

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Lidiane Cristina da Silva

**HISTÓRIA DE VIDA DE *Bulimulus tenuissimus* (D'ORBIGNY, 1835)
(MOLLUSCA, BULIMULIDAE): VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DOS
SUBSTRATOS ENERGÉTICOS DE ACORDO COM A IDADE E
SAZONALIDADE**

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

Juiz de Fora
2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Lidiane Cristina da Silva

**HISTÓRIA DE VIDA DE *Bulimulus tenuissimus* (D'ORBIGNY, 1835)
(MOLLUSCA, BULIMULIDAE): VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DOS
SUBSTRATOS ENERGÉTICOS DE ACORDO COM A IDADE E
SAZONALIDADE**

Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth Cristina de Almeida Bessa

Co-orientadora: Profa. Msc. Flávia Oliveira Junqueira

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

Juiz de Fora

2009

**HISTÓRIA DE VIDA DE *Bulimulus tenuissimus* (D'ORBIGNY, 1835)
(MOLLUSCA, BULIMULIDAE): VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DOS
SUBSTRATOS ENERGÉTICOS DE ACORDO COM A IDADE E
SAZONALIDADE**

Lidiane Cristina da Silva

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

Aprovada em 18 de fevereiro de 2009.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dra. Norma Campos Salgado
Universidade Federal do Rio de Janeiro/ Museu Nacional

Prof. Dr. Jairo Pinheiro da Silva
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof.^a. Dra. Elisabeth Cristina de Almeida Bessa- Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

À minha mãe, pela compreensão e apoio.

E à amiga Liliane Meireles,

Pela lição de vida,

Pela força e coragem de prosseguir.

Desistir teria sido fácil demais.

AGRADECIMENTOS

À professora Elisabeth Bessa, Departamento de Zoologia-Universidade Federal de Juiz de Fora, pela confiança durante a graduação e pós-graduação. E, sobretudo pelos ensinamentos que levarei pela vida toda.

A Profa. Flávia Junqueira, Centro Universitário do Leste de Minas Gerais, pela amizade e co-orientação.

À Profa. Norma Salgado, Museu Nacional-Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela identificação da espécie.

Ao Prof. Jairo Pinheiro, pela gentileza em contribuir para a realização desse trabalho.

À Profa. Juliane Lopes, Departamento de Zoologia-Universidade Federal de Juiz de Fora, pela contribuição nas análises.

À Profa. Sthefane D'ávila, Departamento de Zoologia-Universidade Federal de Juiz de Fora, pela disponibilidade.

À amiga Camilla Medeiros pela amizade durante esses anos.

A amiga Tércia pela disponibilidade e amizade. E em especial, pela ajuda na manutenção dos animais.

À Maria Alice Allemand, que sempre esteve presente durante toda graduação e mestrado, fazendo muitas vezes papel de mãe, psicóloga, conselheira sentimental, dentre muitos tantos outros papéis. Obrigada pela atenção e amizade.

A amiga-irmã Liliane Meireles, que esteve presente desde o primeiro ovo, em todos os erros e acertos. Sem você nada teria sido tão gratificante. Obrigada pelo companheirismo, pela paciência, pelas horas e horas de análises de dados e discussões infundáveis. E se tudo der errado, ainda podemos formar uma dupla sertaneja.....

Sinto muito orgulho de ser sua amiga.

A minha família que sempre esteve presente. A minha mãe, Elizabete, pela dedicação, ao meu irmão, César, pelo carinho. À tia Zilda, pelo apoio. A todos os outros, pela torcida incansável.

Ao meu namorado, Alexandre, pela ajuda com as ilustrações. E, sobretudo, pelo carinho e pelo cuidado. Você tornou mais leve os dias....

À Deus, por toda gentileza!

RESUMO

Apesar da diversidade e importância os moluscos terrestres têm sido pouco estudados, principalmente as espécies da malacofauna brasileira como é o caso de *Bulimulus tenuissimus*. Assim, objetivou-se com esse trabalho descrever a história de vida dessa espécie, através da avaliação do crescimento, reprodução e longevidade. Avaliou-se também a influência do isolamento sobre esses aspectos e a variação dos recursos energéticos em diferentes fases da vida, e nas diferentes estações do ano. Para tanto, foi realizado o acompanhamento do ciclo biológico de 240 moluscos, dos quais 120 foram mantidos em grupos e 120 foram mantidos em isolamento durante todo o ciclo de vida. *Bulimulus tenuissimus* apresentou grande plasticidade na forma de alocação de energia entre crescimento, reprodução e sobrevivência de acordo com a forma de criação, sendo a reprodução e longevidade maior para os animais mantidos em grupos, enquanto o crescimento foi mais acentuado nos isolados. Essa diferenciação no investimento energético levou a padrões de história de vida distintos nos dois grupos. Os moluscos de diferentes idades apresentam formas diferenciadas para alocação dos polissacarídeos avaliados, sendo a variação provavelmente relacionada ao estado reprodutivo dos moluscos. Além disso, constatou-se também que as reservas energéticas dos músculos são disponibilizadas e degradadas tanto na fase Adulta quanto na fase Senescente. O conteúdo de carboidratos variou de acordo com a idade, sendo a tal variação provavelmente relacionada ao estado reprodutivo dos animais. Também houve variação sazonal do conteúdo de glicogênio e galactogênio, os quais são coincidentes com o ciclo reprodutivo de *B. tenuissimus*, evidenciando-se que a sazonalidade reprodutiva parece ser controlada por fatores metabólicos.

Palavras-Chave: Crescimento. Investimento energético. Molusco terrestre. Reprodução.

ABSTRACT

LIFE HISTORY OF *Bulimulus tenuissimus* (D 'Orbigny, 1835) (MOLLUSCA, Bulimulidae): CHANGES ON THE ENERGETIC CONTENT ACORDING TO AGE AND SEASONALITY

There are few studies about land snails despite their importance and diversity, especially native species, such as *Bulimulus tenuissimus*. Thus, the objectives of this study were to describe the life history of this species evaluating the growth, reproduction and longevity. The influence of the isolation on these aspects, the change of energy resources in different ages and in different seasons were evaluated. For this purpose, there was monitoring the biological cycle of 240 snails, of which 120 were kept in groups and 120 were kept isolated during their lifetime. *Bulimulus tenuissimus* showed plasticity in the allocation of energy between growth, reproduction and survival. Growth of isolated snails was higher fecundity and longevity than the animals kept in isolation. However, the growth was high in isolation. Thus, the differential energetic investment has lead to distinct patterns of life history. The age influenced the allocation de glycogen and galactogen. However, there was not reduction of glycogen content in the digestive gland. It is suggest that the energy used in reproduction is acquired from food ingestion. There were seasonal changes on the contents these polysaccharides, which are coincident with the reproductive cycle of *B. tenuissimus*. This result showed that the reproductive seasonality of this species would be controlled by metabolic factors.

Key-Words: Energetic allocation. Growth. Land snail. Reproduction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fotografia 1 *Bulimulus tenuissimus* a: Enterrando-se no substrato do terrário; b: deslocando-se na parede e no substrato do terrário; c: Interação entre indivíduos no terrário de criação; d: Detalhe da coloração do corpo..... 4
- Fotografia 2 a: Eletromicrografia de varredura da concha de *Bulimulus tenuissimus* adulto; b: Concha de um indivíduo adulto; c: Eletromicrografia de varredura da concha de um indivíduo jovem; d: Concha de um indivíduo jovem; e: Eletromicrografia de varredura da protoconcha; f: Detalhe da ornamentação da protoconcha.
..... 5
- Fotografia 3 *Bulimulus tenuissimus* a: Vista do animal; b: Vista da concha15
- Fotografia 4 a: Terrários grande e pequeno utilizados para criação dos moluscos da espécie *Bulimulus tenuissimus*; b: Indivíduos se alimentando; c: Posturas parcialmente desenterradas; e: Medição do comprimento da concha.19
- Gráfico 5 Duração das fases da vida (Jovem, Adulta e Senescente) de *Bulimulus tenuissimus* mantidos em condições de agrupamento e isolamento, desde o nascimento.....20
- Gráfico 6 Número mensal de posturas realizadas por *Bulimulus tenuissimus* Agrupados, desde o nascimento, temperatura média (° C) e umidade relativa do ar média (%) no período de agosto de 2005 a janeiro de 2008.....22
- Gráfico 7 Crescimento médio de *Bulimulus tenuissimus* mantidos em condições de agrupamento e isolamento desde o nascimento (setas indicam idade média na primeira postura dos moluscos, Agrupados e Isolados).....24
- Gráfico 8 Taxa de crescimento (mm/dia) de *Bulimulus tenuissimus* Agrupados e Isolados, durante o ciclo de vida (setas indicam idade média na primeira postura dos moluscos, Agrupados e Isolados).....24

Gráfico 9 Concha de <i>Bulimulus tenuissimus</i> a: Jovem; b: Adulto; c: Senescente.....	25
Gráfico 10 Comprimento da concha de <i>Bulimulus tenuissimus</i> mantidos em condição de agrupamento e isolamento em três diferentes fases do desenvolvimento (I – Tamanho da concha no primeiro dia de vida, II – Tamanho da concha na primeira postura e III – tamanho da concha no último dia de vida.....	25
Gráfico 11 Relação entre número médio de ovos produzidos e comprimento da concha (mm) dos indivíduos de <i>Bulimulus tenuissimus</i> , mantidos em condição de isolamento, desde o nascimento.	26
Gráfico 12 Percentual de mortalidade de <i>Bulimulus tenuissimus</i> , mantidos sob condição de agrupamento e isolamento, ao longo do ciclo de vida.....	27
Gráfico 13 Percentual de mortalidade de <i>Bulimulus tenuissimus</i> mantidos sob condições de agrupamento e isolamento, nas fases Jovem, Adulta e Senescente.....	28
Fotografia 14 <i>Bulimulus tenuissimus</i> sem a concha, com detalhe da glândula digestiva (GD) e massa cefalopediosa (MC); b: Sistema reprodutor, com detalhes da Porção Masculina (PM), Porção Feminina (PF) e Porção Hermafrodita (PH); c: Detalhe da glândula digestiva (GD) e glândula de albúmen (GA).....	43
Gráfico 15 Concentração de glicogênio expressa em mg de glicose/g de tecido, peso fresco, na glândula digestiva e massa cefalopediosa de <i>Bulimulus tenuissimus</i> jovens, adultos e senescentes.	45
Gráfico 16 Concentração de galactogênio na glândula de albúmen de <i>Bulimulus tenuissimus</i> jovens, adultos e senescentes.	46
Fotografia 17 Cromatografia em papel dos polissacarídeos – Glicose (Gli) e Galactose (Gal) - extraídos dos tecidos da glândula digestiva (GD) e glândula de albúmen (GA) de <i>Bulimulus tenuissimus</i>	47

Gráfico 18	Concentração de glicogênio nos tecidos da glândula digestiva e massa cefalopodal de moluscos adultos da espécie <i>Bulimulus tenuissimus</i> na Primavera, Verão, Outono e Inverno.	59
Gráfico 19	Concentração de galactose na glândula de albúmen de <i>Bulimulus tenuissimus</i> na Primavera, Verão, Outono e Inverno.....	60

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Fecundidade de *Bulimulus tenuissimus* mantidos Agrupados e Isolados durante o ciclo de vida (valores totais de ovos, mínimo, máximo, média/postura \pm desvio padrão e média/molusco \pm desvio padrão).....21
- Tabela 2 - Peso fresco (em miligramas) dos tecidos da glândula digestiva, glândula de albúmen e massa cefalopodal de moluscos da espécie *Bulimulus tenuissimus*, coletados nas fases jovem, adulta e senescente.....44
- Tabela 3 - Peso (g) dos tecidos da glândula digestiva, glândula de albúmen e massa cefalopodal de moluscos da espécie *Bulimulus tenuissimus* coletados nas estações do ano (com valores médio e desvio Padrão).....59

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
REVISÃO DE LITERATURA.....	16
CAPÍTULO I - HISTÓRIA DE VIDA DE <i>BULIMULUS TENUISSIMUS</i> (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, BULIMULIDAE) EM LABORATÓRIO.....	26
CAPÍTULO II - VARIAÇÃO DAS RESERVAS ENERGÉTICAS EM <i>BULIMULUS</i> <i>TENUISSIMUS</i> (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, BULIMULIDAE) DE ACORDO IDADE.....	51
CAPÍTULO III - VARIAÇÃO SAZONAL DAS RESERVAS ENERGÉTICAS EM <i>BULIMULUS TENUISSIMUS</i> (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, BULIMULIDAE)	67
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
ANEXOS.....	97

Introdução

O filo Mollusca apresenta-se como o terceiro maior grupo de animais em diversidade de espécies as quais podem ser encontradas em todos os ambientes (HYMAN, 1969; SOUTH, 1992). No ambiente terrestre ocupam principalmente áreas de florestas e bosques, sendo encontradas preferencialmente em locais com alta umidade (SIMONE, 1999; 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 perdas 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).

Os moluscos terrestres apresentam importância em várias áreas, podendo ser utilizados na alimentação, e atuar como hospedeiros de parasitos do homem e de animais domésticos, além de serem pragas de vegetais cultivados (BARROS-ARAÚJO, 1982; LEAHY, 1984; AGUDO, 2006). São importantes agentes de reciclagem de nutrientes nos ecossistemas, fontes de substâncias medicinais, e ainda podem atuar como controladores biológicos de outras pragas (SIMONE, 1999).

Apesar da diversidade e importância do grupo, os moluscos terrestres têm sido proporcionalmente pouco estudados, principalmente as espécies da malacofauna brasileira como é o caso de *Bulimulus tenuissimus* (d'Orbigny, 1835) (THOMÉ *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2008). Estima-se que haja aproximadamente 580 espécies de gastrópodes terrestres no Brasil, sendo muitas dessas praticamente desconhecidas em termos de biologia e ecologia (SIMONE, 1999; THOMÉ *et al.*, 2006).

Existe atualmente o risco eminente da extinção de espécies da malacofauna nativa, devido principalmente, à degradação de habitat e a introdução de espécies exóticas (REYES-TUR & RAMIRES-ÁLVAREZ, 2002; TELES & FONTES, 2002; FISCHER & COLLEY, 2005). Isso evidencia a necessidade de estudos sobre a biologia desses animais que visem auxiliar o manejo e conservação de espécies (BIDART *et al.*, 1998).

Bulimulus tenuissimus é uma espécie que merece destaque devido ao seu potencial parasitológico e sua atuação como praga agrícola (BARROS-ARAÚJO, 1982; THIENGO & AMATO, 1995; AGUDO, 2006). Para essa espécie foram realizados alguns trabalhos, os quais focaram principalmente aspectos histo-anatômicos e biológicos (BARROS-ARAÚJO *et al.*, 1960; REZENDE & LANZIERI, 1964; MEIRELES *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2008), sendo ainda necessários estudos que visem elucidar os traços de sua história de vida.

Desse modo, foi objetivo desse trabalho caracterizar a história de vida de *B. tenuissimus*, através de parâmetros reprodutivos, de crescimento e longevidade, bem como o efeito do isolamento sobre tais parâmetros. Paralelamente, foi avaliada a variação nos substratos energéticos representados pelo glicogênio e pelo galactogênio de acordo com a idade e sazonalidade.

REVISÃO DE LITERATURA

1. A espécie *Bulimulus tenuissimus* (d'Orbigny, 1835)

Bulimulus tenuissimus (Fotografia 1a, 1b, 1c e 1d) é um gastrópode terrestre representante da família Bulimulidae, a qual compreende aproximadamente 144 gêneros e subgêneros, o que a torna uma das maiores e mais diversas dentre os pulmonados terrestres (BREURE, 1979).

Os moluscos dessa família apresentam ampla distribuição geográfica, com grande representatividade de espécies na América do Sul. Ainda podem ser encontrados na Nova Zelândia, Melanésia, Austrália, Antilhas, México e Estados Unidos, (BREURE, 1979). No Brasil, os bulimúlídeos, dentre os quais *B. tenuissimus*, são amplamente distribuídos, podendo ser encontrados em todas as regiões do país (LANGE DE MORRETES, 1949; SIMONE, 2006).

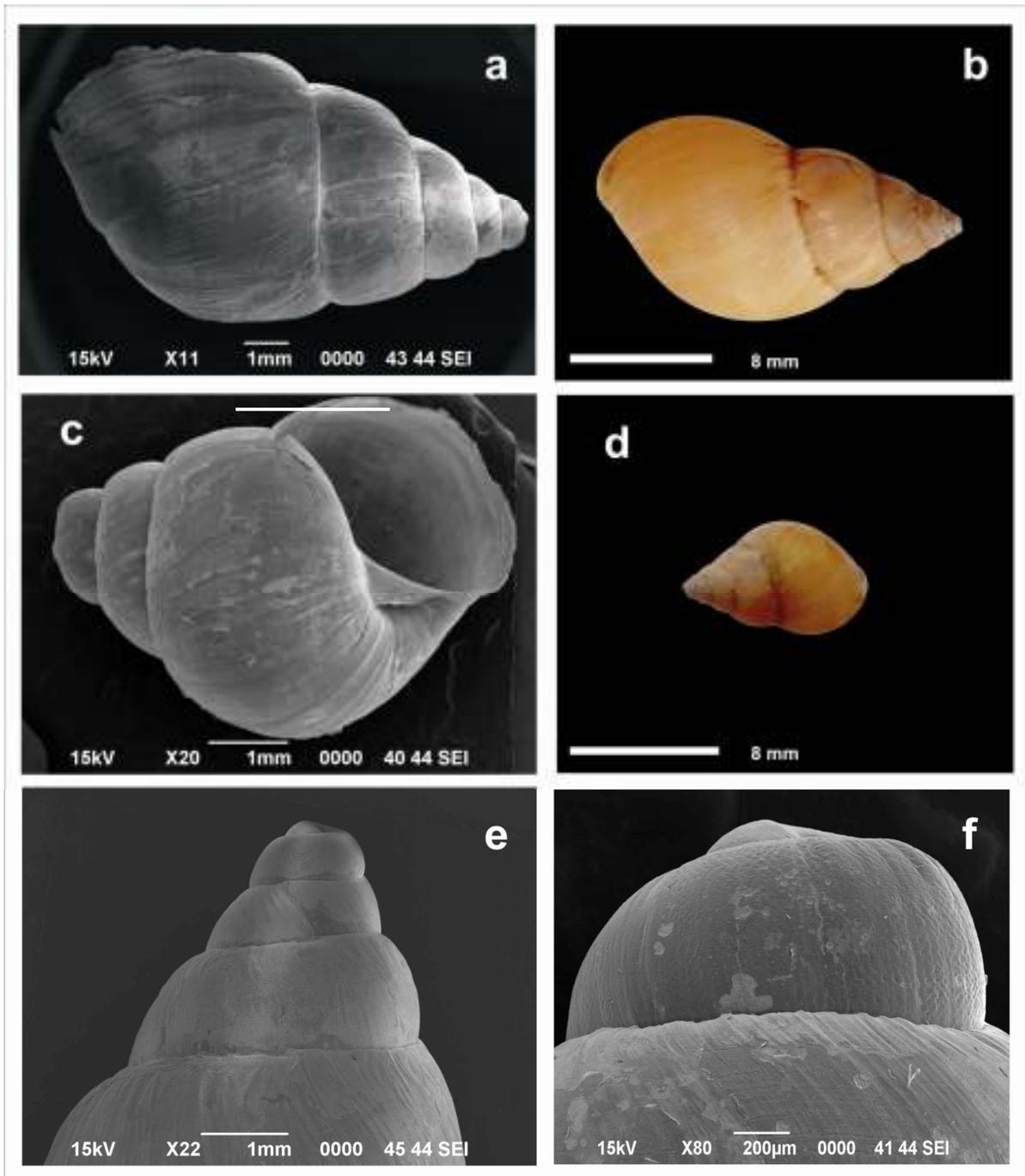
Os moluscos da espécie *B. tenuissimus* possuem concha ovalada, medindo de 12 a 20 mm de comprimento com cinco a seis voltas (Fotografia 2a, 2b, 2c e 2d). A protoconcha é ornamentada em zigue-zague na primeira volta da espira até a metade da segunda (BARROS - ARAÚJO *et al.*, 1960) (Fotografia 2e, 2f). Em laboratório os animais podem alcançar até 27 mm de comprimento (SILVA *et al.*, 2008).

Bulimulus tenuissimus apresenta grande potencial parasitológico, sendo verificadas infecções naturais por *Davainea proglottina* (Davaine, 1860), *Tanaisia bragai* (Santos, 1934), *Postharmostomum gallinum* (Winteborg, 1923), *Raillietina bonini* (Mégrin, 1889) e *Brachylaemus mazzantti* (Travassos, 1927), os quais são helmintos parasitos de aves de

importância econômica e de aves silvestres (BARROS-ARAÚJO, 1982; THIENGO & AMATO, 1995).



Fotografia 1 - *Bulimulus tenuissimus* a: Enterrando-se no substrato do terrário; b: deslocando-se na parede e no substrato do terrário; c: Interação entre indivíduos no terrário de criação; d: Detalhe da coloração do corpo (— = 8 mm).



Fotografia 2 – a: Eletromicrografia de varredura da concha de *Bulimulus tenuissimus* adulto; b: Concha de um indivíduo adulto; c: Eletromicrografia de varredura da concha de um indivíduo jovem; d: Concha de um indivíduo jovem; e: Eletromicrografia de varredura da protoconcha; f: Detalhe da ornamentação da protoconcha.

Fotos: Lidiane Silva

Eletromicrografias de varredura realizadas no Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A caracterização do sistema reprodutor foi realizada por BARROS-ARAÚJO *et al.* (1960) e complementarmente, foram realizados estudos histológicos, principalmente do trato reprodutor masculino, por REZENDE & LANZIERI (1964).

