorfo dentro da bolsa copuladora dos indivíduos mantidos isolados, o qual poderia se tratar da estrutura conhecida como espermatóforo.

Os moluscos quando expostos a condições desfavoráveis de umidade do substrato, tendem a reter os filhotes do oviduto a espera de condições propícias para a postura dos filhotes. Além disso, nessas condições, eles são capazes de entrar no estado fisiológico de estivação e formar o epifragma, vedando a abertura da concha.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTMANN, J. 1974. Observational study of behaviour: Sampling methods. **Behaviour**, **49** (3-4):1115-1122.
- ALMEIDA, M.N. & E.C.A. BESSA. 2000. Efeito da densidade populacional sobre o crescimento e a reprodução de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Xanthonychidae) e *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Subulinidae). **Revista Brasileira De Zoociências**, **2** (1): 97-104.
- ALMEIDA, M. N. & E. C. A. BESSA. 2001a. Estudo do crescimento e da reprodução de *Bradybaena similaris* (Férussac) (Mollusca, Xanthonychidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, **18** (4): 1115-1122.
- ALMEIDA, M.N. & E.C.A. BESSA. 2001b. Estudo do crescimento e da reprodução de *Leptinaria unilamellata* (D'Orbigny) (Mollusca, Subulinidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, **18** (4): 1107-1113.
- ANSART, A.; MADEC, L. & P. VERNON. 2007. Supercooling ability is surprisingly invariable in eggs of the land snail *Cantareus aspersus*. **Cryobiology**, **54**: 71–76.
- ARAD, Z. 1993. Water relations and resistance to desiccation in three Israeli desert land snails, *Eremina desertorum*, *Euchondrus desertorum* and *Euchondrus albulus*. **Journal of Arid Environments**, **24**: 387-395.
- ARAÚJO, J.L.B. 1982. **Alguns moluscos terrestres como hospedeiros intermediários de parasitos de animais domésticos, no Brasil: estudos sobre a anatomia, sistemática e participação em helmintoses**. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Itaguaí. 103pp.
- ARAÚJO, J.L.B. & KELLER, D. G. 1992. Ciclo evolutivo de *Paratanaisia bragai* (Santos, 1934) (Trematoda, Eucotylidae) com novo hospedeiro intermediário no Brasil: *Leptinaria unilamellata* (D'orbigny, 1835) (Mollusca, Pulmonata, Subulinidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, **1** (2): 89-92.
- ARAÚJO, J.L.B. & KELLER, D. G. 1993. Moluscos de importância econômica no Brasil. III. Subulinidae, *Leptinaria unilamellara* (Orbigny) (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora) **Revista Brasileira de Zoologia**, **10** (3): 499-507.
- BAKER, F.C. 1945. The Molluscan Family Planorbidae. **University of Illinois press, Urbana**. United States of America.

- BAUR, B. & BAUR, A. 1992. Effect of courtship and repeated copulation on egg production in the simultaneously hermaphroditic land snail *Arianta arbustorum*. **Invertebrate Reproduction and Development**, **21**: 201-206.
- BAUR, B. 1994. Parental care in terrestrial gastropods. **Experientia**, **50**: 5-14.
- BAUR, B. 1998. Sperm competition in mollusks. In: Sperm competition and sexual selection, T.R. Birkhead and A.P. Moller (eds.), **Academic Press**, 255-305.
- BAUR, B. & A. BAUR. 2000. Social facilitation affects longevity and lifetime reproductive success in a self-fertilizing land snail. **Oikos**, **88** (3): 612-620.
- BARKER, G.M. 2001. Gastropods on land: phylogeny, diversity and adaptive morphology. In: BARKER, G.M. (Ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. CAB International, 552p.
- BAYNE, C.J. 1968. Histochemical studies on the egg capsules of eight gastropod molluscs. **Proceedings of the Malacological Society of London**, **38**: 199-212.
- BAYNE, B. L.. WORRALL. C. M. (1980). Growth and production of mussels *Mytilus edulis* from two populations. **Marine Ecology**, **3**: 317-328.