Trata-se de uma espécie ovípara e hermafrodita (BARROS-ARAÚJO *et al.*, 1960) capaz de realizar autofecundação em laboratório (SILVA *et al.*, 2008). A eclosão de jovens ocorre em média 24 dias após a oviposição e a taxa de eclosão é baixa (SILVA *et al.*, 2008). Essas autoras sugeriram que *B. tenuissimus* apresenta sazonalidade reprodutiva.

Bulimulus tenuissimus apresenta padrão indeterminado de crescimento (SILVA *et al.*, 2008), existindo uma relação entre tamanho corporal e fecundidade nessa espécie (MEIRELES *et al.*, 2007).

MEIRELES *et al.* (2008) observaram que a alimentação exerce influência direta sobre o ciclo de vida dessa espécie. Além disso, essas autoras demonstraram que os indivíduos de *B. tenuissimus* criados em isolamento, independente da alimentação oferecida, atingiram um tamanho corporal maior, o que sugere que a densidade populacional pode afetar a biologia da espécie.

2. Ciclo de Vida de moluscos terrestres

Moluscos terrestres em geral são ovíparos, contudo, algumas espécies podem reter ovos no interior do trato reprodutivo, sendo denominados ovovivíparos ou vivíparos de acordo com o estágio em que os embriões são liberados (TOMPA, 1979). Algumas espécies apresentaram variação quanto ao estágio de liberação da prole, podendo liberar ovos, embriões ou jovens. Essa variação muitas vezes é decorrente das condições do ambiente, e pode ser considerada uma estratégia para garantir maior sobrevivência dos jovens. Dentre os fatores que provocam alteração na liberação da prole destacam-se as condições ambientais, densidade populacional e da presença de predadores, entre outros (HYMAN, 1969; BAUR, 1994; HELLER, 2001).

Os pulmonados terrestres são hermafroditas, sendo a fertilização cruzada mais freqüente nesses animais (HELLER, 1993). Freqüentemente a corte e cópula são recíprocas, com ambos os parceiros atuando como macho e fêmea simultaneamente (HELLER, 2001).

Todavia, em muitas espécies observa-se a reprodução por autofecundação. A ocorrência desse processo varia entre as espécies, sendo regular em algumas e rara ou ausente em outras (BESSA & ARAÚJO, 1995; ALMEIDA & BESSA, 2001 a,b; SILVA *et al.*, 2008). A autofertilização muitas vezes é dificultada por mecanismos morfológicos e fisiológicos de modo a garantir a variação genética das populações (SELANDER & KAUFMAN, 1973; LEAHY,

1984; HELLER, 1993). Contudo, a capacidade de se auto-fertilizar é uma característica importante na história de vida desses animais, já que muitas vezes pode garantir a sobrevivência desses animais e a re-colonização do ambiente em caso de declínio populacional (HELLER, 2001).

Aspectos da reprodução como período reprodutivo, fecundidade e estratégia reprodutiva podem variar entre as espécies e mesmo entre populações da mesma espécie submetidas a condições ambientais ou de densidade populacional distintas (COWIE, 1984; STAIKOU, 1998; ALMEIDA & BESSA, 2000; KISS *et al.*, 2005).

A oviposição pode ser anual, bianual ou contínuo durante o ano, sendo muitas vezes diretamente relacionados às condições ambientais. Comumente verifica-se em moluscos terrestres tropicais o contínuo desenvolvimento do aparelho reprodutivo, bem como a contínua produção de gametas durante o ano, embora a oviposição possa ser sazonal. Fatores como temperatura e período de chuvas podem antecipar ou retardar a maturação desses animais (DUNCAN, 1975).

Além do período reprodutivo, a fecundidade de moluscos terrestres também é influenciada por fatores como temperatura (SOUTH, 1992), umidade (D'ÁVILA & BESSA, 2005; DIAS *et al.*, 2007), fotoperíodo (HOMMAY *et al.*, 2001), altitude (BAUR & BAUR, 1988; HAUSDORF, 2003), estrutura do substrato (D'ÁVILA & BESSA, 2005; JUNQUEIRA *et al.* 2008) e localização geográfica da espécie (STAIKOU, 1998; HELLER, 2001).

Para a espécie *Deroceras caucasicum* (Simroth, 1901), *Deroceras reticulatum* e *Arion intermedius* Normand, 1852 (Müller, 1774) foi verificado que o tempo de incubação, bem como a viabilidade dos embriões (SOUTH, 1992). Além disso, segundo esse autor a temperatura ótima varia de acordo com a espécie.

Para a espécie *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821), por exemplo, observa-se oviposição durante todo o ano, porém a fecundidade foi mais expressiva nos períodos de maior temperatura e pluviosidade (LEAHY, 1984; ALMEIDA & BESSA, 2001a). Para essa espécie verificou-se a interferência da qualidade do substrato sobre parâmetros reprodutivos e de crescimento (JUNQUEIRA *et al.*, 2008). Possivelmente a capacidade de retenção de água dos substratos foi o fator decisivo para o diferente desempenho dos moluscos, conforme o verificado para *Subulina octona* (Brugüière, 1789) em estudo similar (D'ÁVILA & BESSA, 2005).

A umidade do substrato é um fator limitante para a sobrevivência e a reprodução de moluscos terrestres (COOK, 2001). Condições favoráveis de umidade são fundamentais para o bom funcionamento de processos como a frequência cardíaca e espermiogênese, assim como

o período de atividade, alimentação, deslocamento, produção de ovos e desenvolvimento embrionário (LEAHY, 1980, 1984; COOK, 2001; FURTADO *et al.*, 2004).

Moluscos terrestres perdem água pelo tegumento e, do mesmo modo, se reidratam pelo tegumento através da reidratação por contato. A perda de água sem posterior reidratação pode levar a alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais, como a modificação do ritmo cardíaco, locomoção e alimentação, com implicações diretas na taxa de crescimento, produtividade e sobrevivência dos animais (HODASI, 1979; COOK, 2001).

O fotoperíodo é outro fator que exerce influência direta na biologia de moluscos terrestres, visto que interfere diretamente nos processos metabólicos que culminam na reprodução (HOMMAY *et al.*, 2001; GARCIA & PINHEIRO, 2007).

Assim, as variações de temperatura, umidade e comprimento do dia que ocorrem durante o ano, podem, portanto, regular as taxas de crescimento e o ciclo reprodutivo de moluscos terrestres principalmente por atuarem como regulares no processo de conversão de reservas energéticas e no controle hormonal (WAYNE, 2001; ALON *et al.*, 2007).

Populações do molusco terrestre *Theba pisana* (Müller, 1774) que habitam regiões geográficas diferentes apresentaram variação quanto à estratégia reprodutiva, observando-se ciclo reprodutivo anual, seguido da morte dos moluscos (semelparidade) e ciclo bianual (iteroparidade) (COWIE, 1984). O autor relaciona a plasticidade do ciclo reprodutivo dessa espécie às condições climáticas, o que mostra a capacidade de adaptação da espécie.

Em *Megalobulimus abbreviatus* (Bequaert, 1948) observou-se que o ciclo reprodutivo ocorre na primavera. Nessa espécie foi verificada a preparação do sistema reprodutivo no final do inverno, sendo na primavera o principal período de gametogênese (HORN *et al.*, 2005). Segundo essas autoras, o aumento do comprimento do dia e da temperatura verificados nesse período são fatores que estimularam a reprodução dos moluscos.

De acordo com ZANCAN & ACHAVAL (1995), no fim do inverno e primavera, as células dos corpos dorsais do gastrópode *Megalobulimus oblongus* (Müller, 1774) atingem a capacidade máxima de secreção. Tais células são responsáveis pela produção dos hormônios gonadotróficos que por sua vez controlam o processo de gametogênese.

O gastrópode terrestre tropical *Ovachlamys fulgens* (Gude, 1900) apresenta ciclo de vida anual, com liberação de ovos na estação de chuvas (BARRIENTOS, 1998). Segundo o autor, a liberação de ovos durante o período chuvoso pode ser uma característica de espécies de gastrópodes terrestres tropicais, visto a dependência da umidade para desenvolvimento dos embriões. Outras espécies tropicais como *Polymita muscarum* (Lea, 1834) e *Polymita venusta* (Gmelin, 1792) também apresentaram ciclo reprodutivo anual (BIDART, *et al.*, 1998).

A duração do ciclo de vida também pode variar entre os gastrópodes terrestres. Espécies tropicais, frequentemente, apresentam ciclos de vida curtos, sendo a longevidade, muitas vezes, relacionada ao tamanho do corpo do animal (JOHNSON & BLACK, 1991). De acordo com esses autores, espécies de pequeno tamanho corporal tendem a ter um ciclo reprodutivo curto com duração de um a dois anos. Já espécies maiores, como *Achatina fulica* Bowdich 1822, apresentam tempo de vida superior a três anos.

Segundo HELLER (2001), os pulmonados terrestres podem ser classificados em duas categorias: aqueles com tempo de vida curto, que se reproduzem durante uma única estação podendo viver por até dois anos, e aqueles com tempo de vida longo, que vivem por mais de dois anos e se reproduzem por ao menos duas estações. Todavia, as observações relatadas por este autor se referem em grande parte a moluscos de climas temperados e ainda não há uma clara resolução sobre os contextos de história de vida que favorecem estratégias com curto ou longo tempo de vida, especialmente para as espécies de clima tropical.

3. Investimento energético na reprodução

A atividade reprodutiva de moluscos, desde a busca por parceiros até a oviposição, é dependente do sucesso de vários processos metabólicos energeticamente dispendiosos, entre os quais estão incluídos elaborados comportamentos de corte, oogênese, produção de vitelo e calcificação do ovo. Assim, este processo requer uma alta atividade metabólica e alto investimento de energia (TOMPA, 1984). Os moluscos geralmente acumulam energia no período anterior à maturidade sexual, de modo a suprir os gastos energéticos da reprodução (STEARNS, 1989).

A maturação das gônadas e a produção de gametas estão entre os processos mais dispendiosos energeticamente (TOMPA, 1984; CHICON, 1999), sendo necessária, portanto, a mobilização das reservas energéticas previamente acumuladas (DA SILVA & ZANCAN, 1994). Todavia, poucos trabalhos relacionam a variação dos níveis de substratos energéticos ao processo reprodutivo de moluscos terrestres (DA SILVA & ZANCAN, 1994; PINHEIRO & GOMES, 1994; AZEVEDO *et al.*, 1996).

Diferentemente do investimento em crescimento, o investimento reprodutivo não retorna para o indivíduo parental, sendo seus benefícios verificados em termos de sucesso reprodutivo da prole produzida (RICKFLES, 2004). Porém, para que essa obtenha elevado sucesso reprodutivo, faz-se necessário alto investimento energético do parental. Assim, a quantidade de energia investida no processo reprodutivo presente torna-se um importante traço da história de vida, já que a forma como os recursos são distribuídos está diretamente

relacionada ao tempo de vida do animal (STEARNS, 1989; HELLER, 1990). Geralmente observa-se na natureza uma distribuição parcimoniosa da energia entre o crescimento somático, a reprodução e a longevidade das espécies, visando maior sucesso reprodutivo (STEARNS, 1989).

A forma e a proporção nas quais a energia é empregada, principalmente no processo reprodutivo, são fatores decisivos na história de vida de uma espécie. Diferentes espécies, ou populações da mesma espécie submetidas a diferentes condições podem apresentar estratégias diferentes de alocação dos recursos destinados à reprodução, levando a diferentes padrões de história de vida (BAUR & RABOUD, 1988; STAIKOU & LAZARIDOU-DIMITRIADOU, 1990; MADEC *et al.*, 2000; JORDAENS *et al.*, 2006). O gasto parcial ou total das reservas energéticas leva à diferenciação de duas estratégias reprodutivas distintas: a semelparidade e iteroparidade, respectivamente (HELLER, 1990; CLARK *et al.*, 1994; HELLER, 2001).

Dentre os substratos de reserva, os carboidratos representam a fonte de energia primária e imediata para o desempenho das funções vitais e manutenção da homeostase. Desse modo, as reservas de carboidratos são sensíveis a variações ao longo do ciclo de vida (WILLIAMS, 1970; STICKLE, 1975; CICHON, 1999; ROSA *et al.*, 2004).

Em moluscos, assim como nos demais animais, os carboidratos são acumulados sob a forma de glicogênio e galactogênio. O principal órgão de estocagem de glicogênio é a glândula digestiva, podendo haver reservas desse também nos tecidos musculares (PINHEIRO & GOMES, 1994). Esse polissacarídeo é utilizado para suprir as necessidades metabólicas do crescimento somático e gonadal, além de ser precursor de outros substratos energéticos (CLARK *et al.*, 1994).

O galactogênio, por outro lado, é restrito à glândula de albúmen (FANTIN & VIGO, 1969) e utilizado nas estações reprodutivas, principalmente na vitelogênese (STICKLE, 1975; GOUDSMIT, 1995). O vitelo é a fonte energética que garante a sobrevivência do embrião e dos jovens no período inicial da vida (LUBET *et al.* 1976; AZEVEDO *et al.*, 1996; DREON *et al.*, 2006).

Por estar diretamente relacionado ao processo reprodutivo, o conteúdo de galactogênio tende a variar de acordo com o ciclo reprodutivo do animal, sendo observadas altas concentrações desse no período anterior à liberação de ovos (AZEVEDO *et al.*, 1996; GOUDSMIT, 1995). Além disso, a síntese desse polissacarídeo está sob controle neuro-hormonal, sendo, portanto, susceptível a alterações ocasionadas pelas variações ambientais (VAN ELK & JOOSEE, 1981; GOUDSMIT, 1995; WAYNE, 2001).

Ainda são insipientes os trabalhos avaliarem a variação no conteúdo energético provocada pela reprodução em gastrópodes terrestres. Nas espécies *Helix aspersa* (Müller,

1774) (JOOSEE, 1988) e *M. oblongus* (DA SILVA & ZANCAN, 1994) verificou-se um processo de estocagem e mobilização do glicogênio de acordo com o ciclo reprodutivo anual. Para tais espécies o glicogênio foi estocado nas épocas de abundância de alimento e mobilizado para a gametogênese na estação reprodutiva do animal (DA SILVA & ZANCAN, 1994). Além disso, as variações sazonais de temperatura e fotoperíodo exercem efeitos diretos na síntese-conversão de glicogênio (MAY, 1932; AZEVEDO *et al.*, 1996; WAYNE, 2001)

DA SILVA & ZANCAN (1994) mostraram que os níveis de glicogênio do tecido muscular e do manto de *M. oblongus* apresentam-se constantes durante todo o ano, exceto no inverno. Na glândula digestiva, entretanto, os níveis deste substrato variaram consideravelmente apresentando maiores valores no outono e menores no inverno. Segundo as autoras, as baixas concentrações de glicogênio verificadas nos tecidos durante o inverno se devem à utilização deste durante a hibernação. Já a variação dos níveis deste substrato na glândula digestiva pode ainda ser relacionada, além do período de inatividade, ao ciclo reprodutivo anual verificado nessa espécie.

Em *H. aspersa* observou-se diminuição dos níveis de glicogênio na glândula digestiva no período de liberação de ovos (JOOSEE, 1988).

Diferentemente de moluscos terrestres, para moluscos bivalves e cefalópodes o investimento energético durante a maturação sexual e liberação dos ovos encontram-se melhor elucidado (BROKORDT & GUDERLEY, 2004; ROSA *et al.*, 2004).

No bivalve *Chlamys islandica* (Müller, 1776) observou-se acentuada mobilização de glicogênio do músculo adutor durante o desenvolvimento gonadal e desova, o que por sua vez leva à redução da atividade das enzimas glicogênio-fosforilase e octopina-desidrogenase. As autoras sugeriram que a redução da atividade enzimática deve-se à ausência de sítios de ligação, já que houve a mobilização do glicogênio (BROKORDT & GUDERLEY, 2004).

Para cefalópodes, a variação nos substratos energéticos em relação ao ciclo de vida e à sazonalidade, encontra-se atualmente mais esclarecidas do que para moluscos terrestres. Isso, por serem os cefalópodes de significativa importância econômica e também devido à estratégia de história de vida que apresentam (ROSA *et al.*, 2004). Por serem semélparos, o investimento reprodutivo nesses animais tende a ser mais evidente (CLARK *et al.*, 1994; ROSA *et al.*, 2005).

No cefalópode *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, houve significativo aumento na concentração de glicogênio nas gônadas durante a maturação sexual, enquanto houve diminuição acentuada da concentração desse na glândula digestiva. Porém, não foram estabelecidas evidências de direcionamento energético, de um órgão a outro, durante a maturação através da análise bioenergética total (CLARK *et al.*, 1994). Para *Octopus defilippi*

Verany, 1851, entretanto, não foi verificada alteração na concentração de glicogênio de animais jovens e adultos. Para ambas as espécies, não se verificou a mobilização desse polissacarídeo dos músculos para o trato reprodutivo (CLARK *et al.*, 1994).

Illex coindetii (Verany, 1837) e *Todaropsis eblanae* (Ball, 1841) registrou-se que o conteúdo energético das gônadas é grandemente afetado pela maturação sexual, principalmente nas fêmeas. Na glândula digestiva e tecido do manto, todavia, não foram observadas alterações consideráveis entre os sexos e entre indivíduos imaturos e adultos (ROSA *et al.*, 2005).

CAPÍTULO I

HISTÓRIA DE VIDA DE *Bulimulus tenuissimus* (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, BULIMULIDAE) EM LABORATÓRIO

RESUMO

Apesar da sua grande diversidade, as estratégias de história de vida de moluscos terrestres ainda são pouco estudadas, principalmente no que se refere a espécies da malacofauna nativa. Desse modo, objetivou-se com esse estudo conhecer a história de vida da espécie nativa *Bulimulus tenuissimus* com base em aspectos reprodutivos, de crescimento e sobrevivência, bem como verificar o efeito do isolamento sobre tais aspectos. Para tanto, foi realizado o acompanhamento do ciclo biológico de 240 moluscos, dos quais 120 foram mantidos em grupos (Agrupados) e 120 foram mantidos em isolamento (Isolados). Para ambos os tratamentos, foi determinada a duração das fases Jovem, Adulta e Senescente, e verificados o padrão de crescimento, a fecundidade ao longo do ciclo e em cada fase da vida, bem como a longevidade. Os animais foram mantidos em terrários plásticos, contendo terra vegetal esterilizada como substrato, vedados com tecido de algodão. A alimentação dos moluscos foi feita com ração para aves em crescimento, enriquecida com carbonato de cálcio. Durante todo o período de acompanhamento realizou-se o umedecimento dos terrários com água de torneira e reposta à alimentação. Observou-se que o isolamento ocasionou redução da fecundidade e da longevidade e prolongou a duração da fase Jovem. A sazonalidade reprodutiva da espécie foi confirmada e verificaram-se três ciclos reprodutivos durante a vida para Agrupados e um para Isolados, demonstrando a alteração da estratégia reprodutiva em condição de isolamento. *Bulimulus tenuissimus* apresentou grande plasticidade na forma de alocação de energia entre crescimento, reprodução e sobrevivência, de acordo com a condição de criação, o que pode ser um indício da capacidade de adaptação da espécie frente a adversidades no ambiente natural.

Palavras-Chave: crescimento, molusco terrestre, plasticidade, sazonalidade reprodutiva.

INTRODUÇÃO

Os moluscos constituem o terceiro maior grupo de animais em diversidade, sendo a classe Gastropoda a única a obter sucesso na invasão do ambiente terrestre. Apenas os Stylommatophora, dentre eles a espécie *Bulimulus tenuissimus* (d' Orbigny, 1835), vivem exclusivamente nesse tipo de ambiente em todas as fases do desenvolvimento (SIMONE, 2006).

Bulimulus tenuissimus (Fotografia 3) é uma espécie da malacofauna brasileira de importância econômica e parasitológica (THIENGO & AMATO, 1995; SIMONE, 1999), podendo atuar na transmissão de helmintoses para animais domésticos e como praga de vegetais cultivados (THIENGO & AMATO, 1995; AGUDO, 2006). Além disso, possui distribuição geográfica ampla (LANGE-DE-MORRETES, 1949; SIMONE, 2006), o que torna importante o conhecimento dos aspectos biológicos que possam vir a contribuir com estratégias de conservação ou controle dessa espécie.

Essa espécie apresenta é ovípara (BARROS-ARAÚJO *et al.*, 1960) e liberação sazonal de ovos (SILVA *et al.*, 2008). Apresenta padrão de crescimento indeterminado e é capaz de realizar autofecundação (SILVA *et al.*, 2008).

De maneira geral, assim como para *B. tenuissimus*, trabalhos que enfatizem aspectos reprodutivos e de crescimento, visando o esclarecimento da história de vida de moluscos terrestres tropicais e principalmente espécies nativas são escassos na literatura (BARRIENTOS, 1998; BIDART *et al.*, 1998; ALMEIDA & BESSA, 2001; JOHNSON & BLACK, 2001; CARVALHO *et al.*, 2008).

O estudo dos parâmetros de crescimento, bem como os aspectos reprodutivos de uma determinada espécie é importante, pois pode esclarecer como essa distribui a energia ao longo do seu ciclo de vida (HELLER, 2001). A forma como ocorre a distribuição de recursos implica diretamente no tempo de vida. Assim, a exaustão das reservas devido a altas taxas de crescimento e o alto esforço reprodutivo podem levar à morte do animal (STEARNS, 1989).

Desse modo, foi objetivo desse estudo caracterizar a história de vida de *B. tenuissimus* com base em aspectos do crescimento, reprodução e longevidade, bem como verificar alterações provocadas pelo isolamento sobre esses parâmetros.



Fotografia 3. *Bulimulus tenuissimus* a: Vista do animal; b: Vista da concha.

Fotos: Lidiane Silva

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção dos animais, local e período dos experimentos

Os moluscos utilizados nesse estudo foram obtidos de uma criação matriz existente no Laboratório de Biologia de Moluscos do Museu de Malacologia Prof. Maury Pinto de Oliveira, da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, (21°45'13"/21°46'13"S e 43°21'19"/43°22'15"W). Os experimentos foram realizados no Laboratório de biologia de Moluscos do referido museu entre os meses de maio de 2005 a fevereiro de 2008.