- BAYNE, B.L., SALKELD, P.N. & WORRALL, C.M. 1983. Reproductive effort and value in different populations of the marine mussel, *Mytilus edulis* L. **Oecology**, **59**: 18-26.
- BACKELJAU, T.; BAUR, A. & BAUR, B. 2001. Population and conservation genetics. In: BARKER, G. M. (ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. New York: CABI Publishing. 558 páginas.
- BEESE, K. & BAUR, B. 2006. Expandable spermatheca influences sperm storage in the simultaneously hermaphroditic snail *Arianta arbustorum*. **Invertebrate Reproduction and Development**, **49**: 93-101.
- BEESE, K., BEIER, K. & BAUR, B. 2006. Coevolution of male and female reproductive traits in a simultaneously hermaphroditic land snail. **Journal of Evolutionary Biology**, **19**: 410-418.
- BESSA, E.C.A. & J.L.B. ARAÚJO. 1995a. Oviposição, tamanho de ovos e medida do comprimento da concha em diferentes fases do desenvolvimento de *Subulina octona* (Brugüière) (Pulmonata, Subulinidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** **12** (3): 647-654.
- BESSA, E.C.A. & J.L.B. ARAÚJO. 1995b. Ocorrência de autofecundação em *Subulina octona* (Brugüière) (Pulmonata, Subulinidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** **12** (3): 719-723.

- BIRKHEAD, T.R. & PIZZARI, T. 2002. Postcopulatory sexual selection. **Nature Reviews Genetics**, **3**: 262-272.
- BRANDOLINI, S.V.P.B. & Gomes, A.P.S. 2002. Influência de diferentes dietas sobre o crescimento, sobrevivência e reprodução de *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (Gastropoda, Subulinidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Zoociências**, **4**: 169–177.
- BRIDE, M. & GOMOT, L. 1989. L'escargot ou les difficultés de l'hermaphrodisme. **Invertebrate Reproduction and Development**, **16**: 75-85.
- BROWNE, R.A. & HUNTER, W.D.R. 1978. Reproductive Effort in Molluscs. **Oecologia**, **37**: 23-27.
- BOYCOTT, A.E., DIVER, C., GARSTANG, S., TURNER, F.M. 1930. The inheritance of sinistrality in *Lymnaea peregra*. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, Ser. B, 219, 51-131.
- CALOW, P. 1979. The cost of reproduction – a physiological approach. **Biological Reviews, Cambridge**, **54**: 23-40.
- CARVALHO, C.M., BESSA, E.C.A., D'ÁVILA, S. 2008. Life history strategy of *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Pulmonata, Bradybaenidae). **Molluscan Research**, **28**(3): 171–174
- CARVALHO, C.M., SILVA, J.P., MENDONÇA, C.L.F., BESSA, E.C.A., D'ÁVILA, S. 2009. Life history strategy of *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Pulmonata, Subulinidae). **Invertebrate Reproduction and Development**, **53** (4): 211-222.
- CHARLESWORTH, D., CHALLESWORTH, B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. **Annual Review of Ecology and Systematics**, **18**: 237-268.
- CARSON, F.L.; MARTIN, J.H.; LYINN, J.A. 1973. Formalin fixation for electron microscopy: a re-evaluation. **American Journal of Clinical Pathology**, **59**: 365-375.
- CHEN, X. 1993. Comparison of inbreeding and outbreeding in hermaphroditic *Arianta arbustorum* (Land snail). **Heredity**, **71**: 456-461.
- CHEN, X. 2009. Self-fertilization and cross-fertilization in the land snail *Arianta arbustorum* (Mollusca, Pulmonata: Helicidae), **Journal of Zoology**, **232**: 465- 471.
- CICHÓN, M. 1999. Growth after maturity as a suboptimal strategy. **Acta Oecologica**, **20**: 25-28.

- COSTA, M.J.F.S., GRAULT, C.E. & CONFALONIER, U.E.C. 2004. Comparative study of the fecundity and fertility of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) and *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) in a laboratory through self-fertilization and cross-fertilization. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **46**: 157-163.
- COOK, A. 2001. Behavioural ecology: on doing the right thing, in the right place at the right time. In BARKER, G.M. **the biology of the terrestrial mollusks**. New Zealand: CABI Publishing, 552 p.
- D'ÁVILA, S., DIAS, R.J.P., BESSA, E.C.A. & DAEMON, E. 2004. Resistência à dessecação em três espécies de moluscos terrestres: aspectos adaptativos e significado para o controle de helmintos. **Revista Brasileira de Zoociências** **6** (1): 115-127.
- D'ÁVILA, S. & BESSA, E.C.A. 2005b. Influência do substrato sobre a reprodução de *Subulina octona* (Brugüière) (Mollusca, Subulinidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** **22** (1): 205-211.
- D'ÁVILA S., & BESSA, E.C.A. 2005c. Influência de diferentes substratos e umidade sobre o crescimento e o número de ovos produzidos por *Subulina octona* (Brugüière) (Mollusca, Subulinidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** **22** (2): 349-353.
- DE VISSER, J.A.G.M., MAAT, A.T. & ZONNEVELD, C. 1994. Energy budgets and reproductive allocation in the simultaneous hermaphrodite pond snail, *Lymnaea stagnalis*: a trade-off between male and female function. **American Naturalist**, **144**: 861-867.
- DOUMS, C., VIARD, F., PERNOT, A.F., DELAY, B & JARNE, P. 1996. Inbreeding depression, neutral polymorphism and copulatory behavior in freshwater snails: a self-fertilization syndrome, **Evolution**, **50**: 1908-1918.
- DUNCAN, C.J. 1975. Reproduction. In: Fretter, V. & Peake, J. (Eds). **Pulmonates**, Volume I, Functional Anatomy and Physiology, Academic Press London, 309-365.
- DUTRA, A.V.C. 1988. Aspectos da ecologia e da reprodução de *Leptinaria unilamellata* (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Subulinidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, **5**: 581-591.
- EBERHARD, W.G. 1989. Sexual Selection and Animal Genitalia. **Harvard University Press, Cambridge, MA**. 244p.
- ELS, A. 1974. The morphology and histology of the genital system of the pulmonate *Milax gagates* (Draparnaud). **Annale universiteit van Stellenbosch**, **49**: 1-39.
- ELS, W.J. 1978. Histochemical studies on the maturation of the genital system of the slug *Deroceras leave* (Pulmonata, Limacidae), with special reference to the identification of

- mucosubstances secreted by the genital tract. **Annale Universiteit van Stellenbosch**, **1**: 1-116.
- EMBERTON, K.C. 1994. Polygyrid land-snail phylogeny: external sperm exchange, early North American biogeography, iterative shell evolution. **Biological Journal of the Linnean Society**, **52**: 241- 271.
- FREITAS, J.S., PAULA, D.P. & CARIELLO, M.O. 1997. The influence of self-fertilization performance and copulation behaviour in reproduction bt cross-fertilization in groups of *Biomphalaria tenagophila* (Mollusca, Planorbidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **92**: 739-743.
- FURTADO, M.C.V., BESSA, E.C.A. & CASTAÑÓN, M.N. Ovoteste de *Bradybaena similares* (Férussac, 1821) (Mollusca, Xanthonychidae): histologia e produção de gametas. **Revista Brasileira de Zoociências**, **6** (1): 7-17.
- GAGE, M.J.G. & MORROW, E.H. 2003. Experimental evidence for the evolution of numerous, tiny sperm via sperm competition. **Current Biology**, **13**: 754-757.
- GIOKAS, S., PAFFILIS, P. & E. VALAKOS. 2005. Ecological and physiological adaptations of the land snail *Albinaria careulea* (Pulmonata, Clausiliidae). **Journal of Molluscan Studies**, **71** (1): 15-23.
- GÓMEZ, B.J., ANGULO, E. & ZUBIAGA, A. 1991. Ultrastructural analysis of the morphology and function of the spermatheca of the pulmonate slug *Arion subfuscus*. **Tissue and Cell**, **23**: 357-365.