Alguns espécimes foram dissecados para a confirmação do táxon e depositados no Museu de Malacologia Prof. Maury Pinto de Oliveira (registro: MM 3688).

2.2. Acondicionamento dos moluscos

Os animais foram acondicionados em terrários plásticos grandes (14 cm de diâmetro e 9 cm de profundidade) ou pequenos (9 cm de diâmetro e 6 cm de profundidade) (Fotografia 4a), vedados com tecido de algodão (voal) e elástico de escritório. Cada terrário continha como substrato 3 cm de terra vegetal esterilizada (120° C/1 hora), umedecida com aproximadamente 10 ml de água de torneira.

Os moluscos foram alimentados com uma mistura de ração para aves enriquecida com carbonato de cálcio (na proporção 3:1) (OLIVEIRA *et al.*, 1968; BESSA & ARAÚJO, 1995). A mesma foi fornecida em recipientes plásticos de 3 cm de diâmetro para evitar contato com o substrato (Fotografia 4b). Em dias alternados fez-se a reposição do alimento, bem como o umedecimento do substrato.

2.3. Condições de temperatura e fotoperíodo

O estudo foi conduzido em condições naturais de temperatura e umidade relativa do ar, as quais foram anotadas diariamente (Termômetro máxima-mínima e Higrômetro seco-úmido) (Inconterm® Indústria de Termômetro Ltda).

2.4. Reprodução

2.4.1. Duração das fases de vida

A atividade reprodutiva foi o critério estabelecido para delimitação das fases Jovem e Adulta e entre Adulta e Senescente. Assim, a fase Jovem correspondeu ao período entre o nascimento e o momento da realização da primeira postura, a fase Adulta, o período entre a primeira e a última postura, e a fase Senescente, o período entre a última postura e a morte dos moluscos.

2.4.2. Atividade Reprodutiva e Fecundidade

Para avaliar os parâmetros reprodutivos 120 moluscos da espécie *B. tenuissimus* foram mantidos em terrários grandes, distribuídos em grupos de 10 indivíduos em cada terrário (Agrupados), desde a eclosão até a morte dos animais.

Registraram-se para esse tratamento o tempo para início da atividade reprodutiva, a fecundidade, expressa pelo número total e médio de posturas e ovos, e o número médio de ovos por molusco. O início da atividade reprodutiva foi verificado através de observações diárias da presença de posturas no terrário.

2.4.3. Taxa de eclosão e sazonalidade reprodutiva

Todos os ovos encontrados nos terrários foram retiradas, quantificadas e transferidas para novos terrários identificados de modo a estabelecer a taxa de eclosão (Fotografia 4c).

A ocorrência de sazonalidade reprodutiva foi avaliada através de cálculo da fecundidade mensal (número de posturas e de ovos/ mês) de modo a estabelecer o período do ano no qual ocorre concentração da atividade reprodutiva.

Avaliou-se também o número de ciclos reprodutivos durante a vida, bem como alterações na fecundidade e na eclodibilidade durante o ciclo de vida.

2.5. Crescimento

A intervalos de 15 dias, a partir do primeiro dia do experimento, foram registradas medidas do comprimento da concha utilizando um paquímetro Kanon (Mardened Stainless 1/28 in 1/20 mm), de modo a verificar o crescimento médio dos indivíduos nos primeiros 180 dias (Fotografia 4d). Após esse período os animais passaram a ser medidos mensalmente até o final do experimento.

Avaliou-se a variação na taxa de crescimento (mm/dia) dos animais durante o ciclo de vida e em cada fase da vida.

O comprimento da concha também foi registrado no início da atividade reprodutiva e no dia da morte dos moluscos.

2.6. Fecundidade *versus* tamanho corporal

Para avaliar a existência de relação entre o tamanho do corpo e a fecundidade foi realizada uma correlação entre o número de ovos produzidos/molusco e o tamanho do animal no momento da liberação desses ovos.

2.7. Longevidade

A longevidade da espécie foi determinada através da constatação da morte através observações diárias dos terrários. Foram avaliadas a taxa de mortalidade mensal ao longo do ciclo e em cada fase da vida.

2.8. Efeito do isolamento sobre a reprodução, crescimento e longevidade

Para determinar o efeito do isolamento sobre a reprodução, crescimento e longevidade de *B. tenuissimus*, 120 moluscos foram mantidos isolados em terrários plásticos pequenos até a morte dos animais (Isolados).

Para esse tratamento também foi feita a delimitação das fases da vida, seguindo mesmos critérios adotados para Agrupado, e avaliados os mesmos parâmetros reprodutivos, de crescimento e longevidade.

2.9. Análise Estatística

Para comparação dos parâmetros de crescimento, reprodutivos e mortalidade dos moluscos mantidos Agrupados e Isolados, utilizou-se o teste de Mann-Whitney. O teste de Regressão Linear Simples foi utilizado para correlacionar o tamanho corpóreo e fecundidade dos animais. Para todos os testes adotou-se o nível de significância de 0,05.



Fotografia 4. a: Terrários grande e pequeno utilizados para criação dos moluscos da espécie *Bulimulus tenuissimus*; b: Indivíduos se alimentando; c: Posturas parcialmente desenterradas; e: Medição do comprimento da concha.

RESULTADOS

Reprodução

3.1. Duração de cada fase do desenvolvimento de *Bulimulus tenuissimus*

A duração de cada fase variou entre Agrupados e Isolados. O Gráfico 5 demonstra a duração média de cada uma das fases.

A duração da fase Jovem de Agrupados foi de 160,20 dias \pm 103,60. Já para os Isolados a duração dessa fase foi significativamente maior, 474,30 dias \pm 56 ($Z= 4,37$; $p= 0,0001$), o que evidencia que o isolamento causou aumento do tempo para início da oviposição (Gráfico 5).

Do mesmo modo, houve diferença significativa entre a duração da fase Adulta dos tratamentos. Porém, nesse caso, a duração da fase Adulta de Agrupados foi maior ($Z= 3,27$; $p= 0,0011$). A duração média da fase Senescente também foi estatisticamente maior para os moluscos mantidos em condição de agrupamento ($Z= 2,5$; $p= 0,01$) (Gráfico 5).

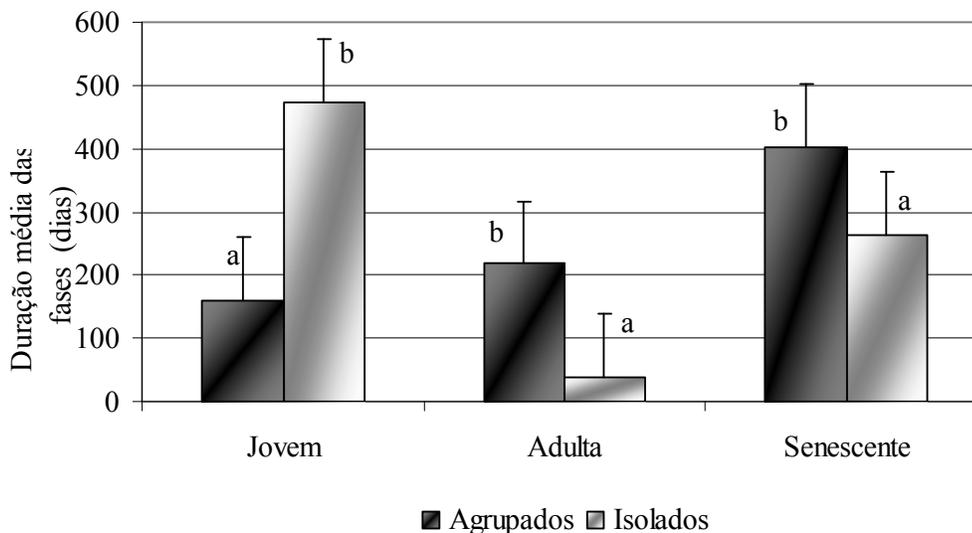


Gráfico 5 – Duração das fases da vida (Jovem, Adulta e Senescente) de *Bulimulus tenuissimus* mantidos em condições de agrupamento e isolamento, desde o nascimento.

* Médias seguidas de letras desiguais diferem significativamente de acordo com o teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

3.2. Atividade Reprodutiva

3.2.1. Fecundidade

A fecundidade de *B. tenuissimus* observada em ambos os tratamentos diferiu, sendo muito reduzida pelo isolamento ($Z= 3,40$; $p= 0,0001$). Pode-se observar na Tabela I a fecundidade para os dois tratamentos.

Tabela I – Fecundidade de *Bulimulus tenuissimus* mantidos Agrupados e Isolados durante o ciclo de vida (número total de ovos, mínimo, máximo, média/postura \pm desvio padrão e média/molusco \pm desvio padrão).

Tratamentos	Fecundidade				
	Total de Ovos	Mínimo	Máximo	Média ¹ /Postura \pm Desvio Padrão	Média ¹ /Molusco \pm Desvio Padrão
Agrupados	19.916	6	252	58,30a \pm 42,5	16,00a \pm 4
Isolados	1.294	1	53	14,7b \pm 12,76	9,00b \pm 6

1- Médias seguidas de letras desiguais diferem significativamente de acordo com o teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

3.2.2. Sazonalidade reprodutiva

A atividade reprodutiva da espécie concentrou-se nos meses correspondentes às estações de primavera/verão (Gráfico 6), sendo observados três ciclos reprodutivos durante a vida. Entretanto, observou-se produção de ovos, embora reduzida, em outros meses do ano.

A produção de ovos diferiu significativamente nos três ciclos reprodutivos ($H=13,12$; $p=0,002$ e $H=11,04$; $p=0,004$, para posturas e ovos, respectivamente). A fecundidade no terceiro ciclo reprodutivo foi estatisticamente menor que no segundo ($t=10,9$; $p=0,002$ e $t=10,5$; $p=0,002$, para posturas e ovos, respectivamente) e no primeiro ($t=12,95$; $p=0,004$ e $t=11,05$; $p=0,01$, para posturas e ovos, respectivamente). Entre o primeiro e segundo ciclos reprodutivos não foi estabelecida diferença entre o número de posturas ($t=2,03$; $p=0,65$) e o número de ovos produzidos ($t=0,55$; $p=0,9$).

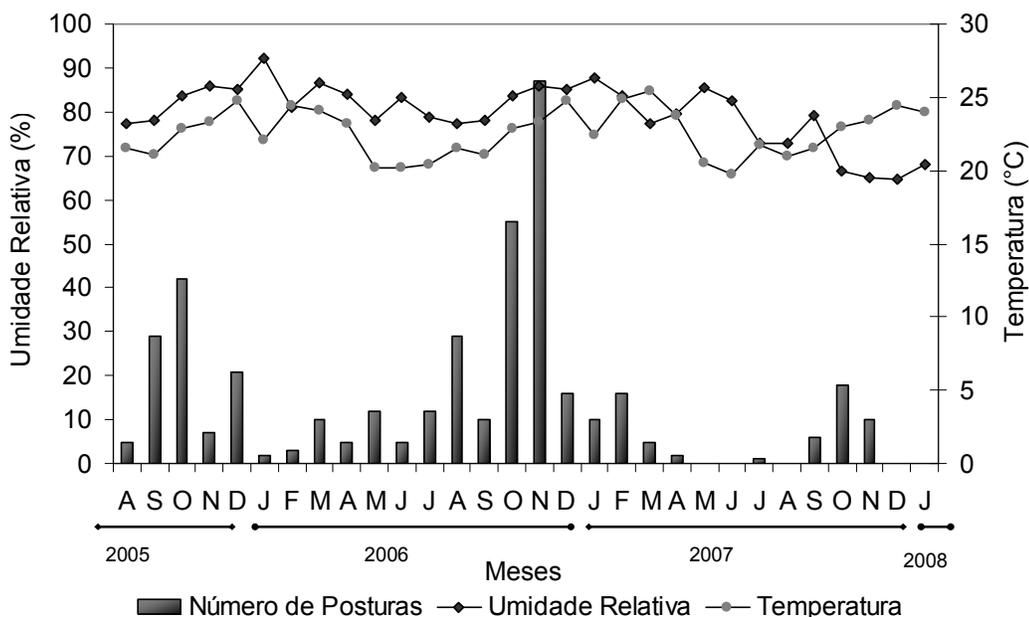


Gráfico 6 – Número mensal de posturas realizadas por *Bulimulus tenuissimus* Agrupados, desde o nascimento, temperatura média (° C) e umidade relativa do ar média (%) no período de agosto de 2005 a janeiro de 2008.

Os moluscos Isolados apresentaram apenas um ciclo reprodutivo, o qual ocorreu nos meses de primavera/verão (setembro a janeiro de 2006) conforme verificado para Agrupados demonstrando que o isolamento não influenciou o período reprodutivo, embora tenha causado efeitos negativos na fecundidade.

3.2.3. Taxa de eclosão

A taxa de eclosão para Agrupados foi de $53,00 \pm 18,00\%$, sendo esta significativamente maior que a dos Isolados ($Z=3,00$; $p=0,002$). Para esse último, a taxa de eclosão foi de $16,00 \pm 10,00\%$.

Para Agrupados, não se verificou diferença entre a taxa de eclosão dos três ciclos reprodutivos ($H= 6,00$; $p=0,05$). As taxas de eclosão foram $56,10 \pm 29,00\%$, $71,3 \pm 12,5\%$ e $58,2 \pm 35\%$ para o primeiro, segundo e terceiro ciclo, respectivamente. Fica evidente com esse resultado que, embora tenha sido consideravelmente reduzida a produção de ovos com a idade, não houve alterações na eclodibilidade destes.

Crescimento

3.4. Crescimento médio de *Bulimulus tenuissimus*

A espécie *B. tenuissimus* apresentou um padrão de crescimento indeterminado, com tendência à desaceleração deste, principalmente após o início da oviposição, para Agrupados e Isolados (Figura 1.3).

O tamanho médio dos indivíduos Agrupados no final do experimento foi de 22,8 mm \pm 0,3 (Gráficos 7 e 8) e a taxa de crescimento dos moluscos maior na fase Jovem (0,09 mm/dia). Nas fases Adulta e Senescente houve redução da taxa de crescimento sendo essas de 0,01 mm/dia e 0,005 mm/dia, respectivamente.

Os indivíduos Isolados atingiram tamanho corporal maior que Agrupados, apresentando 25,45mm \pm 1,56 no último dia de vida ($Z=2,20$; $p=0,03$). Porém, a taxa de crescimento dos moluscos em ambos os tratamentos, durante o ciclo de vida, não diferiu estatisticamente ($Z= 0,70$; $p=0,50$), demonstrando que a condição não interfere nesse parâmetro (Gráfico 7). O maior tamanho dos Isolados deve-se provavelmente ao maior investimento em crescimento obtido em um período de fase Jovem maior. As taxas de crescimento de Isolados foram 0,05 mm/dia, 0,006 mm/dia, 0,005 mm/dia, nas fases Jovem, Adulta e Senescente, respectivamente. A fotografia 9 mostra conchas de indivíduos de *B. tenuissimus* em cada fase da vida.

Todavia, houve diferença estatística no tamanho da concha de indivíduos Agrupados e Isolados no início da atividade reprodutiva ($Z=6,50$; $p=0,0001$) e ao final do ciclo de vida ($Z=2,17$; $p=0,03$) (Gráfico 10). No primeiro dia de vida o comprimento da concha dos moluscos não diferiu ($Z=0,51$; $p=0,61$). O maior comprimento da concha de Isolados nessas duas etapas da vida deve-se ao maior investimento em crescimento ocasionado pela maior duração da fase Jovem.

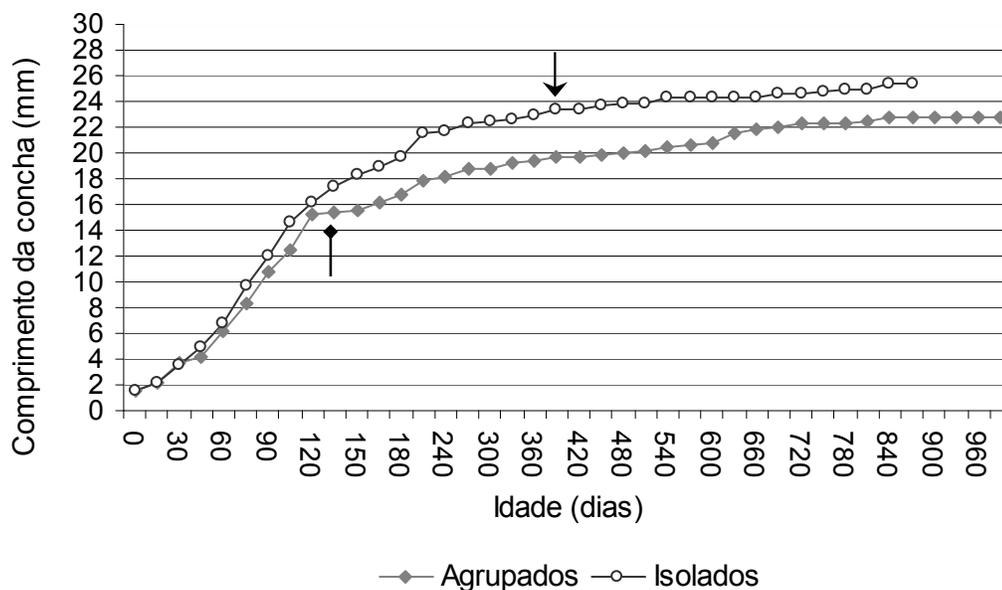


Gráfico 7 - Crescimento médio de *Bulimulus tenuissimus* mantidos em condições de agrupamento e isolamento desde o nascimento (setas indicam idade média na primeira postura dos moluscos, \blacklozenge Agrupados e \rightarrow Isolados).

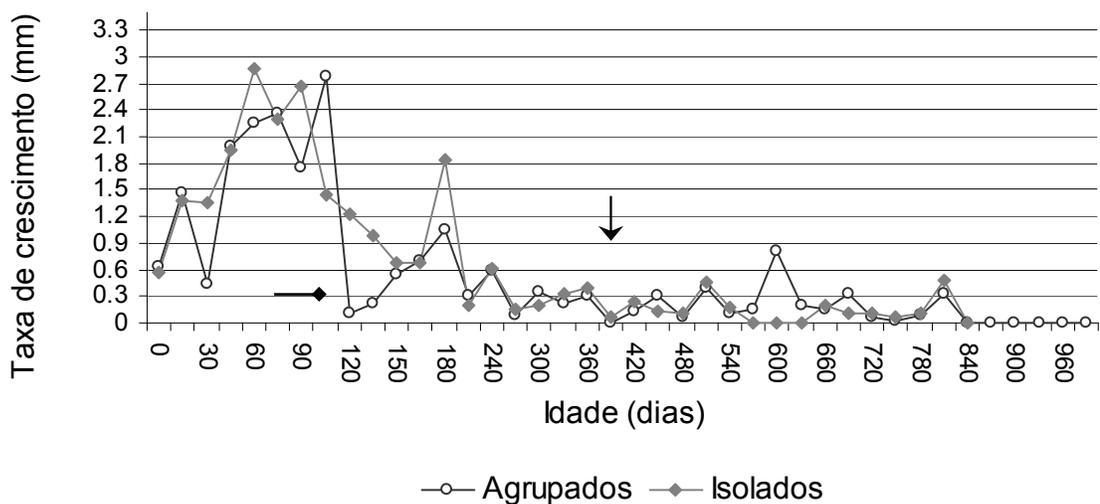
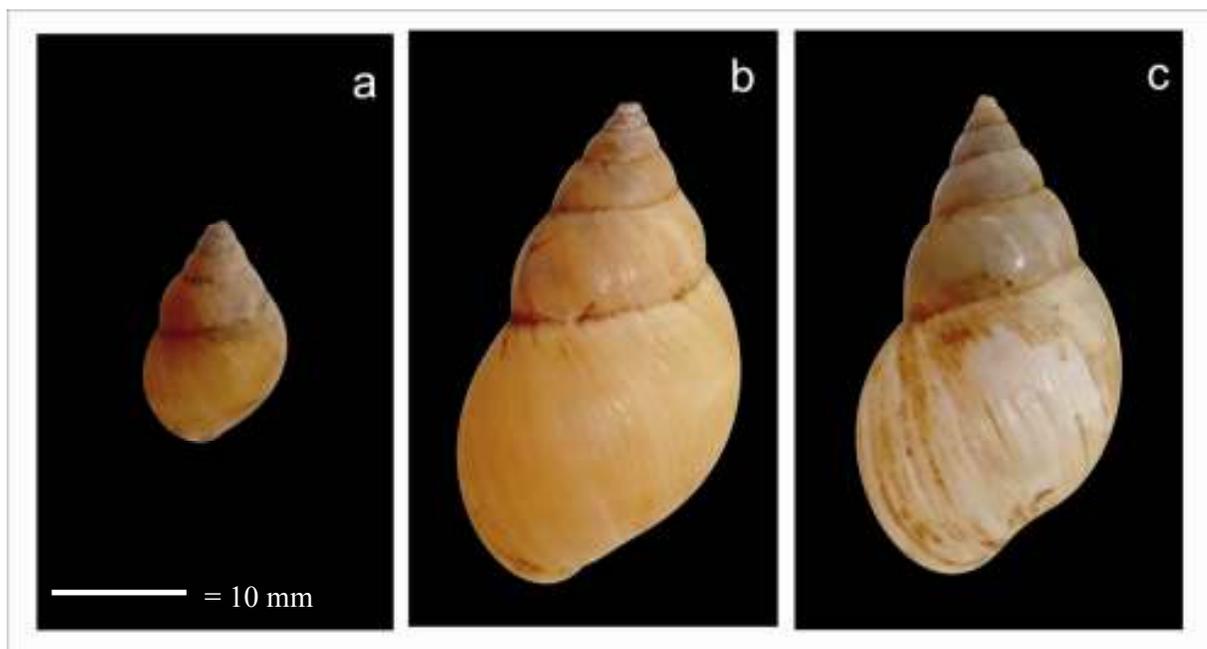


Gráfico 8 – Taxa de crescimento (mm/dia) de *Bulimulus tenuissimus* Agrupados e Isolados, durante o ciclo de vida (setas indicam idade média na primeira postura dos moluscos, \blacklozenge Agrupados e \rightarrow Isolados).