- GÓMEZ, B.J. 2001. **Structure and functioning of the reproductive system**. In: BARKER, G.M. (Ed.). *The biology of terrestrial molluscs*. CAB International, 552p.
- GOODMAN, D. 1979. Regulating reproductive effort in a changing environment. **The American Naturalist**, **113**: 735-748
- GOW, J.L., NOBLE, L.R., ROLLINSON, D., TCHUENTE, L.A.T. & JONES, C.S. 2004. High levels of selfing are revealed by a parent-offspring analysis of the medically important freshwater snail, *Bulinus forskalli* (Gastropoda: Pulmonata). **Journal of Molluscan Studies**, **71**: 175-180.
- GREEF, J.M. & MICHIELS, N.K. 1999. Sperm digestion and reciprocal sperm transfer can drive hermaphrodite sex allocation to equality. **American Naturalist**, **153**: 421-430.
- GRIFFOND, B., DADKHAH-TEHERANI, Z., MEDINA, A. & BRIDE, M. 1991. Ultrastructure of *Helix aspersa* spermatogenesis: scanning and transmission electron microscopical contributions. **Journal of Molluscan Studies**. **57**: 227-287.

- HAASE, M. & BAUR, B. 1995. Variation in spermathecal morphology and storage of spermatozoa in the simultaneously hermaphroditic land snail *Arianta arbustorum* (Gastropoda: Pulmonata: Stylommatophora). **Invertebrate Reproduction and Development, 28**: 33-41.
- HEALY, J.M. 2001. **Spermatogenesis and oogenesis**. In: BARKER, G.M. (Ed.). The biology of terrestrial molluscs. CAB International, 552p.
- HELLER, J. 1993. Hermaphroditism in mollusks. **Biological Journal of the Linnean Society, 48**: 19-42.
- HELLER, J. 2001. **Life history strategies**. In: BARKER, G.M. (Ed.). The biology of terrestrial molluscs. CAB International, 552p.
- HENRY, P.Y., VIMOND, L., LENORMAND, T. & JARNE, P. 2006. Is delayed selfing adjusted to chemical cues of density in the freshwater snail *Physa acuta*? **Oikos, 112**: 448-455.
- HINES, A.H. 1982. Allometric constraints and variables of reproductive effort in brachyuran crabs. **Marine Biology, Berlin, 69**: 309-320.
- HILL, R.S. 1977. Studies on the ovotestis of the slug *Agriolimax reticulatus* (Müller). 2. The epithelia. **Cell and Tissue Research, 183**:131-141.
- HOLSINGER, K.E. 1988. Inbreeding depression doesn't matter: the genetic basis of mating-system evolution. **Evolution, 42**: 1235-1244.
- HODASI, J.K.M. 1979. Life-history studies of *Achatina (achatina) achatina* (Linné). **Journal of Molluscan Studies, 45**: 328-329.
- HOGG, N.A.S. & WIJDENES, J. 1979. A study of gonadal organogenesis and the factors influencing regeneration following surgical castration in *Deroceras reticulatum* (Pulmonata: Limacidae). **Cell and Tissue Research, 198**: 295-307.
- HOMMAY, G.; KIENLEN, J. C.; GERTZ, C. & A. HILL. 2001. Growth and reproduction of the slug *Limax valentianus* Ferrusac in experimental conditions. **The Journal of Molluscan Studies, 67**: 191-207.
- HORMANN, P.R.P. 1987. **Aspectos da biologia e do polimorfismo enzimático em três espécies do gênero Biomphalaria**. PhD Thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, 117.
- HORN, A.C.M., ACHAVAL, M. & ZANCAN, D.M. 2005. The annual reproductive cycle of the snail *Megalobulimus abbreviatus* (Bequart, 1948) (Gastropoda, Pulmonata). **Brazilian Journal of Biology, 65** (3): 459-467.

- HYMAN, L.H. 1967. **The Invertebrates: Volume VI, Mollusca I.** United States of America, McGraw-Hill, 792p.