Fotografia -. Concha de *Bulimulus tenuissimus* a: Jovem; b: Adulto; c: Senescente.

Fotos: Lidiane Silva

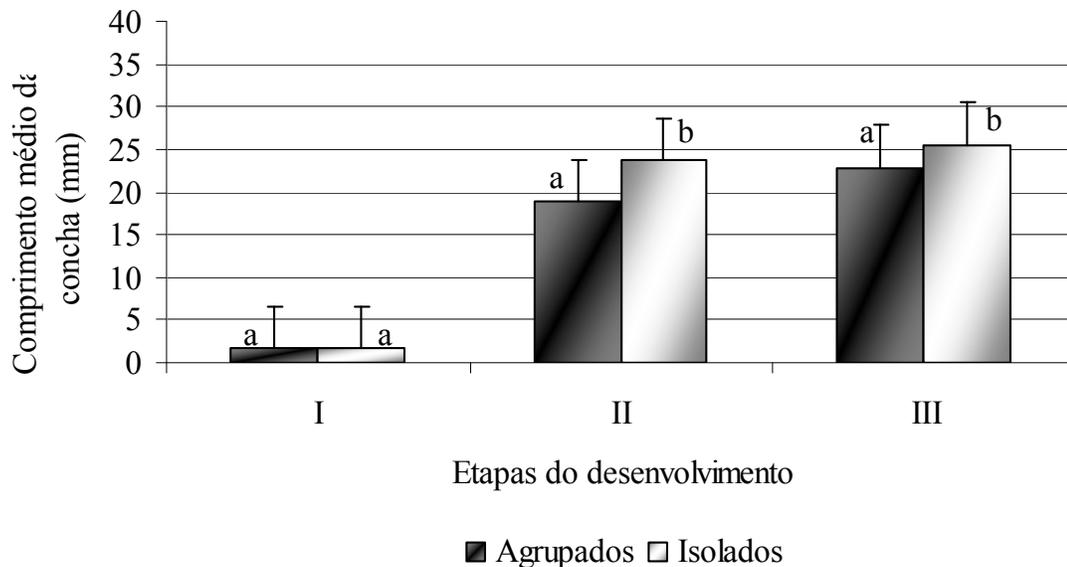


Gráfico 10 – Comprimento da concha de *Bulimulus tenuissimus* mantidos em condição de agrupamento e isolamento em três diferentes fases do desenvolvimento (I – Tamanho da concha no primeiro dia de vida, II – Tamanho da concha na primeira postura e III – tamanho da concha no último dia de vida).

* Médias seguidas de letras desiguais diferem significativamente de acordo com teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

3.5. FECUNDIDADE *versus* TAMANHO CORPORAL

O teste de regressão linear simples mostrou ser significativa a correlação entre comprimento da concha e número médio de ovos produzidos pelos Isolados ($F = 5,95$; $p = 0,026$) (Gráfico 11). Não foi verificada tal correlação para os animais Agrupados ($F = 2,94$; $p = 0,08$ - $Y = 15,90 + 0,06x$).

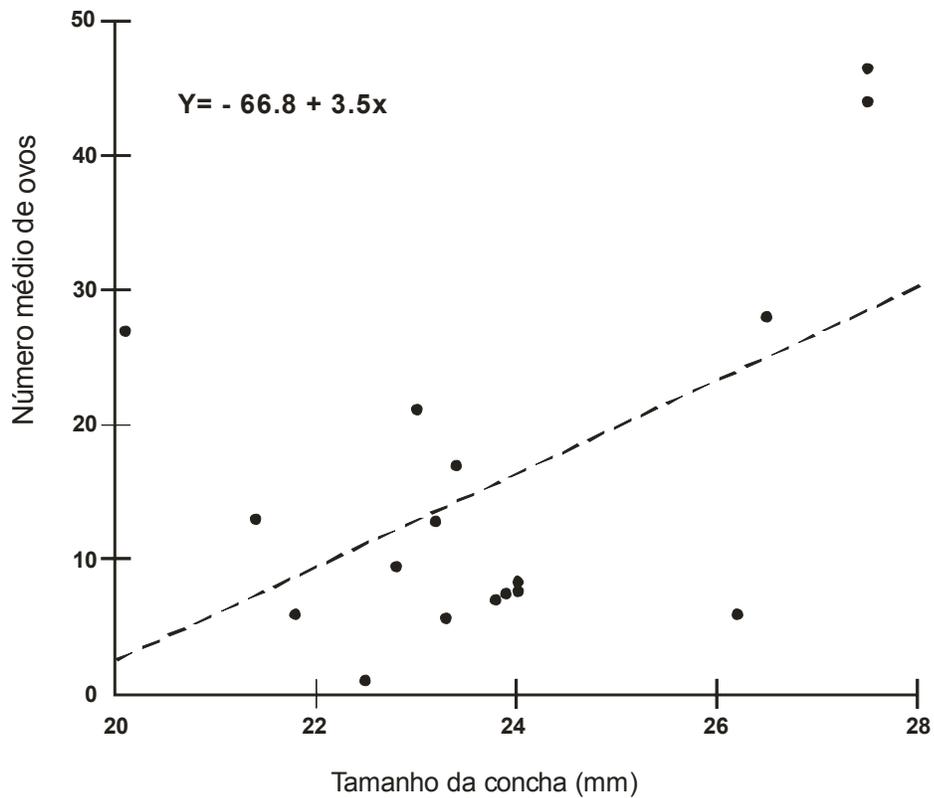


Gráfico 11 - Relação entre número médio de ovos produzidos e comprimento da concha (mm) dos indivíduos de *Bulimulus tenuissimus*, mantidos em condição de isolamento, desde o nascimento.

3.6. Longevidade

3.6.1 Percentual de mortalidade ao longo do ciclo de vida

Bulimulus tenuissimus, quando mantido em condição de agrupamento, apresentou o tempo máximo de vida de 990 dias. Após esse tempo, o número de animais sobreviventes (dois moluscos por grupo) foi insuficiente para qualquer tipo de análise, sendo assim definido o término para avaliação da longevidade da espécie.

O isolamento reduziu o tempo máximo de vida dos animais para 870 dias, sendo esta avaliação também encerrada quando o número de sobreviventes chegou a dois moluscos por grupo. O percentual de mortalidade durante todo período avaliado pode ser observado no Gráfico12.

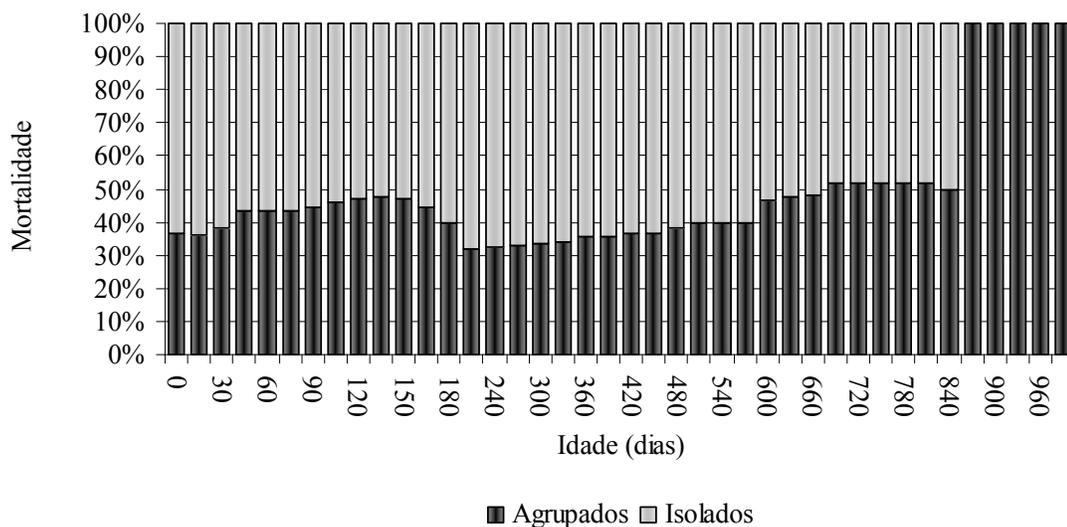


Gráfico12 – Percentual de mortalidade de *Bulimulus tenuissimus*, mantidos sob condição de agrupamento e isolamento, ao longo do ciclo de vida.

3.6.1 Percentual de mortalidade nas fases do desenvolvimento

A mortalidade foi significativamente mais elevada para os moluscos isolados na fase Jovem ($Z= 4,10$; $p= 0,0001$) e na fase Senescente ($Z= 3,10$; $p= 0,002$). Contudo, na fase Adulta verificou-se mortalidade maior dos animais Agrupados ($Z= 2,60$; $p= 0,01$) (Gráfico 13).

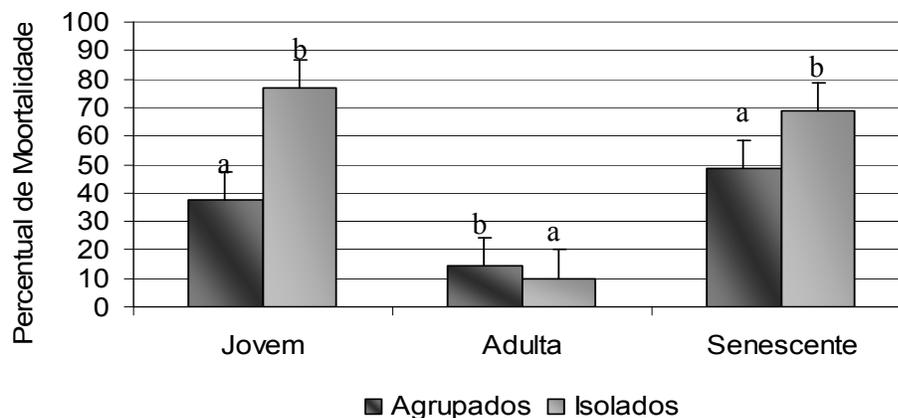


Gráfico 13 – Percentual de mortalidade de *Bulimulus tenuissimus* mantidos sob condições de agrupamento e isolamento, nas fases Jovem, Adulta e Senescente.

* Letras desiguais demonstram diferença significativa de acordo com o teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Discussão

Como os demais animais, os moluscos utilizam os recursos energéticos acumulados durante a vida para a manutenção da homeostase, crescimento somático, reprodução e sobrevivência. Tais recursos devem, entretanto, ser distribuídos entre os processos vitais de maneira a obter a maximização do sucesso reprodutivo (RAUT & PANIGRAHI, 1988; CICHON, 1999; HELLER, 2001). A forma com que ocorre essa distribuição pode ser observada através dos parâmetros da história de vida avaliados foi evidenciado que tais parâmetros foram intimamente relacionados e dependentes da forma de criação dos moluscos.

Para delimitação das fases de vida em moluscos terrestres, comumente utiliza-se o desenvolvimento do trato reprodutor a partir de estudos anatômicos e histológicos, não sendo encontrada na literatura a caracterização e duração de fases da vida baseados em parâmetros biológicos (HOMMAY *et al.*, 2001). Desse modo, a atividade reprodutiva foi proposta como critério para delimitação das fases Jovem, Adulta e Senescente, podendo ser utilizada para trabalhos similares com outras espécies.

A senescência se caracteriza por alterações de fatores físicos, comportamentais, fisiológicos e metabólicos e não somente a idade do animal (CONFORT, 2008). Considerou-se, nesse estudo, o período da vida após o último evento reprodutivo até a morte dos moluscos como sendo a fase de senescência. Foi considerado como critério, a ausência de atividade

reprodutiva, por esta representar um forte indicio da redução das reservas energéticas dos animais, os quais passam a utilizar toda energia para manutenção dos processos vitais (CONFORT, 2008).

Ficou evidente através dos resultados obtidos que a duração tanto da vida quanto de cada fase de desenvolvimento pode apresentar variações ocasionadas por fatores adversos. No caso deste estudo, o isolamento atuou como fator para alterações, as quais possivelmente podem estar relacionadas a estratégias de alocação de recursos distintas, de acordo com a condição sob a qual está submetido.

Quando mantidos em condições propícias à reprodução (agrupamento), os moluscos iniciaram a produção e liberação de ovos em um tempo mais curto, o que conseqüentemente leva a um período Jovem curto e tempo de vida Adulta maior. Ao contrário, houve o aumento considerável da fase Jovem, com redução do tempo de vida Adulta. A fase Senescente mostrou-se dependente da duração das fases de vida anteriores, estando diretamente relacionada ao investimento de energia entre crescimento e reprodução nas fases Jovem e Adulta.

A distribuição dos recursos entre o crescimento e a reprodução apresentou-se inversamente relacionada em Agrupados e Isolados. A fecundidade foi máxima para os moluscos Agrupados, os quais, entretanto, apresentaram crescimento menor que os Isolados. Esses atingiram maior tamanho corporal, porém com considerável redução da fecundidade. Esses resultados estão de acordo com os verificados para outros moluscos como *Bradybaena similaris* (FÉRUSAC, 1821), os quais apresentaram maior crescimento e menor fecundidade quando mantidos em isolamento (ALMEIDA & BESSA, 2001). Para *B. tenuissimus* verificou-se a redução do tamanho final da concha quando mantidos em agrupamento (MEIRELES *et al.*, 2008).

A variação nas taxas de crescimento de acordo com a fase da vida foi registrada para espécies de moluscos terrestres (SOUTH, 1992; HOMMAY *et al.*, 2001). Para lesmas dos gêneros *Limax* e *Arion* foram estabelecidas três fases de vida, com base em estudos das gônadas: uma fase infantil, na qual foi registrado crescimento rápido, uma fase jovem, com crescimento lento e uma fase adulta com crescimento mínimo. O crescimento de *B. tenuissimus*, independente da condição na qual foi mantido, foi similar ao verificado para essas espécies, apresentando altas taxas de crescimento na fase Jovem, baixas, na vida Adulta e crescimento muito reduzido na Senescência.

Do mesmo modo, independente da condição de criação dos moluscos, verificou-se o padrão de crescimento indeterminado. SILVA *et al.* (2008) já haviam mencionado esse padrão

de crescimento para indivíduos de *B. tenuissimus* criados em grupos. Os resultados obtidos mostraram que o isolamento não interferiu no padrão de crescimento.

Esse padrão de crescimento parece ser ótimo quando a fecundidade aumenta com o tamanho do corpo. Desse modo, o crescimento após o início da oviposição não prejudica o sucesso reprodutivo já que este é compensado pelo aumento da produção de ovos, garantida pelo maior tamanho do corpo (CICHON, 1999; HELLER, 2001; NORTON & BRONSON, 2005).

Esses dois parâmetros do ciclo de vida estão intimamente relacionados em moluscos terrestres, sendo verificado para espécies como *Cepaea nemoralis* (Linné, 1758), para a qual o número de ovos por postura aumentou em 3 ovos para cada 1 mm de aumento do tamanho da concha do parental (WOLDA, & KREULEN, 1973). Para *Subulina octona* (Brugüière, 1789) foi verificada correlação positiva entre peso e comprimento da concha e produção de ovos, a qual esta provavelmente relacionada ao crescimento do trato reprodutor (D'ÁVILA & BESSA, 2005).

Em *B. tenuissimus* estabeleceu-se uma relação diretamente proporcional entre o número médio de ovos e comprimento da concha para indivíduos Isolados, o que não foi verificado para Agrupados. Contudo, Agrupados que apresentaram grande fecundidade atingiram um tamanho menor no início da atividade reprodutiva e ao final do ciclo. Assim, sugere-se, que o aumento da fecundidade através do aumento corpóreo ocorra apenas na autofecundação nessa espécie, como uma estratégia para aumentar o ganho em sucesso reprodutivo.

Foi evidenciado que a atividade reprodutiva da espécie é concentrada em uma época do ano. SILVA *et al.* (2008) sugeriram que *B. tenuissimus* apresenta sazonalidade reprodutiva, o que se confirma com os resultados obtidos. Foram observados três ciclos reprodutivos para moluscos Agrupados e um ciclo reprodutivo para Isolados, porém em ambos os tratamentos a atividade reprodutiva foi sazonal. Foi observada a liberação de ovos em outros meses do ano, mesmo que em número ínfimo. Sugere-se que as condições laboratoriais, com umidade do substrato e alimentação constantes, podem ter favorecido a liberação de ovos fora da época reprodutiva.

A sazonalidade reprodutiva já foi descrita para moluscos em todos os ambientes, sendo essas muitas vezes relacionadas a fatores como temperatura, pluviosidade e fotoperíodo (LEAHY, 1984; UDAKA *et al.*, 2007). Em *Megalobulimus abbreviatus* (Bequaert, 1948) registrou-se a ocorrência de ciclos reprodutivos anuais, com a atividade reprodutiva concentrada na primavera (HORN *et al.*, 2005). Esses autores sugerem que as mudanças ambientais, como aumento do comprimento do dia e da temperatura, que acontecem nessa estação, podem controlar a sazonalidade reprodutiva da espécie.

A temperatura e o fotoperíodo são os principais fatores ambientais relacionados à reprodução em moluscos (SOUTH, 1992; HOMMAY *et al.*, 2001; HORN *et al.*, 2005). Tais

fatores podem atuar como reguladores dos processos fisiológicos que culminam na liberação de ovos, visto que o processo reprodutivo é dependente de mecanismos endócrinos, os quais são diretamente influenciados por estímulos externos (WAYNE, 2001). A autora sugere que esses fatores estejam diretamente relacionados à conversão das reservas energéticas que serão destinadas à reprodução.

Em moluscos terrestres tropicais, o crescimento do aparelho reprodutivo, espermatogênese e maturação são processos geralmente contínuos, embora a oviposição possa ser sazonal (DUNCAN, 1975). A produção de gametas parece ser contínua em *B. tenuissimus* com liberação sazonal dos ovos, o que se confirma pela liberação desses, em períodos do ano que não o reprodutivo. Porém, são necessários estudos histológicos do trato reprodutor ao longo do tempo de vida para esclarecer se a gametogênese é contínua durante o ano.

A espécie apresentou três ciclos reprodutivos durante a vida, sendo a produção de ovos relacionada à idade dos animais. Observou-se que a produção de ovos pela espécie é inicialmente baixa, seguida por uma produção de ovos pronunciada e reduzida no último ciclo reprodutivo, após o qual cessa. A redução da fecundidade com o aumento da idade foi registrada para outros moluscos terrestres como *B. similaris* (CARVALHO *et al.*, 2008), a qual apresentou um padrão reprodutivo similar ao verificado no presente estudo.

A redução de fecundidade no período final do ciclo de vida parece ser uma estratégia da espécie de modo a garantir a sobrevivência. O processo reprodutivo gera um grande estresse metabólico, visto que grande parte da energia acumulada será gasta na produção de gametas. A redução ou mesmo a interrupção da atividade reprodutiva garante energia disponível ao funcionamento do organismo e, com isso, a sobrevivência (TOMPA, 1984; ROSA *et al.*, 2004).

Embora a idade tenha ocasionado redução da produção de ovos, não afetou o sucesso reprodutivo, visto que não alterou a taxa de eclosão dos jovens. O isolamento, entretanto, ocasionou a redução da eclodibilidade, como já havia sido registrados por SILVA *et al.* (2008). Porém, essas autoras verificaram influência da idade sobre a taxa de eclosão, contrariamente ao registrado no presente estudo.

O tempo de vida foi dependente dos demais parâmetros da história de vida de *B. tenuissimus*. Agrupados apresentaram tempo de vida maior, possivelmente devido à distribuição mais homogênea dos recursos ao longo da vida. O isolamento exerceu efeito sobre a longevidade da espécie com redução do tempo de vida.

Evidenciou-se que a espécie pode de acordo com as condições, modificar a estratégia de alocação dos recursos acumulados, com maior ou menor dispêndio desses entre o esforço reprodutivo, o crescimento e a longevidade. A capacidade de se adequar a condições externas

através de alterações dos parâmetros do ciclo de vida, como o verificado para *B. tenuissimus*, é denominada plasticidade e já foi relatada para outros gastrópodes terrestres (COWIE, 1984; STAIKOU, 1998; KISS *et al.*, 2005).

Diferentes espécies ou uma mesma espécie submetida a condições ambientais distintas, como *B. tenuissimus*, podem apresentar diferentes formas de alocação de recursos e distribuição desses ao longo do seu ciclo de vida, levando a estratégias reprodutivas diferenciadas. O investimento em mais de um ciclo reprodutivo durante a vida denomina-se iteroparidade. O contrário, ou seja, o direcionamento de grande parte ou toda energia acumulada em uma única estação reprodutiva e o que pode levar ao término do seu tempo de vida, levando não coexistência de filhotes com parentais, é denominado semelparidade (STEARNS, 1976; HELLER, 2001).

De acordo com os resultados obtidos, indivíduos de *B. tenuissimus* mantidos Agrupados adotaram a iteroparidade como estratégia reprodutiva. Nessa condição houve uma distribuição parcimoniosa dos recursos durante a vida, o que garantiu sobrevivência e fecundidade máximas. Entretanto, quando mantida em isolamento a espécie apresentou apenas um ciclo reprodutivo, com a posterior morte dos animais, provocando, portanto, uma alteração da estratégia reprodutiva. Outras espécies, como *Theba pisana* (Müller, 1774) (HELLER, 1982), *Cepaea vindobonensis* (Férussac, 1821) (STAIKOU, 1998) e *Xeropicta derbentina* (Krynicky, 1836) (KISS *et al.*, 2005) apresentaram essa variação no ciclo de vida, principalmente devido a condições climáticas e alterações na densidade populacional. O isolamento, portanto, atuou como uma pressão capaz de provocar a modificação da estratégia reprodutiva nessa espécie.