- JARNE, P. & DELAY, B. 1990. Inbreeding depression and self-fertilization in *Lymnaea peregra* (Gastropoda: Pulmonata). **Heredity**, **64**: 169-175.
- JARNE, P., FINOT, L., DELAY, B. & THALER, L. 1990. Self-fertilization versus cross-fertilization in the hermaphroditic freshwater snail *Bulinus globosus*. **Evolution**, **45**: 1136 - 1146.
- JARNE, P. & CHARLESWORTH, D. 1993. The evolution of the selfing rate in functionally hermaphrodite plants and animals. **Annual Review of Ecology and Systematics**, **24**: 441-466.
- JARNE, P. 1995. Mating system, bottlenecks and genetic polymorphism in hermaphroditic animals. **Genetics Research**, **65**: 193-207.
- JONG-BRINK, M.; WIT, A.; KRAAL, G. & BOER, H.H. 1976. A light and electron microscope study on oogenesis in the freshwater pulmonate snail *Biomphalaria glabrata*. **Cell and Tissue Research**, **171** (2): 195-219.
- JONG-BRINK, M., BOER, H.H., HOMMES, T.G. & KODDE, A. 1977. Spermatogenesis and the role of Sertoli cells in the freshwater pulmonate snail *Biomphalaria glabrata*. **Cell Tissue and Research**, **181**: 37-58.
- JONG-BRINK, M. & W.P.M. GERAERTS. 1982. Oogenesis in gastropods. **Malacologia**, **22**(1-2): 145-149.
- JOKINEN, E.H., GUERETTE, J. & KORTMANN, G.W. 1982. The natural history of an ovoviviparous snail, *Viviparus georgianus* (Lea), in a soft-water eutrophic lake. **Freshwater Invertebrate Biology**, **1**: 2-17.
- JOOSE, J. & REITZ, D. 1969. Functional anatomical aspects of the ovotestis of *Lymnaea stagnalis*. **Malacologia**, **9** (1): 101-109.
- KALISZ, S., VOGLER, D.W. & HANLEY, K.M. 2004. Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. **Nature**, **430**: 884-887.
- KELLER, D. G. & ARAUJO, J. L. B. 1992. Ciclo evolutivo de *Paratanaisa bragai* (SANTOS, 1934) (Trematoda, Eucotyliidae) com novo hospedeiro intermediário no Brasil: *Leptinaria unilamellata* (D'Orbigny, 1835) (Gastropoda, Pulmonata, Subulinidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, **1** (2): 89-92.

- KHAN, H.R. & A.S.M. SALEUDDIN. 1983. Cell contacts between follicle cells and oocyte of *Helisoma* (Mollusca, Pulmonata). **Journal of Morphology**, **177**: 319-328.
- KOENE, J.M. & MAAT, A.T. 2001. "Allohormones": A class of bioactive substances favoured by sexual selection. **Journal of Comparative Physiology A**, **187**: 323-326.
- KOENE, J.M. & MAAT, A.T. 2004. Energy budgets in the simultaneously hermaphroditic pond snail, *Lymnaea stagnalis*: A trade-off between growth and reproduction during development. **Belgian Journal of Zoology**, **134**: 41-45.
- LEME, M.H.A, 2006. Investimento reprodutivo e produção de ovos em desovas consecutivas do caranguejo *Aratus pisonii* (H.Milne Edwards) (Crustacea, Brachyura, Grapsoidea), **Revista Brasileira de Zoologia** **23** (3): 727-732.
- LIND, H. 1973. The functional significance of the spermatophore and the fate os spermatozoa in the genital tract of *Helix pomatia* (Gastropoda: Stylommatophora). **Journal of Zoology**, **169**: 36-64.
- MACARTHUR, G.F. & WILSON, E.O. 1967. The Theory of Island Biogeography. **Princeton University Press**, Princeton, New Jersey.
- McCRACKEN, G.F. & BRUSSARD, P.F. 1980. Self-fertilization in the white-lipped snail, *Triodopsis albolabris*. **Biological Journal of the Linnaean Society**, **14**: 429-434.
- MEUNIER, C., HURTREZ-ROUSSES, S., DURAND, P., RONDELAUD & RENAUD, F. 2004. Small effective population sizes in a widespread selfing species, *Lymnaea truncatula* (Gastropoda: Pulmonata). **Molecular Ecology**, **13**: 2535-2543.
- MICHIELS, N.K., BIRKHEAD, T.R. & MOLLER, A.P. 1998. Mating conflicts and sperm competition in simultaneous hermaphrodites. In: Sperm Competition and Sexual Selection. **Academic Press**, London, 219-254.
- MINCHELLA, D.J. 1985. Host life-history variation in response to parasitism. **Parasitology**, **90**: 205-216.
- MONTEIRO, W., ALMEIDA, J.R., J.M.G. & DIAS. B.F.S. 1984. Sperm sharing in *Biomphalaria* snails: a new behavioral strategy in simultaneous hermaphroditism. **Nature**, **308**: 727-729.
- MONTEIRO, W. & DIAS, B.F.S. 1989. Estratégias reprodutivas em *Biomphalaria* (Mollusca, Planorbidae). **Ciência e Cultura**, **41**: 1051-1054.
- MONTEIRO, W. & KAWANO, T. 1998. Investimento na função masculina em *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny) (Mollusca, Planorbidae) avaliado pelo número de espermatozoides. **Revista Brasileira de Biologia**, **58** (3): 481-490. genetic study. **Journal of Molluscan Studies**, **67**: 103-111.

- NJIOKOU, F., BELLEC, C., JARNE, P., FINOT, L. & DELAY, B. 1993. Mating system analysis using protein electrophoresis in the self-fertile hermaphrodite species *Bulinus truncatus* (Gastropoda: Planorbidae). **Journal of Molluscan Studies**, **59**: 125-133.
- OCAÑA, T. M. J. 2003. Growth, mortality and longevity in two populations of *Siphonaria pectinata* (Pulmonata) at Gibraltar. **Journal of Molluscan Studies**, **69**: 162-164.
- ORBIGNY, AD'.1835/1846. Voyage dans l 'Amerique Meridionale. Paris. **Mollusques**, **5** (3): 185-376 (1837); 489-758 (1846).
- OWEN, D.F. 1965. A population study of an equatorial land snail, *Limicolaria martensiana*. **Proceedings of the Zoological Society of London**, **144**: 361-382.
- PARAENSE, W.L. 1955. Self and cross-fertilization in *Australorbis glabratus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **53**: 285-891.
- PARAENSE, W.L. & CORRÊA, L.R. 1988. Self-fertilization in the freshwater snails *Helisoma duryl* and *Helisoma trivolvis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **83**: 405-409.
- PARIVAR, K. 1980. Differentiation of Sertoli cells and posteriorreproductive epithelial cells in the hermaphrodite gland of *Arion ater* (L.) (Mollusca, Pulmonata). **Journal of Molluscan Studies**, **46**: 139-147.
- PARKER, G.A. 1983. Mate quality and mating decisions. **Mate Choise**. Cambridge University Press, Cambridge, 141-166.
- PARNELL, JR. & CHARLESWORTH, B. 1999. Neutral genetic diversity in a metapopulation with recurrent local extinction and recolonization. **Evolution**, **53**: 664-676.
- PEAKE, J. & FRETTER, V. 1978. Distribution and ecology of the Stylommatophora. **The Pulmonates**. Academic Press, London, 429-526.
- PERRON, F.E. Inter and intraspecific patterns of reproductive effort in four species of cone shells (*Conus* spp.). 1982. **Marine Biology**, **68**: 161-167.
- PIANKA. E.R. & PARKER, W.S., 1975. Age- specific reproductive tactics. **American Naturalist**, Chicago, **109** (968): 456-464.
- PICORAL, M & J.W. THOMÉ. 1989. Sobre a anatomia do sistema genital de *Bradybaena similaris* (Fèrussac, 1821) (Pulmonata, Stylommatophora, Bradybaenidae) ocorrentes em Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **84** (4): 435-439.