Bulimulus tenuissimus apresentou um ciclo de vida longo, estando de acordo com o estabelecido para outros pulmonados terrestres (HELLER, 1990; 2001). Segundo essa classificação, espécies com ciclo longo, têm tempo de vida superior a dois anos e dois ou mais ciclos reprodutivos durante a vida. Entretanto, vale ressaltar, que tal classificação foi estabelecida para espécies de clima temperado, sendo que, para as espécies de clima tropical, os padrões de história de vida que favoreçam uma dessas estratégias ainda não estão devidamente estabelecidos.

Bulimulus tenuissimus exibiu plasticidade do ciclo de vida, sendo capaz de alterar o investimento de energia entre o crescimento e a reprodução, investindo mais ou menos nesses parâmetros. Observou-se alteração da estratégia reprodutiva, de acordo com a condição na qual foi submetida. Tais modificações são um indicio da adaptação dessa espécie a condições adversas no ambiente natural.

Referências Bibliográficas

- AGUDO, I. 2008. **Moluscos na Condição de Pragas no Brasil**, <http://www.conchasbrasil.org.br/default2.asp>, acessado em 20 de agosto de 2008.
- ALMEIDA, M.N. & E.C.A. BESSA. 2001. Estudo do crescimento e da reprodução de *Bradybaena similaris* (Mollusca, Xanthonychidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** **18** (4): 1115-1122.
- BARRIENTOS, Z. 1998. Life history of the terrestrial snail *Ovachlamys fulgens* (Stylommatophora: Helicarionidae) under laboratory conditions. **Revista de Biología Tropical** **46** (2): 369-384.
- BARROS-ARAÚJO, J.L.; H.E.B.; REZENDE. & P.A.F. RODRIGUES. 1960. Sobre “*Bulimulus tenuissimus*” (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Pulmonata). **Revista Brasileira de Biologia** **20** (1): 33-42. figs. 1-23.
- BESSA, E.C.A. & J.L.B. ARAÚJO. 1995. 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. 1996. Influência da alimentação com ração concentrada no desenvolvimento de *Subulina octona* Bruguière, 1789 (Mollusca: Subulinidae) em condições de laboratório. **Boletim Instituto Ciências Biológicas** **47**: 21-27.
- BIDART, L.; A. FERNÁNDEZ & C. IGLESIAS. 1998. Reproducción de *Polymita muscarum* y *Polymita venusta* (Stylommatophora: Helminthoglyptidae). **Revista de Biología Tropical** **46** (3): 683-689.
- CARVALHO, C.M.; BESSA, E.C.A. & S. DÁVILA. 2008. Life history strategy of *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Pulmonata, Bradybaenidae). **Molluscan Resource** (no prelo).

- CICHON, M. 1999. Growth after maturity as a suboptimal strategy. **Acta Oecologica** **20** (1): 25-28.
- CONFORT, A. 2008. Biological aspects of senescence. **Biological Review** **29** (3):284-329.
- COWIE, H.R. 1984. The life cycle and productivity of the land snail *Theba pisana* (Mollusca, Helicidae). **Journal of Animal Ecology** **53**: 311-325.
- D'ÁVILA, S. & E.C.A. BESSA. 2005. Influência do substrato sobre o crescimento de *Subulina octona* (Brugüière) (Mollusca, Subulinidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** **22** (1): 205-211.
- DUNCAN, C.J. 1975. Reproduction. 309-365 p. *In*: FRETTER, V. & J. PEAKE. 1975. **Pulmonates**. Academic Press. London. 417 p.
- 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.
- HELLER, J. 1982. Natural history of *Theba pisana* in Israel. **Journal of Zoology** **196**: 475-487.
- HELLER, J. 1990. Longevity in Molluscs. **Malacologia** **31** (2): 259-295.
- HELLER, J. 2001. Life History Strategies. 413-445 p. *In*: BARKER, G. M. 2001 (Ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. CABI Publishing. 552p.
- HOMMAY, G. KIENLEN, J. C.; GERTZ, C. & A. HILL. 2001. Growth and reproduction of the *Limax valentianus* Férussac in experimental conditions. **Journal of Molluscan Studies** **67** 191-207.

- HORN, A.C.; ACHAVAL, M. & D. ZANCAN. 2005. The annual reproductive cycle of the snail *Megalobulimus abbreviatus* (Bequaert, 1948) (Gastropoda, Pulmonata). **Brazilian Journal of Biology** **65** (3): 459-467.
- HYMAN, L. H. 1967. **The invertebrates: Mollusca I**. Vol. VI. MC Graw-Hill Book Company. New York. 792p.
- JOHNSON, M.S. & R. BLACK, 1991. Growth, survivorship, and population size in the land snail *Rhagada convicta* Cox, 1870 (Pulmonata: Camaenidae) from a semiarid environment in Western Australia. **Journal of Molluscan Studies** **57**: 367-374.
- LANGE-DE-MORRETES, F.L., 1949. Contribuição ao estudo da fauna brasileira de moluscos. **Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia** **3** (7): 111-126.
- KISS, L.; LAUBANE, C.; MAGNIN, F. & S. AUBRY. 2005. Plasticity of the life cycle of *Xeropicta derbentina* (Krynicky, 1836), a recently introduced snail in Mediterranean France. **Journal of Molluscan Studies** **71**: 221-231.
- LEAHY, W. 1984. Aspectos adaptativos de *Bradybaena similaris* Férussac, 1821 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) submetido ao jejum e dessecação. **Boletim de Fisiologia Animal** **5**: 47-55.
- MEIRELES, L.M.O.; SILVA, L.C.; JUNQUEIRA, F.O. & E.C.A. BESSA. 2008. The influence of diet and isolation on growth and survival in the land snail *Bulimulus tenuissimus* (Mollusca: Bulimulidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Zoologia** **25** (2): 224-227.
- NORTON, C.G. & J.M. BRONSON. 2006. The relationship of body size and growth to egg production in the hermaphroditic freshwater snail, *Helissoma tricolvis*. **Jornal of Molluscan Studies** **72**: 143-147.

- OLIVEIRA, M.P.; E.L. ALMEIDA; I. VIEIRA, & M.H.R. OLIVEIRA. 1968. **Comunicação nº 1. Criação de Moluscos em Terrários e Aquários (Uma experiência em laboratório.** Juiz de Fora. Esdeva, 15p.
- RAUT, S.K. & A. PANIGRAHI. 1988. Egg-nesting in the garden slug *Laevicaulis alte* (Férussac) (Gastropoda: Soleolifera). **Malacological Review** **21**: 101-107.
- REZENDE, H.E.B. & P.D. LANZIERI. 1964. Observações anatômicas e histológicas sobre “*Bulimulus tenuissimus*” (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Pulmonata, Bulimulidae). **Revista Brasileira de Biologia**, **24** (4): 409-415.
- ROSA, R.; P.R. COSTA & M.L. NUNES. 2004. Effect of the sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca, Cephalopoda). **Marine Biology** **145**: 563-574.
- SILVA, L.C.; MEIRELES, L.M.O.; JUNQUEIRA, F.O. & E.C.A. BESSA. 2008. Development and reproduction in *Bulimulus tenuissimus* (Mollusca, Bulimulidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Zoologia** **25** (2): 220-223.
- SIMONE, L.R.L. 1999. Mollusca Terrestres. In: Brandão, C.R. & E.M.. CANCELLO, (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX: Invertebrados Terrestres.** 1ª ed. São Paulo: FAPESP, 538p.
- SIMONE, L.R.L. 2006. **Land and freshwater molluscs of Brazil.** São Paulo. EGB, FAPESP. 390p.
- STOREY, K.B. 2002. Life in the slow lane: molecular mechanisms of estivation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A** **133**: 733–754.

- SOUTH, H. 1992. A comparison of the life cycle of *Deroceras reticulatum* (Müller) and *Arion intermedius* Normand (Pulmonata: Stylommatophora) at different temperatures under laboratory conditions. **Journal of Molluscan Studies** **48**: 233-244.
- STAIKOU, A.E. 1998. Aspects of life cycle, population dynamics, growth and secondary production of the pulmonate snail *Cepaea vindobonensis* (Férussac, 1821) in northern Greece. **Journal of Molluscan Studies** **64**: 297-308.
- STEARNS, S.C. 1976. Life history tactics: a review of ideas. **Quarterly Review of Biology** **51** 3-47.
- STEARNS, S. C. 1989. Trade- offs in life-history evolution. **Functional Ecology** **3**: 259-268.
- THIENGO, S. C. & S.B. AMATO. 1995. *Phyllocaullis variegatus* (Mollusca: Veronicellidae), A new intermediate host for *Brachylaima* sp. (Digenea: Brachylaimatidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **90** (5): 14-18.
- TOMPA, A. 1984. Land snails (Stylomatophora). In TOMPA, A.; VERDONK, N.K. & J.M.W VAN DEN BIGGELAAR (eds). **The Mollusca Reproduction**. London, Academic Press **7**: 47-140p.
- 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.
- WAYNE, N. L. 2001. Regulation of Seasonal Reproduction in Mollusks. **Journal of Biological Rhythms** **16** (4): 391-402.
- WOLDA, H. & D.A KREULEN. 1973. Ecology of some experimental populations the land snail *Cepaea nemoralis* (L.) Production and survival of eggs and juveniles. **Netherlands Journal of Zoology** **23**: 17-22.

CAPÍTULO II

VARIAÇÃO DAS RESERVAS ENERGÉTICAS EM *Bulimulus tenuissimus* (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, BULIMULIDAE) DE ACORDO A IDADE

RESUMO

Os recursos utilizados pelos moluscos para a realização dos processos metabólicos são acumulados sob forma de glicogênio e galactogênio. Tais polissacarídeos são estocados principalmente no período anterior à maturidade sexual, podendo ocorrer a mobilização desses para o trato reprodutivo durante a maturação sexual e liberação de ovos. Objetivou-se com esse estudo avaliar as alterações na concentração de glicogênio e galactogênio entre as fases Jovem, Adulta e Senescente de *Bulimulus tenuissimus*. Para tal, moluscos foram dissecados para obtenção dos tecidos da glândula digestiva e massa cefalopediosa e da glândula de albúmen para análise da concentração de glicose e galactose. Diferentemente ao verificado em outros moluscos terrestres, houve acúmulo de glicogênio na glândula digestiva durante as fases Jovem e Adulta, o que sugere que não ocorre mobilização dessa reserva durante o processo reprodutivo. Sugere-se que a energia utilizada para realização de tal processo seja proveniente do consumo de alimento. Os indivíduos senescentes apresentaram baixas concentrações de glicogênio na glândula digestiva e massa cefalopediosa, possivelmente devido à redução da atividade e com isso a redução da ingestão de alimento, o que leva a uma maior degradação da energia acumulada. Além disso, observou-se que as reservas de glicogênio dos músculos são disponibilizadas e degradadas tanto na fase Adulta quanto na fase Senescente. Na fase Adulta houve redução do conteúdo de galactogênio, o que sugere a sua mobilização para a produção de ovos. Pode-se concluir com esse estudo, que o conteúdo de polissacarídeos avaliados varia de acordo com a idade, sendo o estado reprodutivo dos moluscos a possível causa dessa variação.

Palavras-Chave: Galactogênio, glicogênio, fase do desenvolvimento.

INTRODUÇÃO

Os moluscos, assim como demais animais, acumulam recursos energéticos que serão distribuídos entre os diversos processos metabólicos que garantem a sua sobrevivência. Esses recursos são limitados, existindo, desse modo, “trade-offs” entre os diferentes parâmetros do ciclo de vida, como crescimento e reprodução. A forma de alocação dessas reservas irá delimitar as estratégias de história de vida do animal (HELLER, 1990; 2001; RICKFLES, 2004).

O processo reprodutivo gera grande dispêndio energético para o animal, sendo essa energia perdida para o organismo, já que não há retorno do investimento em um filhote para o indivíduo parental (RICKFLES, 2004). Desse modo, para que o processo reprodutivo ocorra perfeitamente, grande parte das reservas acumuladas deve ser mobilizada ao desenvolvimento do trato reprodutivo, gametogênese, produção de ovos e filhotes (TOMPA, 1979; 1984; LOCHER & BAUR, 2002).

A alocação de recursos para o processo reprodutivo é um aspecto fundamental na história de vida de animais, com conseqüências ecológicas e evolutivas (STEARNS, 1992). Em animais hermafroditas, como os moluscos terrestres, isso se torna particularmente importante, pois alterações nas estratégias de alocação de energia podem ser empregadas para a maximização do sucesso reprodutivo (LOCHER & BAUR, 2002).

Processos que ocasionam mudanças fisiológicas e conseqüente depleção das reservas energéticas em curto intervalo de tempo como a hipóxia, anóxia, estivação e parasitismo são bem estudados para moluscos terrestres (JOOSSE & VAN ELK, 1986; PINHEIRO, 1996; PINHEIRO & AMATO, 1994; PORCEL, *et al.*, 1996; DE FRAGA *et al.*, 2004). Por outro lado, existem poucos estudos que enfocam a mobilização de reservas energéticas em processos de longa duração como é caso da reprodução (BROKORDT & GUDERLEY, 2004).

Bulimulus tenuissimus é uma espécie hermafrodita e ovípara (BARROS-ARAÚJO *et al.*, 1960; REZENDE & LANZIERI, 1964), reproduzindo-se preferencialmente por fecundação cruzada e apresentando sazonalidade reprodutiva (SILVA *et al.*, 2008). Existem poucos estudos sobre a biologia dessa espécie, não havendo registros na literatura acerca da mobilização de reservas energéticas e investimento dessas na reprodução.

Desse modo, foram objetivos desse trabalho quantificar e avaliar as reservas energéticas, representadas pelo glicogênio e galactogênio em três diferentes fases do desenvolvimento (Jovem, Adulta e Senescente).

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção e acondicionamento dos animais

Os animais utilizados para essa avaliação foram obtidos da criação matriz do Laboratório de Biologia de Moluscos do Museu de Malacologia Prof. Maury Pinto de Oliveira da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais (21°45'13"/21°46'13"S e 43°21'19"/43°22'15"W).

Os moluscos foram previamente distribuídos em grupos desde o nascimento em terrários plásticos (14 cm de diâmetro e 9 cm de profundidade), contendo terra vegetal esterilizada (120° C/1 hora) e umedecida com água de torneira. A alimentação oferecida foi uma mistura de ração para aves de corte e carbonato de cálcio (3:1) (BESSA & ARAÚJO, 1996). Em dias alternados a ração foi substituída e o substrato umedecido.

2.2. Variação do conteúdo de glicogênio e galactogênio de acordo com a fase de vida

Foram feitas análises da variação dos níveis de glicogênio da glândula digestiva e massa cefalopediosa, e de galactogênio da glândula de albúmen de moluscos de três diferentes idades. Para tanto foram utilizados moluscos jovens, com 35 dias de vida, adultos, com 365 dias de vida e senescente com 990 dias.

A delimitação das idades foi realizada tendo a atividade reprodutiva como critério estabelecido para delimitação entre as fases: a fase Jovem correspondeu ao período entre o nascimento até o momento da realização da primeira postura; a fase Adulta, o período entre a primeira e a última postura; e a fase Senescente, o período entre a última postura e a morte dos moluscos.

Foram dissecados moluscos em número suficiente para obtenção de 1 g de tecido da glândula digestiva. Os tecidos da glândula de albúmen e massa cefalopediosa foram retirados dos mesmos animais.

2.3. Dissecção e processamento das amostras

Os animais foram mortos através da secção do cordão nervoso, retirados das conchas e dissecados em solução fisiológica sob microscópio estereoscópio para obtenção da glândula de albúmen, glândula digestiva e massa cefalopediosa (Fotografia 14). Os tecidos de cada

órgão foram pesados individualmente em balança analítica (Bosch SAE 200) (magnificância = 10^{-4} g), acondicionados em recipientes plásticos, e mantidos em banho de gelo durante o procedimento, evitando desse modo a degradação enzimática dos carboidratos.

Foi obtido um “pool” de tecidos com um grama de peso fresco o qual foi processado para qualificação e quantificação dos polissacarídeos. A análise das amostras foi realizada no Laboratório de Biofísica, Departamento de Ciências Fisiológicas Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, município de Seropédica, Rio de Janeiro.

Para obtenção dos precipitados de glicogênio e galactogênio, os tecidos da glândula digestiva, glândula de albúmen e massa cefalopediosa foram homogeneizados em frascos de Potter-Elvehjen contendo ácido tricloro acético (TCA) 10 % na proporção de 10 ml de TCA: 1 g de tecido e centrifugados a 1935xg durante cinco minutos. Após a centrifugação, foi feita a filtragem do sobrenadante em papel filtro qualitativo e o sobrenadante filtrado foi aquecido em banho-maria a 40°C durante cinco minutos. Adicionou-se ao sobrenadante etanol gelado (na proporção de 2 ml etanol:1 ml sobrenadante) permanecendo a mistura em banho de gelo por 15 minutos e centrifugado novamente a 17300xg durante 10 minutos (PINHEIRO & GOMES, 1994).

Os precipitados obtidos foram submetidos a hidrólise ácida a quente (ácido clorídrico [HCl] 1M a 100°C) e posterior quantificação espectrofotométrica, através da técnica do 3,5 dinitro salicilato (3,5 DNS) (SUMNER, 1925), com leitura de absorbância em comprimento de onda de 535 nm para quantificação destes dois substratos. Os resultados foram calculados pela Lei de Lambert-Beer com base em, pelo menos, três leituras coerentes e expressos em miligramas de glicose ou miligramas de galactose por grama de tecido, peso fresco.

2.4. Análise cromatográfica dos polissacarídeos extraídos da glândula digestiva e glândula de albúmen de *Bulimulus tenuissimus*

Para a análise cromatográfica dos carboidratos extraídos utilizou-se 1,0 miligrama de carboidrato extraído, que foi hidrolisado em 100µl de ácido trifluoracético (TFA) concentrado, a 100°C por 30 min. O hidrolisado foi seco a frio e lavado três vezes em 100µl de água destilada. Após a terceira lavagem, o hidrolisado foi suspenso em 100µl de água destilada e deixado repousar *overnight*.

Em uma tira de papel Whatman nº1 foi marcada a origem a 10 cm de altura, onde foram aplicados 10µl de cada amostra e 10µl de padrões de D-glicose e D-galactose na concentração de 1 mg/ml cada, com uma distância de 2 cm entre cada amostra e entre estas e

a borda do papel. O papel foi colocado em câmara cromatográfica saturada com o eluente n-butanol:piridina:água destilada (3:2:1). O tempo de eluição foi de 24 horas.

Após este tempo, o cromatograma foi revelado pela sua passagem em uma solução de nitrato de prata (AgNO_3) 0,5% em acetona e fixado em hidróxido de sódio 10% em etanol absoluto. O excesso de AgNO_3 foi retirado pela passagem do cromatograma em solução aquosa de tiosulfato de sódio a 10% e deixado secar ao ar.

2.5. Análise estatística

Para comparação das concentrações dos substratos energéticos avaliados nas diferentes fases da vida foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls. A correlação entre peso fresco dos tecidos foi dada pelo coeficiente de correlação de Pearson. Para ambos os testes adotou-se nível de significância de 0,05.



Fotos: Lidiane Silva

Fotografia 14 – a: *Bulimulus tenuissimus* sem a concha, com detalhe da glândula digestiva (GD) e massa cefalopédica (MC); b: Sistema reprodutor, com detalhes da Porção Masculina (PM), Porção Feminina (PF) e Porção Hermafrodita (PH); c: Detalhe da glândula digestiva (GD) e glândula de albúmen (GA).

RESULTADOS

3.1. Variação da concentração de glicogênio nas fases da vida

Houve aumento significativo do peso médio dos tecidos da fase Jovem para Adulta ($t=58,85$; $p=0,0001$; $t=40,50$; $p=0,0001$ e $t=55,09$; $p=0,0001$, para glândula digestiva, glândula de albúmen e massa cefalopediosa, respectivamente). Porém, tal tendência não foi mantida entre as fases Adulta e Senescente ($t=9,33$; $p=0,39$ para glândula digestiva, $t=1,2$; $p=0,83$ para glândula de albúmen e massa cefalopediosa $t=1,15$; $p=0,92$). Na Tabela II estão expostos o número de animais utilizados e o peso médio de cada amostra.

Tabela II – Peso médio, expresso em gramas, dos tecidos da glândula digestiva, glândula de albúmen e massa cefalopediosa de moluscos da espécie *Bulimulus tenuissimus* jovens, adultos e senescentes.

Idades	Peso dos tecidos (gramas)		
	Glândula Digestiva	Glândula de Albúmen	Massa Cefalopediosa
	Média ± Desvio Padrão	Média ± Desvio Padrão	Média ± Desvio Padrão
Jovem (n=79)	24,50 ± 16,00 a	4,00 ± 2,00 a	16,00 ± 4,00 a
Adulta (n=19)	121,00 ± 39,00 b	29,00 ± 9,00 b	55,30 ± 17,00 b
Senescente(n=13)	84,50 ± 26,00 b	29,00 ± 7,00 b	59,60 ± 16,50 b

*Médias seguidas de letras desiguais diferem estatisticamente (Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls $p<0,05$).

A concentração de glicogênio na glândula digestiva dos moluscos adultos foi de 10,17 mg ± 9,00, sendo essa, significativamente maior que a encontrada para moluscos senescentes ($t=0,0073$; $p=0,0001$) e jovens ($t=0,18$; $p=0,0001$). Para Senescentes verificou-se a menor concentração de glicogênio, 2 mg ± 0,91. Entre jovens e senescentes não foi verificada diferença estatística, sendo a concentração de glicose igual a 8,97 mg ± 7,00 para os moluscos na fase Jovem ($t=0,18$; $p=0,0001$) (Gráfico 15).

Na massa cefalopediosa também houve variação das reservas de acordo com a fase da vida. Os animais jovens apresentaram concentração mais elevada de glicogênio que os adultos ($t=8,84$; $p=0,0042$) e os senescentes ($t=9,17$; $p=0,91$), sendo esta de $2,10 \text{ mg} \pm 0,41$. As concentrações de glicogênio nesse tecido para Adultos e Senescentes foi de $0,85 \text{ mg} \pm 0,14$ e $0,86 \text{ mg} \pm 0,11$, respectivamente, não havendo diferença para esses grupos ($t=0,33$; $p=0,0029$) (Gráfico 15).

Não foi estabelecida correlação entre o peso dos órgãos e o conteúdo de glicogênio nas fases analisadas (Fase Jovem: $r=0,75$; $p=0,08$ e $r=0,38$; $p=0,46$; Fase Adulta: $r=0,35$; $p=0,50$ e $r=0,04$; $p=0,90$; Fase Senescente: $r=-0,14$; $p=0,79$ e $r=-0,70$; $p=0,13$, para glândula digestiva e massa cefalopediosa em cada fase, respectivamente).

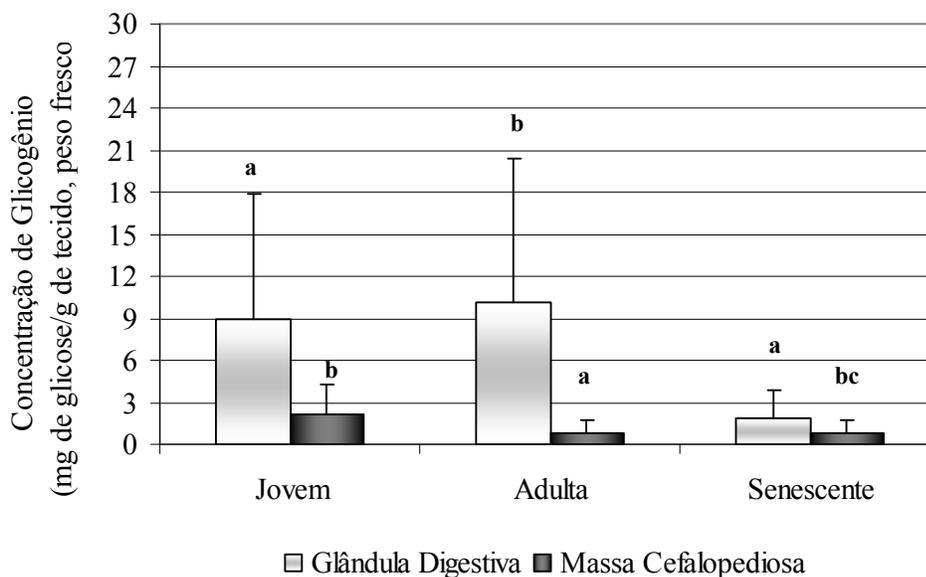


Gráfico 15 - Concentração de glicogênio expressa em mg de glicose/g de tecido, peso fresco, na glândula digestiva e massa cefalopediosa de *Bulimulus tenuissimus* jovens, adultos e senescentes.

*Médias seguidas de letras desiguais diferem estatisticamente (Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls $p<0,05$).

3.2. Variação da concentração de galactogênio nas fases da vida

A concentração de galactogênio na glândula de albúmen foi significativamente menor para os animais na fase Adulta do que para jovens e senescentes ($t=6$; $p=0,003$) (Gráfico 16). Tal resultado indica que esse substrato está sendo metabolizado e direcionado para a produção de ovos. Do mesmo modo, não foi verificou-se correlação entre o peso médio da glândula de

albúmen e concentração de galactogênio (Jovens: $r=0,38$; $p=0,4$, Adultos: $r= -0,05$; $p=0,90$, Senescentes: $r=0,18$; $p=0,70$).

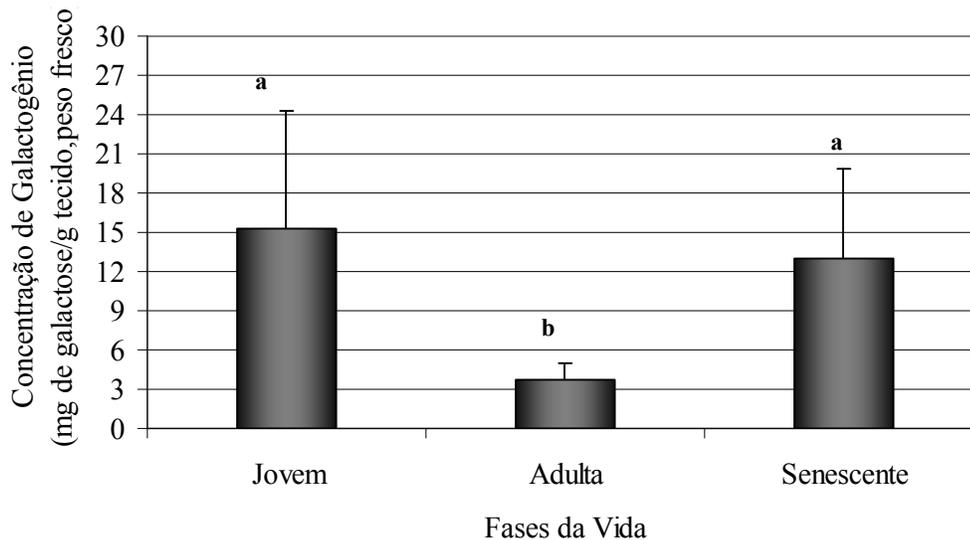
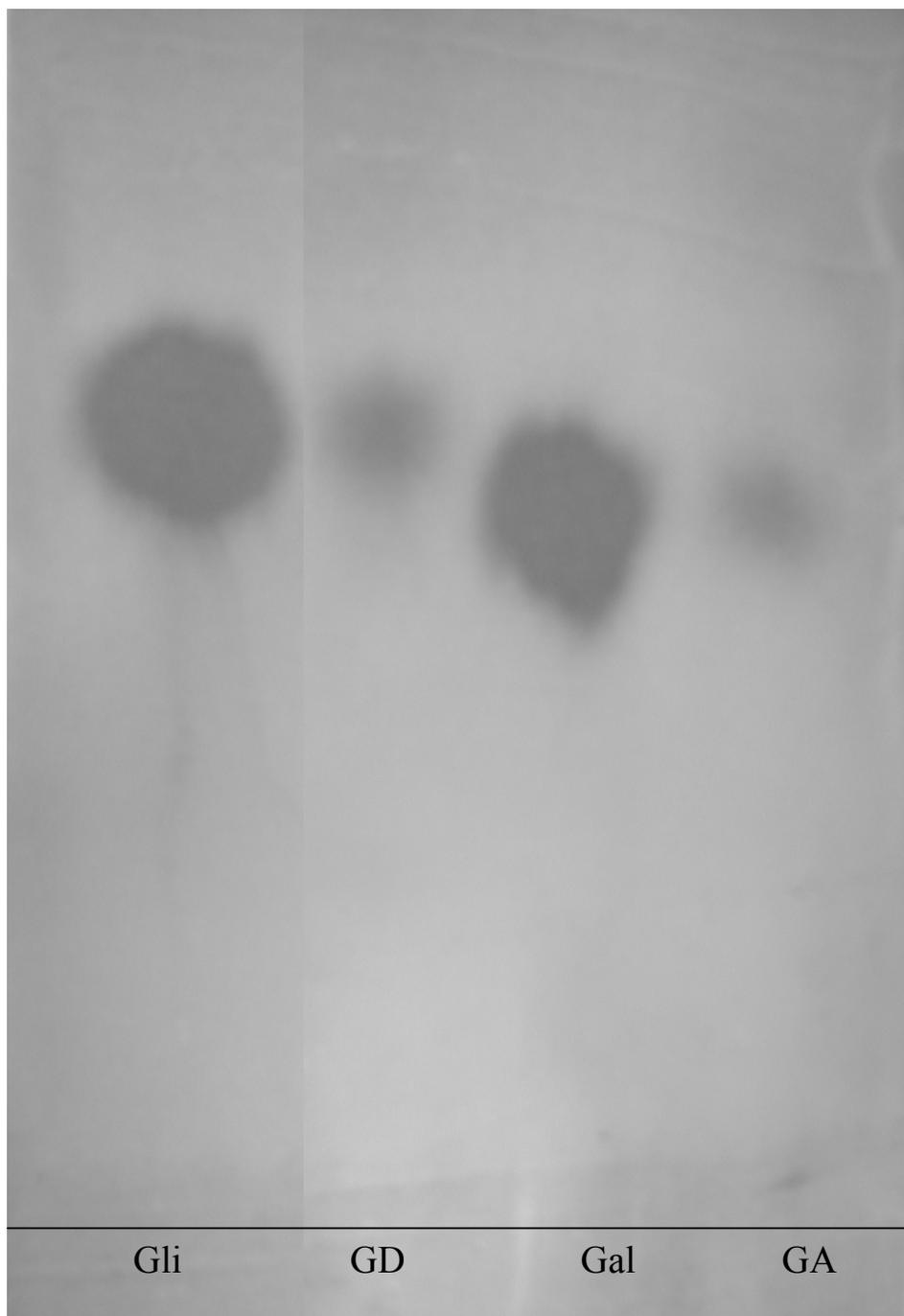


Gráfico 16 - Concentração de galactogênio, expressa como mg de galactose/g de tecido, peso fresco, na glândula de albúmen de *Bulimulus tenuissimus* jovens, adultos e senescentes.

* Médias seguidas de letras desiguais diferem estatisticamente (Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls $p<0,05$).

3.3. Análise cromatográfica

Através da análise cromatográfica realizada não foi constatada a presença de outros açúcares redutores que pudessem interferir na avaliação das concentrações de glicogênio e galactogênio (Fotografia 17).



Fotografia 17 – Cromatografia em papel dos polissacarídeos – Glicose (Gli) e Galactose (Gal)-extraídos dos tecidos da glândula digestiva (GD) e glândula de albúmen (GA) de *Bulimulus tenuissimus*.

DISCUSSÃO

Evidenciou-se nesse estudo que a idade exerceu influência sobre o depósito de polissacarídeos de *B. tenuissimus*.

Observou-se acúmulo de glicogênio na glândula digestiva dos moluscos nas fases Jovem e Adulta. Desse modo, os resultados obtidos sugerem a não mobilização de glicogênio da glândula digestiva na fase Adulta. Já o galactogênio foi reduzido nos moluscos adultos, o que mostra a mobilização desse para a produção de ovos.

Entretanto, ao contrário do observado em *B. tenuissimus*, muitas espécies de moluscos, apresentam um processo de estocagem-mobilização de glicogênio de acordo com o ciclo reprodutivo anual. Assim, esse carboidrato é estocado nas épocas de abundância de alimento e mobilizado para a gametogênese e produção de ovos, o que acarreta a redução desse polissacarídeo nos órgãos de reserva nessa etapa da vida (DA SILVA & ZANCAN, 1994). Nesse estudo, não foram realizadas análises das gônadas, porém, o acúmulo de glicogênio na glândula digestiva por si demonstra a não transferência deste.

A redução do conteúdo de glicogênio na glândula digestiva durante o período reprodutivo foi evidenciada para espécies de moluscos terrestres e aquáticos como *Megalobulimus oblongus* (Müller, 1774) (DA SILVA & ZANCAN, 1994), *Lymnaea stagnalis* (Linné, 1758) e *Ilex argentinus* (Castellanos, 1960) (CLARK *et al.*, 2004). Essa redução pode indicar o direcionamento do glicogênio da glândula digestiva para as gônadas de modo a garantir o processo de espermiogênese e oogênese, sendo o gasto de glicogênio estritamente ligado à produção de gametas (BROKORDT & GUDERLEY, 2004).

Em *B. tenuissimus* verificou-se a redução da concentração de glicogênio na massa cefalopediosa ao longo da vida. Esse resultado permite inferir que a reserva de glicogênio do tecido muscular também pode ser utilizada, possivelmente na reprodução, na fase Adulta, e na manutenção da homeostase na fase Senescente. O direcionamento das reservas musculares de glicogênio para a gametogênese foi evidente para o bivalve da espécie *Chlamys islandica* (Müller, 1776), para o qual se observou redução da concentração de glicogênio no músculo adutor e aumento nas gônadas durante a fase de produção de gametas (BROKORDT & GUDERLEY, 2004).

Em cefalópodes, para os quais a variação de reservas energéticas durante o ciclo de vida foi mais amplamente estudada, observou-se grande alteração dessas reservas ocasionadas pela maturação sexual. Nas espécies *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797 e *Octopus defilippi* Verany, 1851 foram verificadas reduções de carboidratos, proteínas e lipídeos da glândula

digestiva durante essa fase do ciclo. Vale ressaltar que tais animais são semélparos e direcionam toda energia para um único evento reprodutivo (ROSA *et al.*, 2004).

Bulimulus tenuissimus, entretanto, é uma espécie iterópara, que apresenta pelo menos três ciclos reprodutivos durante a vida. Nesse estudo, foram utilizados animais no início da primeira reprodução, podendo, os altos níveis de glicogênio para os adultos estar relacionados à estratégia reprodutiva da espécie. Para *B. tenuissimus* registrou-se menor fecundidade no primeiro ciclo reprodutivo havendo, desse modo, menor investimento energético nesse período, mas que geraria um dispêndio energético e conseqüente redução das reservas.

Por outro lado, para as espécies de cefalópodes como *Illex coindetii* (Verany, 1837) e *Todaropsis eblanae* (Ball, 1841) foi evidenciado o contínuo acúmulo de energia pela glândula digestiva, mesmo durante a maturação e atividade reprodutiva (ROSA *et al.*, 2005). Tais autores sugerem que não haver mobilização de reservas visto que o consumo de alimento não cessa durante a reprodução.

Em *B. tenuissimus*, a alta concentração de glicogênio na fase adulta também pode estar relacionada ao consumo de alimento. Para essa espécie foi verificado aumento na ingestão de alimento no período reprodutivo (MEIRELES, 2009 comunicação pessoal). Desse modo, acredita-se que a energia utilizada na reprodução por *B. tenuissimus* seja oriunda da alimentação, sendo as reservas da glândula digestiva destinadas aos demais processos metabólicos dos animais.

Foi evidente em *B. tenuissimus* a redução da concentração de galactogênio nos animais Adultos, a qual está de acordo com a literatura. O galactogênio é uma reserva utilizada principalmente como fonte energética para formação do vitelo, que irá nutrir o embrião durante o desenvolvimento (STICKLE, 1975; TOMPA, 1984). Tal reserva só é degradada com outra finalidade que não a produção dos ovos se o molusco passar por estresse metabólico acentuado, como em longo período de estivação (STICKLE, 1975) e parasitismo (JOOSSE & VAN ELK, 1986; PINHEIRO, 1996).

Assim, espera-se que em animais adultos a concentração desse substrato energético seja alta no período que antecede a liberação de ovos e baixa assim que se inicia a oviposição (AZEVEDO *et al.*, 1996). A menor concentração de galactogênio verificada nos moluscos adultos no presente estudo indica, portanto, que os animais encontravam-se em atividade reprodutiva.

Os indivíduos senescentes apresentaram baixas concentrações de glicogênio na glândula digestiva, possivelmente devido à redução da atividade e com isso a redução do consumo de alimento, levando a uma maior degradação da energia acumulada para manutenção das funções vitais. Nessa fase da vida, os processos metabólicos tendem a ser

mais lentos, seja por economia de energia, seja por debilitação física do animal, o que pode ocasionar dificuldade na conversão e acúmulo de energia (CONFORT, 2008).

Todavia, a concentração de galactogênio nos moluscos senescentes mostrou-se elevada. *B. tenuissimus* apresenta um período de senescência relativamente longo (dados não publicados). Isso sugere que, possivelmente, essas reservas são utilizadas de modo a garantir maior tempo de vida.

Pode-se concluir com esse estudo que moluscos de diferentes idades apresentam formas diferenciadas para alocação dos polissacarídeos avaliados, sendo a variação provavelmente relacionada ao estado reprodutivo dos moluscos. Além disso, constatou-se também que as reservas energéticas dos músculos são disponibilizadas e degradadas tanto na fase Adulta quanto na fase Senescente.

Trabalhos que visem avaliar a variação de carboidratos em intervalos de idades mais próximos do que os analisados no presente estudo, bem como a análise das gônadas, podem esclarecer se há mobilização de glicogênio da glândula digestiva para a gametogênese nessa espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, V.P.B.; PINHEIRO, J.; CHAGAS, G.M. & E.M. GOMES. 1996. Determinação do conteúdo de galactogênio na glândula de albúmen de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Gastropoda). **Revista da Universidade Rural Série Ciências e Vida** 18 (1-2): 95-99.
- BARROS-ARAÚJO, J.L.; H.E.B.; REZENDE. & P.A.F. RODRIGUES. 1960. Sobre “*Bulimulus tenuissimus*” (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Pulmonata). **Revista Brasileira de Biologia** 20 (1): 33-42. figs. 1-23.
- BESSA, E.C.A. & J.L.B. ARAÚJO. 1996. Influência da alimentação com ração concentrada no desenvolvimento de *Subulina octona* Bruguière, 1789 (Mollusca: Subulinidae) em condições de laboratório. **Boletim Instituto Ciências Biológicas** 47: 21-27.

- BROKORDT, K. & H. GUDERLEY. 2004. Binding of glycolytic enzymes in adductor muscle of Iceland scallop *Chlamys islandica* is altered by reproductive status. **Marine Ecology Progress Series 268**: 141-149.
- CLARK, A.; P.G. RODHOUSE & D.J. GORE. 2004. Biochemical composition in relation to the energetics of growth and sexual maturation in the ommastrephid squid *Illex argentinus*. **Philosophical Transactions of the Royal Society Biological 344**: 201-212.
- CONFORT, A. 2008. Biological aspects of senescence. **Biological Review 29** (3): 284-329.
- DA SILVA, R.S.M. & D.M. ZANCAN. 1994. Seasonal variation of the carbohydrate and lipid in a land pulmonate gastropod, *Megalobulimus oblongus*. **Comparative Biochemistry Physiology 108** (2/3): 337-341.
- DE FRAGA, S.L., DA SILVA, R.S.M.; ACHAVAL, M. & D.M. ZANCAN. 2004. Carbohydrate metabolism in the central nervous system of the *Megalobulimus oblongus* snail during anoxia exposure and post-anoxia recovery. **Journal of Experimental Zoology 301**: 968-978.
- HELLER, J. 1990. Longevity in Molluscs. **Malacologia 31** (2): 259-295.
- HELLER, J. 2001. Life History Strategies. 413-445 p. *In*: BARKER, G. M. 2001 (Ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. CABI Publishing. 552p.
- JOOSEE, J & VAN ELK, R. 1986. *R. Trichobilharzia ocellata*: physiological characterization of giant growth, glycogen depletion, and absence of reproductive activity in the intermediate snail host, *Lymnaea stagnalis*. **Experimental Parasitology 62** (1):1-13.
- LOCHER, R. & B. BAUR. 2002. Nutritional stress changes sex-specific reproductive allocation in the simultaneously hermaphroditic land snail *Arianta arbustorum*. **Functional Ecology 16**: 623-632.

- PINHEIRO, J. 1996. Influence of starvation on the glycogen and galactogen contents in the snail *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Gastropoda). **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **39**: 349-357.
- PINHEIRO, J. & E.M. GOMES, 1994. A method for glicogen determination in molluscs. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **37**(3): 569-576.
- PINHEIRO J. & S.B. AMATO. 1994. *Eurytrema coelomaticum*(Digenea, Dicrocoeliidae): the effect of infection on carbohydrate contents of intermediate snail host, *Bradybaena similaris* (Gastropoda, Xanthonychidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **89**: 407-410.
- PORCEL, D.; BUENA, J. D. & A. ALMENDROS. 1996. Alterations in the digestive gland and shellof the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata) after prolonged starvation. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry** **115** (1): 11-17.
- REZENDE, H.E.B. & P.D. LANZIERI. 1964. Observações anatômicas e histológicas sobre “*Bulimulus tenuissimus*” (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Pulmonata, Bulimulidae). **Revista Brasileira de Biologia** **24** (4): 409-415.
- RICKFLES, R.E. 2004. **A economia da natureza**. Quinta Edição. Guanabara Koogn S.A. Rio de Janeiro. 503p.
- ROSA, R.; P.R. COSTA & M.L. NUNES. 2004. Effect of the sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca, Cephalopoda). **Marine Biology** **145**: 563-574.
- ROSA, R.; COSTA, P.R. BANDARRA, N. & M.L. NUNES. 2005 Changes in tissue biochemical composition and energy reserves associated with sexual maturation in the ommastrephid squids *Illex coindetii* and *Todaropsis eblanae*. **Biology Bulletin** **208**: 100–113.

SILVA, L.C.; MEIRELES, L.M.O.; JUNQUEIRA, F.O. & E.C.A. BESSA. 2008. Development and reproduction in *Bulimulus tenuissimus* (Mollusca, Bulimulidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Zoologia** **25** (2): 220-223.

STEARNS, S. C. 1989 Trade- offs in life-history evolution. **Functional Ecology** **3**: 259-268.

SUMNER, J.B. 1925. A method for colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry** **65**: 393.

STICKLE, W. 1975. The reproductive physiology of the intertidal prosobranch *Thais lamellosa* (Gmelin). II Seasonal change in biochemical composition. **Biology Bulletin** **148**: 448-460.

TOMPA, A.S. 1979. Oviparity, egg retention and ovoviviparity in pulmonates. **Journal of Molluscan Studies** **45**: 155-160.

TOMPA, A. 1984. Land snails (Stylomatophora). In TOMPA, A.; VERDONK, N.K. & J.M.W VAN DEN BIGGELAAR (eds). **The Mollusca Reproduction**. London, Academic Press **7**: 47-140p.