- PIERI, O. & JURBERG, P. 1981. Aspectos etológicos na sobrevivência dos caramujos vetores da xistosomose ao tratamento com moluscicidas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **76**: 47-55.
- POTTS, D.C. 1975. Persistence and extinction of local populations of the garden snail *Helix pomatia* in unfavourable environments. **Oecologia**, **21**: 313-334.
- REEVE, L. A. 1849. Conchologia Iconica. **Illustrations of the shells of molluscan animals**, Vol. V.
- ROGERS, S. REEDER, R.L. & SHANNON, W.A. 1980. Ultrastructural analysis of the morphology and function of the spermatheca of the pulmonate snail *Sonorella santaritana*. **Journal of Morphology**, **163**: 319-329.
- ROGERS, D.W. & CHASE, R. 2001. Dart receipt promotes sperm storage in the garden snail *Helix aspersa*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, **50**: 122-127.
- RUNHAM, N.W. 1982. Hermaphroditism in the Stylommatophora. **Malacologia**, **22** (1-2): 121-123.
- RUNHAM, N.W., ADIYODI, K.G. & ADIYODI, G. 1988. **Reproductive Biology of Invertebrates**, Vol. III, Accessory Sex Glands, 113-188.
- RUNHAM, N.W. & HOGG, J. 1992. The pulmonate carrefour. Proceedings of the Ninth International Malacological Congress. **Unitas Malacologica**, Leiden, 303-307.
- SALGADO, N.C., COELHO A.C.S. & BARROS, H.M.. 1995. Macroanatomia, microanatomia e histologia do sistema reprodutor de *Thaumastus* (*Thaumastus*) *taunaisii* (Férussac, 1822), *T. (T.) magnificus* (Grateloup, 1839) e *T. (T.) achilles* (Pfeiffer, 1852) (Mollusca, Gastropoda, Bulimulidae). **Boletim do Museu nacional**, **358**: 1-46.
- SILVA, L.C., MEIRELES, L.M.O, JUNQUEIRA, F.O. & BESSA, E.C.A. 2008. Development and reproduction of *Bulimulus tenuissimus* (Mollusca: Bulimulidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Zoologia**, **25**: 220-223.
- SILVA, L.C., MEIRELES, L.M.O, JUNQUEIRA, F.O. & BESSA, E.C.A. 2009. Influência da umidade do substrato sobre crescimento, produção de ovos e sobrevivência de *Bulimulus tenuissimus* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Bulimulidae) sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Biociências**, **7**: 144-149.
- SILVA, R.F., CUBAS, J.J.M. & MORAES, J. 2009. Aspectos histológicos das glândulas hermafroditas de *Biomphalaria glabrata* e *Bradybaena similaris* (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata). **Papéis Avulsos de Zoologia**, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, **49** (33): 459-466.

- SIMONE, L.R.L. 2006. **Land and freshwater mollusks of Brazil**. EGB, Fapesp, São Paulo.
- SNOOK, R.R. 2005. Sperm in competition: not playing by the numbers. **Trends in Ecology and Evolution**, **20**: 46-53.
- STEARNS, S.C. 1976. Life history tactics: a review of the ideas. **Quarterly Review of Biology**, **51**: 3-47.
- STEARNS, S.C. & CRANDALL, R.E. 1981. Quantitative predictions of delay maturity. **Evolution**, **35**: 445-463.
- STOREY, K.B. 2002. Life in the slow lane: molecular mechanisms of estivation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, **133**: 733-754.
- STRUTHERS, M., ROSAIR, G., BUCKMAN, J. & VINEY, C. 2002. The physical and chemical microstructure of the *Achatina fulica* epiphragm. **Journal of Molluscan Studies**, **68**: 165-171.
- TACHIDA, H. 1996. Genetic diversity in partially selfing populations with the stepping-stone structure. **Heredity**, **77**: 469-475.
- TEIXEIRA, D.G., MARTINS, M.F., GUERRA, J.L., BLAZQUEZ, F.J.H. & SINHORINI, I.L. 2006. Descrição histológica da via genital masculina e hermafrodita de escargots das espécies *Achatina fulina* e *Achatina monochromatica*. **Veterinária e Zootecnia**, **13** (1): 44-53.
- THOMPSON, R.J. 1984. Production, reproductive effort, reproductive value and reproductive cost in a population of the blue mussel *Mytilus edulis* from subarctic environment. **Marine Ecology**: 249-257.
- TOMPA, A.S. 1979. Oviparity, egg retention and ovoviviparity in pulmonates. **Journal of Molluscan Studies**, **45**: 155-160.
- TOMPA, A.S., VERDONK, N.H. & BIGGELAAR, V.D. 1984. Land snails (Stylommatophora). **The Mollusca**, Volume 7, Reproduction. Academic Press, New York, 47-140.
- TOWNSEND, C.R. 1974. Mucus trail following by the snail *Biomphalaria glabrata*. **Animal Behaviour**, **22**: 170-177.
- TSITRONE, A., JARNE, P. & DAVID, P. 2003. Delayed selfing and resource reallocations in relation to mate availability in the freshwater snail *Physa acuta*. **American Naturalist**, **162**: 474-488.

- TUOMI, J.; HAKALA, T. & HAUKIOJA, F., 1983. Alternative concepts of reproductive effort, costs of reproduction, and selection in life-history evolution. **American Zoologist**, Thousand Oaks, **23**:25-34.
- UDAKA, H.; MORI, M.; GOTO, S. G. & H. NUMATA. 2007. Seasonal reproductive cycle in relation to tolerance to high temperatures in the terrestrial slug *Lehmannia valentiana*. **Invertebrate Biology** **126**, (2): 154–162.
- VALENTINE, J. W. 2004. **On the origin of phyla**. Chicago: University of Chicago Press. 608 páginas.
- VAN DUIVENBODEN, Y.A. & MAAT, A. 1985. Masculinity and receptivity in the hermaphrodite pond snail, *Lymnaea stagnalis*. **Animal Behaviour**, **33**: 885-891.
- VAN MINNEN, J.R.W., DIRKS, E. V. & DIEPEN, J. 1989. Expression of the egg-laying hormone genes in peripheral neurons and exocrine cells in the reproductive tract of the mollusc *Lymnaea stagnalis*. **Neuroscience**, **33**: 35-46.
- VIANEY-LIAUD, M. 1989. Growth and fecundity in a black-pigmented and an albino strain of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Pulmonata), **Malacological Review**, **22**: 25-32.
- VIANEY-LIAUD, M. & DUSSART, G. 1993. Starvation, desiccation and use of allosperm in the hermaphroditic freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Pulmonata), **Journal of Molluscan Studies**, **60**: 255-262.
- VORSTER, W. 1973. The morphology and histology of the genital system of *Sheldonia cotyledonis*. **Annale Universiteit van Stellenbosch**, **3** (A2), 1-30.
- YURLOVA, N.I. 2003. The influence of trematode infections on reproductive potencial of natural *Lymnaea stagnalis* population (Gastropoda, Lymnacidæ), **Zoologicheskij Zhurnal**, **82**: 1027-1036.
- WELLS, M.L. & BUCKLEY, S.K.L. 1972. Snails and trails. **Animal Behaviour**, **20**: 345-355.
- WILLIAMS, G.C. 1966. Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. **American Naturalist**, Chicago, **100**: 687-690.
- WOLDA, H. & KREULEN, D.A. 1973. Ecology of some experimental populations of the landsnail *Cepaea nemoralis*: Production and survival of eggs and juveniles. **Netherlands Journal of Zoology**, **23**: 168-188.
- ZUBIAGA, A., GÓMEZ, B.J., MOYA, J. & ANGULO, E. 1990. Identification and carbohydrate content of secretory cell types in the spermoviduct of *Arion subfuscus* (Mollusca, Gastropoda) by classical and lectin histochemistry. **Zoologische Jahrbücher für Anatomie**, **120**: 409-424.