CAPÍTULO III

VARIAÇÃO SAZONAL DAS RESERVAS ENERGÉTICAS EM *Bulimulus tenuissimus* (D'ORBIGNY, 1835) (MOLLUSCA, BULIMULIDAE)

RESUMO

Condições ambientais atuam como fatores limitantes da biologia de moluscos terrestres, podendo ser evidenciadas variações metabólicas de acordo com a sazonalidade climática. Dentre tais variações, encontram-se os processos de síntese e conversão de glicogênio e galactogênio. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a concentração desses substratos energéticos nas diferentes estações do ano. Para essa avaliação foram coletados tecidos da glândula digestiva, massa cefalopediosa e glândula de albúmen, os quais foram processados para a obtenção das concentrações de glicose e galactose. Houve variação sazonal nas reservas energéticas tanto na glândula digestiva quanto na massa cefalopediosa de *B. tenuissimus*, havendo uma tendência ao acúmulo destas da Primavera para o Inverno. Observou-se maior consumo de reservas na Primavera e Verão, sendo o glicogênio estocado na glândula digestiva a primeira fonte consumida. No Verão, foi observado que além das reservas da glândula digestiva ocorreu mobilização de glicogênio das reservas musculares. A redução de glicogênio é coincidente ao ciclo reprodutivo da espécie, sendo os gastos gerados para os processos de acasalamento e gametogênese a causa da redução. A concentração de galactogênio também variou segundo o período reprodutivo de *B. tenuissimus*, sendo alta nas estações nas quais ocorre atividade reprodutiva e baixa nos demais períodos. Sugere-se que as variações de temperatura e fotoperíodo que ocorrem no decorrer do ano possam atuar como mecanismos reguladores do metabolismo energético de *B. tenuissimus*.

Palavras-Chave: Galactogênio, glicogênio, molusco terrestre, condições ambientais.

INTRODUÇÃO

As condições ambientais influenciam diretamente os parâmetros da história de vida de moluscos terrestres, sendo as atividades alimentar e reprodutiva muitas vezes, limitadas por tais condições (HYMAN, 1967; LEAHY, 1984; HELLER, 1990; 2001; ANSART *et al.*, 2007).

Muitas espécies permanecem ativas durante as estações do ano com condições favoráveis e abundância de alimento, nas quais também ocorrem os processos de corte, cópula e liberação de ovos. Nas estações secas e frias os animais entram em um processo conhecido como estivação, permanecendo inativos até a próxima estação favorável à liberação de ovos (DAINTON, 1954; GOMOT *et al.*, 1989; IGLESIAS *et al.*, 1996). Para garantir a sobrevivência, os moluscos acumulam reservas energéticas que serão degradadas durante o período de inatividade (STOREY, 2002).

Fatores como temperatura, umidade e fotoperíodo, além da regulação da atividade, podem ainda influenciar as taxas de crescimento e fecundidade dos moluscos por interferirem diretamente no metabolismo desses animais (WAYNE, 2001). Segundo essa autora, a sazonalidade reprodutiva de moluscos terrestres deve-se a alterações nos processos de síntese, degradação ou conversão das reservas energéticas disponíveis ao processo reprodutivo.

A variação no conteúdo energético muitas vezes relaciona-se ao ciclo reprodutivo dos moluscos, com acúmulo e gasto de energia para encontro de parceiros e produção de ovos (DA SILVA & ZANCAN, 1994; Rosa *et al.*, 2005). O comportamento reprodutivo, bem como a gametogênese, é controlado pelo sistema endócrino do animal, sendo este, por sua vez dependente de estímulos externos (JOOSSE, 1988; WAYNE, 2001; DE FRAGA *et al.*, 2004)

Bulimulus tenuissimus é uma espécie nativa (SIMONE, 2006) que se destaca devido a sua importância parasitológica, além de atuar como praga agrícola (BARROS-ARAÚJO, 1982; THIENGO & AMATO, 1995; AGUDO, 2008). Essa espécie apresenta ciclo de vida longo, sendo a iteroparidade a estratégia reprodutiva adotada. Além disso, apresenta sazonalidade reprodutiva, com liberação de ovos no período de primavera-verão (SILVA *et al.*, 2008).

Assim, objetivou-se com esse estudo avaliar a variação sazonal do conteúdo de glicogênio na glândula digestiva e massa cefalopediosa e de galactogênio na glândula de albúmen de espécimes de *B. tenuissimus* adultos.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção e acondicionamento dos animais

Os animais utilizados para essa avaliação foram obtidos da criação matriz do Laboratório de Biologia de Moluscos do Museu de Malacologia Prof. Maury Pinto de Oliveira da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, (21°45'13"/21°46'13"S e 43°21'19"/43°22'15"W).

Para tanto, cinco grupos de moluscos, com 20 indivíduos cada, foram acondicionados desde o nascimento até atingirem um ano de vida, em terrários plásticos com dimensões de 14 cm de diâmetro e 9 cm de profundidade, vedados com tecido de algodão e elástico de escritório. O substrato utilizado foi terra vegetal esterilizada (120°C/1 hora), a qual foi umedecida com água de torneira em dias alternados com água. Como alimento foi oferecida uma mistura de ração para aves de corte e carbonato de cálcio (3:1) (BESSA & ARAÚJO, 1996). Em dias alternados a ração foi substituída e o substrato umedecido.

2.2. Variação sazonal dos conteúdos de glicogênio e galactogênio

A variação sazonal dos conteúdos de glicogênio e galactogênio foi avaliada através da dissecação de moluscos da espécie *B. tenuissimus* adultos (com um ano de vida) nos meses correspondentes às estações do ano: Primavera – outubro de 2007; Verão - janeiro de 2007; Outono- abril de 2008 e Inverno - julho de 2008. Destes mesmos animais foram obtidos tecidos da massa cefalopédica e glândula de albúmen.

Foram dissecados moluscos em número suficiente para obtenção de 1 g de tecido da glândula digestiva, para ambas as análises. Os tecidos da glândula de albúmen e massa cefalopédica foram retirados dos mesmos indivíduos.

2.3. Dissecação e processamento das amostras

Os animais foram mortos através da secção do cordão nervoso, retirados das conchas e dissecados em solução fisiológica sob microscópio estereoscópio para obtenção dos órgãos avaliados (glândula de albúmen, glândula digestiva e massa cefalopédica). Os tecidos retirados foram pesados individualmente em balança analítica (Bosch SAE 200)

(magnificância = 10^{-4} g) e mantidos em banho de gelo de modo a evitar a degradação enzimática dos carboidratos. Desse modo, foi obtido um “pool” de tecidos com um grama de peso fresco, o qual foi processado para qualificação e quantificação do glicogênio e do galactogênio.

As amostras de tecido foram analisadas no Laboratório de Biofísica, Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

Para obtenção dos precipitados de glicogênio e galactogênio, os tecidos da glândula digestiva, glândula de albúmen e massa cefalopédica foram processados segundo PINHEIRO & GOMES (1994).

Os precipitados obtidos foram submetidos a hidrólise ácida a quente e posterior quantificação espectrofotométrica, através da técnica do 3,5 dinitro salicilato (3,5 DNS) (SUMNER, 1925), com leitura de absorvância em comprimento de onda de 535nm para quantificação destes dois substratos. Os resultados foram calculados pela Lei de Lambert-Beer com base em, pelo menos, três leituras coerentes e expressos em miligramas de glicose ou miligramas de galactose por grama de tecido, peso fresco.

2.4. Análise Estatística

Para comparação das concentrações de glicogênio e galactogênio nas estações foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls. A correlação entre peso fresco dos tecidos e a concentração de glicogênio e galactogênio foi dada pelo coeficiente de correlação de Pearson. Para ambos os testes adotou-se nível de significância de 0,05.

RESULTADOS

O número de moluscos utilizado em cada coleta de tecidos, bem como o peso fresco destes, referentes a cada órgão e a cada estação pode ser observado na Tabela III. No inverno, o peso médio da glândula digestiva foi menor que nas demais estações ($H=28,60$; $p=0,0001$). Do mesmo modo, apenas no Outono verificou-se diferença entre o peso médio da glândula de albúmen, o qual foi significativamente menor ($H=11,00$; $p= 0,01$). O peso médio da massa cefalopédica foi semelhante, independente da estação do ano. Não foi verificada correlação

entre o peso dos tecidos e as concentrações de glicogênio e de galactogênio nas estações ($p > 0,05$).

Tabela III – Peso médio expresso em gramas dos tecidos da glândula digestiva, glândula de albúmen e massa cefalopediosa de moluscos da espécie *Bulimulus tenuissimus* coletados nas estações do ano.

Estações do ano	Peso dos tecidos em gramas		
	Glândula Digestiva	Glândula de Albúmen	Massa Cefalopediosa
	Média ± Desvio Padrão	Média ± Desvio Padrão	Média ± Desvio Padrão
Primavera(n=14)	165,00 ± 60,00 a	40,1 ± 16,00 a	69,50 ± 16,60 a
Verão (n=17)	130,10 ± 42,00 a	42,30 ± 15,00 a	52,40 ± 21,40 a
Outono (n=15)	161,20 ± 39,00 a	30,50 ± 9,50 a	65,00 ± 22,20 a
Inverno (n=24)	93,86 ± 34,00 b	25,20 ± 12,85 b	55,00 ± 18,00 a

*Médias seguidas de letras desiguais diferem estatisticamente (Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls $p < 0,05$).

Houve significativa variação nas reservas energéticas tanto na glândula digestiva quanto na massa cefalopediosa de *B. tenuissimus* de acordo com as estações do ano, havendo uma tendência ao acúmulo destas da Primavera para o Inverno (Gráfico 18). Observou-se maior consumo de reservas na Primavera e Verão, sendo o glicogênio estocado na glândula digestiva a primeira fonte consumida. No Verão, observa-se que além das reservas da glândula digestiva ocorreu mobilização de glicogênio dos tecidos corporais.

O inverso foi registrado no Outono-Inverno, período no qual existe o aumento do teor de glicogênio na glândula digestiva e massa cefalopediosa. No outono a concentração de glicogênio na glândula digestiva aumenta consideravelmente, atingindo o nível máximo no Inverno. Na massa cefalopediosa o acúmulo de reservas ocorre similarmente, porém os níveis de glicogênio são menores que na glândula digestiva.

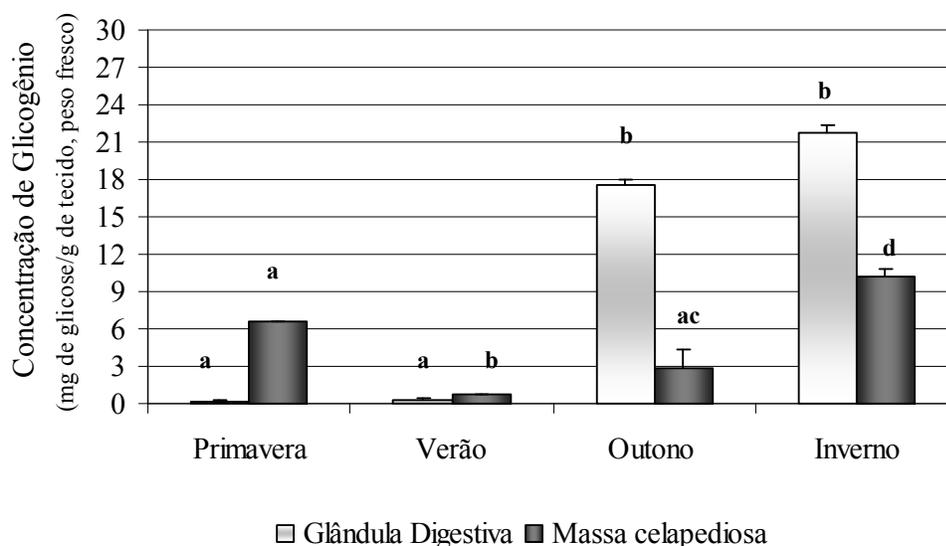


Gráfico 18 – Concentração de glicogênio expressa como mg de glicose/g de tecido, peso fresco, nos tecidos da glândula digestiva e massa cefalopiedosa de moluscos adultos da espécie *Bulimulus tenuissimus* na Primavera, Verão, Outono e Inverno.

*Médias seguidas de letras desiguais diferem estatisticamente (Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls $p < 0,05$).

Inversamente ao glicogênio, para o galactogênio foi registrada tendência à redução gradual da concentração da Primavera para o Inverno. Os maiores índices desse polissacarídeo foram verificados na Primavera, seguida pelo verão e outono. No inverno verificou-se concentração mínima ($H=17,35$, $p=0,0006$) (Gráfico 19).

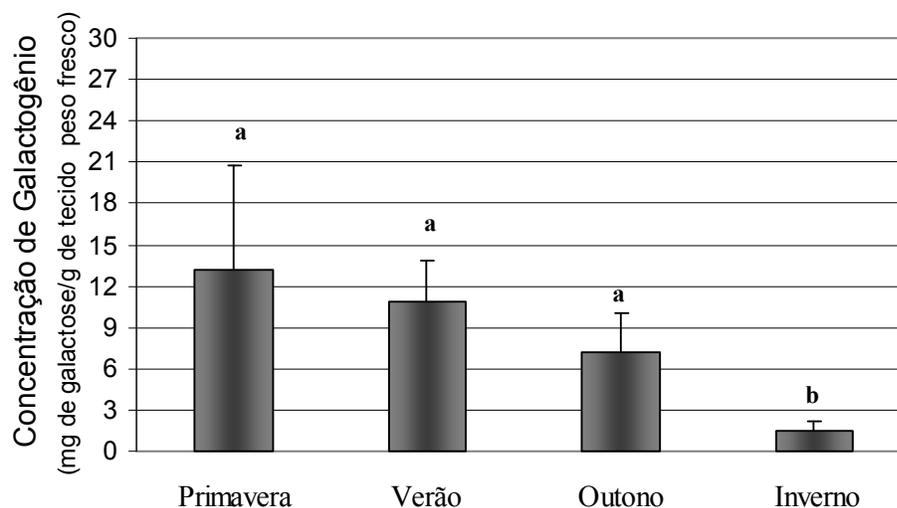


Gráfico 18 - Concentração de galactogênio, expressa como mg de galactose/g de tecido, peso fresco, expressa como mg de galactose/g de tecido, peso fresco, na glândula de albúmen de *Bulimulus tenuissimus* na Primavera, Verão, Outono e Inverno.

* Médias seguidas de letras desiguais diferem estatisticamente (Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls $p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Moluscos terrestres são sensíveis a variações ambientais, sendo estas, muitas vezes, fatores limitantes ao desenvolvimento e a sobrevivência desses animais (LEAHY, 1984; BARRIENTOS, 1998; AZEVEDO *et al.*, 1996; D'ÁVILA *et al.*, 2004; JUNQUEIRA, 2008; DÁVILA & BESSA, 2005). Desse modo, processos como a espermiogênese, oogênese, além dos comportamentos de corte e cópula podem ser grandemente influenciados por variáveis como temperatura, umidade e fotoperíodo (HESS & PRIOR, 1985; FURTADO *et al.* 2004). Tais fatores atuam como reguladores de diversos processos metabólicos dos moluscos que podem gerar variações comportamentais e reprodutivas nos animais (DAINTON, 1954; SOUTH, 1992).

Bulimulus tenuissimus apresenta sazonalidade reprodutiva (SILVA *et al.*, 2008), sendo também registrada, por esse estudo, a variação sazonal no conteúdo energético dessa espécie. Houve redução e acúmulo de glicogênio durante os períodos de produção de ovos e ausência de atividade reprodutiva, respectivamente. Para o galactogênio foi registrado o oposto, ou seja, maior concentração nas estações reprodutivas e redução nas demais estações.

A influência da sazonalidade nas reservas energéticas foi registrada para outras espécies de moluscos terrestres tais como *Megalobulimus oblongus* (Müller, 1774) (DA SILVA

& ZANCAN, 1994) e *Megalobulimus abbreviatus* (Bequaert, 1948) (HORN ET AL., 2005). Tal variação pode ser relacionada a alterações metabólicas ocasionadas por variações ambientais e também a mobilização de energia durante o ciclo reprodutivo (WAYNE, 2001).

No período seco e frio, muitos moluscos entram em processo de estivação/hibernação, sendo que a energia acumulada será utilizada para manter a integridade do organismo, o que leva a redução das reservas energéticas (STOREY, 2002). Porém, o oposto foi registrado em relação à concentração de glicogênio na glândula digestiva e massa cefalopediosa dos animais nesse estudo.

Em *Helix pomatia* (Linné, 1758), verificou-se a deposição de glicogênio nos tecidos no outono, ou seja, período que antecede a hibernação dessa espécie, durante a qual foi reduzida (JOOSSEE, 1988). Em *Megalobulimus oblongus* foi registrada redução do conteúdo desse substrato na glândula digestiva, durante o inverno, porém nos músculos a essa redução não foi significativa (DA SILVA & ZANCAN, 1994). Em *B. tenuissimus*, entretanto, observou-se a maior concentração de glicogênio em ambos os tecidos avaliados no período Outono-Inverno. Contudo, não se observa o processo de estivação dessa espécie em laboratório, ocorrendo apenas redução da atividade, mas a não interrupção desta durante o Inverno. Desse modo, sugere-se que o acúmulo sazonal de reservas pode garantir a sobrevivência dos moluscos no ambiente durante períodos de condições ambientais desfavoráveis.

Observou-se também a mobilização das reservas da glândula digestiva na primavera, sendo as reservas da massa cefalopediosa utilizadas após a redução dessas. Tais resultados são coerentes aos verificados para outras espécies, tanto em relação ao investimento energético para a reprodução quanto para estivação (DA SILVA & ZANCAN, 1994).

A concentração de galactogênio também variou segundo o período reprodutivo de *B. tenuissimus*, sendo alta nas estações nas quais ocorre atividade reprodutiva (Primavera e Verão) e baixa nos demais períodos. A alta concentração desse polissacarídeo nos meses de Primavera-Verão indica a disponibilidade deste para a produção de vitelo que nutrirá o embrião durante o desenvolvimento (STICKLE, 1975). A redução do conteúdo de glicogênio, concomitante à elevação da concentração de galactogênio sugere o aumento da interconversão de glicose em galactose (NEEDHAN, 1933; BROOKS & STOREY, 1990; PINHEIRO, 1996).

A redução do peso médio dos tecidos da glândula digestiva verificada em *B. tenuissimus* também foi observada em *M. oblongus*, sendo tal redução relacionada ao período de inatividade da espécie (DA SILVA & ZANCAN, 1994).

A glândula de albúmen em moluscos apresenta maior desenvolvimento na fase de reprodução dos animais, e indica a maturação do sistema feminino (DA SILVA & ZANCAN,

1994; HORN, *et al.*, 2005) o que pode também explicar a elevação do peso médio desse órgão, nos períodos de Primavera-Verão, para *B. tenuissimus*. Além disso, pode-se inferir que a redução do glicogênio nesses períodos está diretamente relacionada à oogênese e síntese de galactogênio nessa espécie.

As concentrações de glicogênio e galactogênio podem estar sujeitas às variações ambientais, sendo o fotoperíodo um fator determinante na síntese de glicogênio. Assim, dias curtos (Outono-Inverno) tendem a estimular a síntese, enquanto dias longos (Primavera-Verão) tendem a inibi-la. Desse modo, no período de Outono-Inverno há tendência de aumento do conteúdo de glicogênio conforme o verificado em *B. tenuissimus* (JOOSSE & GERAERTS, 1983; WAYNE, 2001; DE FRAGA *et al.*, 2004; GARCIA & PINHEIRO, 2007). Segundo GOMOT *et al.* (1989), os efeitos do fotoperíodo na reprodução devem-se principalmente à inibição da maturação dos gametas e síntese de albúmen pela glândula de albúmen. Tais autores sugerem que isso ocorre devido à inibição hormonal.

Resultados semelhantes também foram verificados para *Lymnaea stagnalis* (Linné, 1758), para a qual o aumento do comprimento do dia, verificado no período de outono-inverno, ocasionou aumento da conversão de glicose em galactose e, conseqüentemente, dos níveis de galactogênio na glândula de albúmen (VAN ELK & JOOSSE, 1981).

Alterações nas condições de temperatura e umidade também podem levar a alterações metabólicas em moluscos (GOMOT *et al.*, 1989; SOUTH, 1992; LAZARIDOU-DIMITRIADOU & BAILEY, 1994; HOMMAY *et al.*, 2001; NOWAKOWSKA *et al.*, 2006; UDAKA *et al.*, 2007). Entretanto, em *B. tenuissimus* não foi estabelecida uma relação entre tais fatores e reprodução (SILVA, *et al.*, 2008). Essas autoras sugeriram que o fotoperíodo pode estar relacionado à regulação do ciclo reprodutivo dessa espécie.

Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram a variação sazonal do conteúdo de glicogênio e galactogênio, os quais são coincidentes com o ciclo reprodutivo de *B. tenuissimus*, evidenciando que a sazonalidade reprodutiva parece ser controlada por fatores metabólicos. Estudos mais abrangentes são necessários para esclarecer como ocorre a regulação metabólica da reprodução.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUDO, I. 2008. I. **Moluscos na Condição de Pragas no Brasil**, <http://www.conchasbrasil.org.br/default2.asp>, acessado em 20 de agosto de 2008.
- ANSART, A.; MADEC, L & P. VERNON. 2007. Supercooling ability is surprisingly invariable in eggs of the land snail *Cantareus aspersus*. **Cryobiology** **54**: 71–76.
- AZEVEDO, V.P.B.; PINHEIRO, J.; CHAGAS, G.M. & E.M. GOMES. 1996. Determinação do conteúdo de galactogênio na glândula de albúmen de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Gastropoda). **Revista da Universidade Rural Série Ciências e Vida** **18** (1-2): 95-99.
- BARROS-ARAÚJO, J.L. 1982. Alguns moluscos terrestres como hospedeiros intermediários de animais domésticos, no Brasil: estudos sobre a anatomia sistemática e participação em helmintos. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- BARRIENTOS, Z. 1998. Life history of the terrestrial snail *Ovachlamys fulgens* (Stylommatophora: Helicarionidae) under laboratory conditions. **Revista de Biología Tropical** **46** (2): 369-384.
- BESSA, E.C.A. & J.L.B. ARAÚJO. 1996. Influência da alimentação com ração concentrada no desenvolvimento de *Subulina octona* Bruguière, 1789 (Mollusca: Subulinidae) em condições de laboratório. **Boletim Instituto Ciências Biológicas** **47**: 21-27.
- BROOKS, S.P.J. & K.B. STOREY. 1990. Glycolytic enzyme binding and metabolic control in estivation and anoxia in the land snail *Otala lactea*. **Journal Experimental Biology** **151**: 193-204.
- CONFORT, A. 2008. Biological aspects of senescence. **Biological Review**, **29** (3):284-329.
- DAINTON, B.H. 1954. The activity of slugs I. the induction of activity by changing temperatures. **Journal of Experimental Biology** **31**: 165-187.

- D'ÁVILA, S.; DIAS, R.; BESSA, E.C.A & E. DAEMON. 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. & E.C.A. BESSA. 2005. Influência de diferentes substrato e umidade sobre o crescimento e o número de ovos produzidos por *Subuina octona* (Brugüière) (Mollusca, Subulinidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** 22 (2): 349-353.
- DA SILVA, R.S.M. & D.M. ZANCAN. 1994. Seasonal variation of the carbohydrate and lipid in a land pulmonate gastropod, *Megalobulimus oblongus*. **Comparative Biochemistry Physiology** 108: (2/3), 337-341.
- DE FRAGA, S.L., DA SILVA, R.S.M.; ACHAVAL, M. & D.M. ZANCAN. 2004. Carbohydrate metabolism in the central nervous system of the *Megalobulimus oblongus* snail during anoxia exposure and post-anoxia recovery. **Journal of Experimental Zoology** 301: 968-978.
- DUNCAN, C.J. 1975. Reproduction. 309-365 p. *In*: FRETTER, V. & J. PEAKE. 1975. **Pulmonates** Academic Press. London. 417 p.
- FURTADO, M.C.V., BESSA, E.C.A. & M.C.M. CASTANÕN. 2004. Ovoteste de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Xanthonychidae): histologia e produção de gametas. **Revista Brasileira de Zoociências** 6: 7-17.
- HYMAN, L. H. 1967. **The invertebrates: Mollusca I**. Vol. VI. MC Graw-Hill Book Company. New York. 792p.
- GARCIA, T.A. & J. PINHEIRO. 2007. The photoperiod may modulate the carbohydrate metabolism of *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae). **Revista Brasileira de Zoociências** 9 (1): 7-12.

- 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.
- GOMOT, P.; GOMOT, L. & B. GRIFFOND. 1989. Evidence for a light compensation of the inhibition of reproduction by low temperatures in the snail *Helix aspersa*. Ovotestis and albumen gland responsiveness to different conditions of photoperiods and temperatures. **Biology of Reproduction** **40**: 1237-1245.
- HELLER, J. 1990. Longevity in Molluscs. **Malacologia** **31** (2): 259-295.
- HELLER, J. 2001. Life History Strategies. 413-445 p. *In*: BARKER, G. M. 2001 (Ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. CABI Publishing. 552p.
- HESS, S.D. & D.J. PRIOR. 1985. Locomotor activity of the terrestrial slug, *Limax maximus*: response to progressive dehydration. **Journal Experimental Biology** **116**: 323-330.
- HOMMAY, G. KIENLEN, J. C.; GERTZ, C. & A. HILL. 2001. Growth and reproduction of the *Limax valentianus* Férussac in experimental conditions. **Journal of Molluscan Studies** **67**: 191-207.
- HORN, A.C.; ACHAVAL, M. & D. ZANCAN. 2005. The annual reproductive cycle of the snail *Megalobulimus abbreviatus* (Bequaert, 1948) (Gastropoda, Pulmonata). **Brazilian Journal of Biology** **65** (3): 459-467.
- HYMAN, L. H. 1967. **The invertebrates: Mollusca I**. Vol. VI. MC Graw-Hill Book Company. New York. 792p.
- IGLESIAS, J.; SANTOS, M. & J. CASTILLEJO. 1996. Annual activity cycles of the land snail *Helix aspersa* Müller in natural populations in north-western Spain. **Journal of Molluscan Studies** **62**: 495-505.

- JOOSSE, J. & W.P.M. GERAERTS. 1983. Endocrinology. *In*: Saleuddin ASM, Wilbur KM, editors. The Mollusca. New York: Academic Press. p 317–406.
- JOOSSE, J. 1988. The hormones of molluscs. *In*: **Invertebrate Endocrinology, Endocrinology of selected invertebrate typos**. LAUFER, H. & DOWNER, R.G.H. (ed.). 89-140 p.
- JUNQUEIRA, F.O.; ARÉVALO, E.G. & E.C.A. BESSA 2008. Influência do substrato sobre aspectos do ciclo de vida de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Biociências** 6 (4): 347-354.
- LAZARIDOU-DIMITRIADOU, M. & E.R. BAILEY. 1994. Effect of temperatura on noradrenaline and adrenaline contents in the brain of a terrestrial slug *Laevicaulis alte* (Férussac) (Gastropoda, Soleolifera) **Apex** 9 (1): 1-4.
- LEAHY, W. 1984. Aspectos adaptativos de *Bradybaena similaris* Férussac, 1821 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) submetido ao jejum e dessecação. **Boletim de Fisiologia Animal** 5: 47-55.
- NEEDHAN, J. 1933. Chemical embryology. **Annual Reviews-Biochemistry** 2: 337-354.
- NOWAKOWSKA, A. CAPUTA, M. & J. ROGALSKA. 2006. Seasonal changes in cryoprotectans concentrations in *Helix pomatia* snails. **Journal of Physiology and Pharmacology** 97 (8): 93-105.
- PINHEIRO, J. 1996. Influence of starvation on the glycogen and galactogen contents in the snail *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Gastropoda). **Arquivos de Biologia e Tecnologia** 39: 349-357.
- PINHEIRO, J. & E.M. GOMES. 1994. A method for glicogen determination in molluscs. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** 37(3): 569-576.

- PINHEIRO J. & S.B. AMATO. 1994. *Eurytrema coelomaticum*(Digenea, Dicrocoeliidae): the effect of infection on carbohydrate contents of intermediate snail host, *Bradybaena similaris* (Gastropoda, Xanthonychidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **89**: 407-410.
- PORCEL, D.; BUENA, J. D. & A. ALMENDROS. 1996. Alterations in the digestive gland and shell of the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata) after prolonged starvation. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry** - **115**(1): 11-17.
- REES, B.B. & S.C. HAND. 1993. Biochemical correlates of estivation tolerance in the mountain snail *Oreohelix* (Pulmonata: Oreohelicidae). **Biological Bulletin** **184**: 230–242.
- ROSSI, I.C. & R.S.M. DA SILVA. 1993. Effects of starvation and a carbohydrate-rich diet on glycogen metabolism in a gastropod mollusc, *Megalobulimus oblongus*. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology** **106**: 831–836.
- ROSA, R.; COSTA, P.R. BANDARRA, N. & M.L. NUNES. 2005. Changes in tissue biochemical composition and energy reserves associated with sexual maturation in the ommastrephid squids *Illex coindetii* and *Todaropsis eblanae*. **Biology Bulletin** **208**: 100–113.
- SILVA, L.C.; MEIRELES, L.M.O.; JUNQUEIRA, F.O. & E.C.A. BESSA. 2008. Development and reproduction in *Bulimulus tenuissimus* (Mollusca, Bulimulidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Zoologia** **25** (2): 220-223.
- SIMONE, L.R.L. 1999. Mollusca Terrestres. *In*: Brandão, C.R. & E.M. Canello, (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX: Invertebrados Terrestres**. 1ª ed. São Paulo: FAPESP, 538p.
- SIMONE, L.R.L. 2006. **Land and freshwater molluscs of Brazil**. São Paulo. EGB, FAPESP. 390p.

- SOUTH, H. 1992 . A comparison of the life cycle of *Deroceras reticulatum* (Müller) and *Arion intermedius* Normand (Pulmonata: Stylommatophora) at different temperatures under laboratory conditions. **Journal of Molluscan Studies** **48**: 233-244.
- STICKLE, W. 1975. The reproductive physiology of the intertidal prosobranch *Thais lamellosa* (Gmelin). II Seasonal change in biochemical composition. **Biology Bulletin** **148**: 448-460.
- STOREY, K.B. 2002. Life in the slow lane: molecular mechanisms of estivation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A** **133**: 733–754.
- SUMNER, J.B. 1925. A method for colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry** **65**: 393.
- THIENGO, S. C. & S.B. AMATO. 1995. *Phyllocaullis variegatus* (Mollusca: Veronicellidae), A new intermediate host for *Brachylaima* sp. (Digenea: Brachylaimatidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **90** (5): 14-18.
- THOMÉ, J. W.; S. R. GOMES & J. B. PÍCANÇO. 2006. **Guia ilustrado: os caracóis e as lesmas dos nossos bosques e jardins**. Pelotas, USEB, 123p.
- 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.
- VAN ELK, R. & J. JOOSSE, 1981. The UDP galactose 4 epimerase of the albumen gland of *Lymnaea stagnalis* and the effects of photoperiod, starvation and trematode infections on its activity. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry** **70**: 45-52.
- WAYNE, N. L. 2001. Regulation of Seasonal Reproduction in Mollusks. **Journal of biological rhythms** **16** (4): 391-402.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesse estudo mostram que a espécie *B. tenuissimus* adotou a iteroparidade como estratégia reprodutiva e ciclo de vida longo em condição de agrupamento.

Além disso, a espécie mostrou ser capaz de alterar a forma de alocação de recursos entre os parâmetros de crescimento, reprodução de acordo com as condições na qual está submetida. Tal capacidade, denominada plasticidade de ciclo de vida indica a possível capacidade de adaptação a condições adversas no ambiente natural.

A longevidade dos moluscos variou segundo a forma de criação, e este parâmetro foi dependente da forma de distribuição dos recursos entre o crescimento e a fecundidade.

Observou-se a existência de relação entre a fecundidade e o tamanho corporal na reprodução por autofecundação. Isso indica que o maior investimento em crescimento possa ser uma estratégia para garantir um aumento no sucesso reprodutivo quando os animais se reproduzem por esse processo.

Moluscos de diferentes idades apresentaram variação quanto à concentração de glicogênio e galactogênio, estando tal variação provavelmente relacionada ao estado reprodutivo dos animais. O acúmulo de glicogênio na glândula digestiva de *B. tenuissimus* durante a fase adulta sugere que a energia empregada para a reprodução seja proveniente da ingestão de alimento, não sendo identificado, portanto, a mobilização de reservas do órgão de reserva para o trato reprodutivo.

Do mesmo modo, foi verificada a variação sazonal desses substratos, as quais foram coincidentes com o ciclo reprodutivo da espécie. Assim, acredita-se que a conversão de reservas, bem como o período de reprodução seja controlada por fatores ambientais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUDO, I. 2008. **Moluscos na Condição de Pragas no Brasil**, <http://www.conchasbrasil.org.br/default2.asp>, acessado em 20 de agosto de 2008.
- ALON, G.; SHORE, L.S. & Y. STEINBERGER. 2007 Correlation between levels of sex hormones (progesterone, testosterone, and estrogen) and ecophysiological-behavior stages in two species of desert snails (*Sphincterochila zonata* and *Sphincterochila prophetarum*) in the Northern Negev Desert . **General and Comparative Endocrinology** **155** (1): 122-127.
- ALMEIDA, M. N. & E.C.A BESSA. 2000. Efeito da densidade populacional sobre o crescimento e a reprodução de *Bradybaena similaris* (Férussac) (Mollusca, Xanthonychidae) e *Leptinaria unilamelata* (d' Orbgny, 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* (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 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.
- AZEVEDO, V.P.B.; PINHEIRO, J.; CHAGAS, G.M. & E.M. GOMES. 1996. Determinação do conteúdo de galactogênio na glândula de albúmen de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Gastropoda). **Revista da Universidade Rural Série Ciências e Vida** **18**(1-2): 95-99.

- BARRIENTOS, Z. 1998. Life history of the terrestrial snail *Ovachlamys fulgens* (Stylommatophora: Helicarionidae) under laboratory conditions. **Revista de Biología Tropical**, **46** (2): 369-384.
- BARROS-ARAÚJO, J.L.; H.E.B.; REZENDE. & P.A.F. RODRIGUES. 1960. Sobre “*Bulimulus tenuissimus*” (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Pulmonata). **Revista Brasileira de Biologia** **20** (1): 33-42. figs. 1-23.
- BARROS-ARAÚJO, J.L. 1982. Alguns moluscos terrestres como hospedeiros intermediários de animais domésticos, no Brasil: estudos sobre a anatomia sistemática e participação em helmintoses. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 82p.
- BAUR, B. 1994. Parental care in terrestrial gastropods. **Experimentia** **50**, 5-14.
- BAUR, B. & C. RABOUD, 1988. Life history of the land snail *Arianta arbustorum* along an altitudinal gradient. **Journal of Animal Ecology**, **57**, 71-87.
- BAUR, B. 1989. Growth and reproduction of the minute snail *Punctum pygmaeum* (Draparnaud). **Journal of Molluscan Studies**, **55**, 383-387.
- BESSA, E.C.A. & J.L.B. ARAÚJO. 1995. 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. 1996. Influência da alimentação com ração concentrada no desenvolvimento de *Subulina octona* Brugüière, 1789 (Mollusca: Subulinidae) em condições de laboratório. **Boletim Instituto Ciências Biológicas** **47**: 21-27.
- BIDART, L.; A. FERNÁNDEZ & C. IGLESIAS. 1998. Reproducción de *Polymita muscarum* y *Polymita venusta* (Stylommatophora: Helminthoglyptidae). **Revista de Biología Tropical** **46** (3): 683-689.
- BREURE, A.S.H. 1979. Taxonomical, ecological and zoogeographical reserch on Bulimulidae. **Malacologia** **18**: 107-114.

- BROKORDT, K. & H. GUDERLEY. 2004. Binding of glycolytic enzymes in adductor muscle of Iceland scallop *Chlamys islandica* is altered by reproductive status. **Marine Ecology Progress Series 268**: 141-149.
- BROOKS, S.P.J. & K.B. STOREY. 1990. Glycolytic enzyme binding and metabolic control in estivation and anoxia in the land snail *Otala lactea*. **Journal Experimental Biology 151**: 193-204.
- CARVALHO, C.M.; BESSA, E.C.A. & S. DÁVILA. 2008. Life history strategy of *Bradybaena similaris* (Fèrussac, 1821) (Mollusca, Pulmonata, Bradybaenidae). **Molluscan Resource** (no prelo).
- CLARK, A.; P.G. RODHOUSE & D.J. GORE. 2004. Biochemical composition in relation to the energetics of growth and sexual maturation in the ommastrephid squid *Illex argentinus*. **Philosophical Transactions of the Royal Society Biological 344**: 201-212.
- CICHON, M. 1999. Growth after maturity as a suboptimal strategy. **Acta Oecologica 20** (1): 25-28.
- CONFORT, A. 2008. Biological aspects of senescence. **Biological Review 29** (3):284-329.
- COOK, A. 2001. Behavioural ecology: on doing the right thing, in the right place at the right time. 445-488 p. In: BARKER, G. M. 2001 (Ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. CABI Publishing. 552p.
- COWIE, H.R. 1984. The life cycle and productivity of the land snail *Theba pisana* (Mollusca, Helicidae). **Journal of Animal Ecology 53**: 311-325.
- DAINTON, B.H. 1954. The activity of slugs I. the induction of activity by changing temperatures. **Journal of Experimental Biology 31**: 165-187.

- DA SILVA, R.S.M. & D.M. ZANCAN. 1994. Seasonal variation of the carbohydrate and lipid in a land pulmonate gastropod, *Megalobulimus oblongus*. **Comparative Biochemistry Physiology** **108** (2/3): 337-341.
- D'ÁVILA, S.; DIAS, R.; BESSA, E.C.A & E. DAEMON. 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. 2005. Influência de diferentes substratos e umidade sobre o crescimento e número de ovos produzidos por *Subulina octona* (Brugüière) (Mollusca, Subulinidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** **22** (1): 349-353.
- DE FRAGA, S.L., DA SILVA, R.S.M.; ACHAVAL, M. & D.M. ZANCAN. 2004. Carbohydrate metabolism in the central nervous system of the *Megalobulimus oblongus* snail during anoxia exposure and post-anoxia recovery. **Journal of Experimental Zoology** **301**: 968-978.
- DIAS, R.J. P.; BESSA, E.C.A. & S. D'ÁVILA. 2007. Influence of substrate humidity on desiccation resistance capacity in *Subulina octona* (Mollusca, Subulinidae). **Brasilian Archives of Biology and technology** **50** (1): 137-140.
- DIMITRIEVA, E. F. 1975. The influence of temperature and moisture of the upper soil layer on the hatching intensity of the slug *Deroceras reticulatum* Müller. **Malacological Review** **10**: 32-45.
- DREON, M.S., HERAS, H. & R.J. POLLERO. 2006. Biochemical composition, tissue origin and functional properties of egg perivitellins from *Pomacea canaliculata*. **Biocell** **30** (2): 359-365.
- DUNCAN, C.J. 1975. Reproduction. 309-365 p. *In*: FRETTER, V. & J. PEAKE. 1975. **Pulmonates**. Academic Press. London. 417 p.

- FANTIN, A.M.B. & E. VIGO, 1968. Histochemistry of the glands associated with the reproductive tract of *Lymnaea stagnalis*. **Histochemistry and Cell Biology** **15**: 300-311.
- FISCHER, M.L. & E. COLLEY. 2005. Espécie invasora em reservas naturais: caracterização da população de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca-Achatinidae) na Ilha Rasa, Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. **Biota Neotropica** **5** (1): 1-18.
- FURTADO, M.C.V., BESSA, E.C.A. & M.C.M. CASTANÕN. 2004. Ovoteste de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Xanthonychidae): histologia e produção de gametas. **Revista Brasileira de Zoociências** **6**: 7-17.
- GARCIA, T.A. & J. PINHEIRO. 2007. The photoperiod may modulate the carbohydrate metabolism of *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae). **Revista Brasileira de Zoociências** **9** (1): 7-12.
- 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.
- GOMOT, P.; GOMOT, L. & B. GRIFFOND. 1989. Evidence for a light compensation of the inhibition of reproduction by low temperatures in the snail *Helix aspersa*. Ovotestis and albumen gland responsiveness to different conditions of photoperiods and temperatures. **Biology of Reproduction** **40**: 1237-1245
- GOUDSMIT, E. 1995. Neurosecretory stimulation of galactogen synthesis within the *Helix pomatia* albumen gland during organ culture. **Journal Experimental Biology** **191** (2): 193-198.
- HAUSDORF, B. 2003. Latitudinal and altitudinal body size variation among north-west European land snail species. **Global Ecology & Biogeography** **2** (5): 389-394(6)
- HELLER, J. 1982. Natural history of *Theba pisana* in Israel. **Journal of Zoology** **196**: 475-487.

- HELLER, J. 1990. Longevity in Molluscs. **Malacologia** **31** (2): 259-295.
- HELLER, J. Hermafroditism in mollusks. 1993. **Biological Journal of the Linnaean Society** **48**: 19-42.
- HELLER, J. 2001. Life History Strategies. 413-445 p. *In*: BARKER, G. M. 2001 (Ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. CABI Publishing. 552p.
- HESS, S.D. & D.J. PRIOR. 1985. Locomotor activity of the terrestrial slug, *Limax maximus*: response to progressive dehydration. **Journal Experimental Biology** **116**: 323-330.
- HODASI, J.K.M. 1979. Life-history studies of *Achatina (Achatina) achatina* (Linné). **Journal of Molluscan Studies** **45**: 328-329.
- HOMMAY, G. KIENLEN, J. C.; GERTZ, C. & A. HILL. 2001. Growth and reproduction of the *Limax valentianus* Férussac in experimental conditions. **Journal of Molluscan Studies** **67**: 191-207.
- HORN, A.C.; ACHAVAL, M. & D. ZANCAN. 2005. The annual reproductive cycle of the snail *Megalobulimus abbreviatus* (Bequaert, 1948) (Gastropoda, Pulmonata). **Brazilian Journal of Biology** **65** (3): 459-467.
- HYMAN, L. H. 1967. **The invertebrates: Mollusca I**. Vol. VI. MC Graw-Hill Book Company. New York. 792p.
- IGLESIAS, J.; SANTOS, M. & J. CASTILLEJO. 1996. Annual activity cycles of the land snail *Helix aspersa* Müller in natural populations in north-western Spain. **Journal of Molluscan Studies** **62**: 495-505.
- JOOSSE, J. & W.P.M. GERAERTS. 1983. Endocrinology. *In*: SALEUDDIN, ASM & K.M. WILBUR editors. **The Mollusca**. New York: Academic Press. p 317-406.

- JOOSSE, J. & R. VAN ELK. 1986. *Trichobilharzia ocellata*: physiological characterization of giant growth, glycogen depletion, and absence of reproductive activity in the intermediate snail host, *Lymnaea stagnalis*. **Experimental Parasitology** **62** (1): 1-13.
- JOOSSE, J. 1988. The hormones of molluscs. *In: Invertebrate Endocrinology, Endocrinology of selected invertebrate typos*. LAUFER, H. & DOWNER, R.G.H. (ed.). 89-140 p.
- JORDAENS, K.; PINCEEL, J. & T. BACKELJAU. 2006. Life-history variation in selfing multilocus genotypes of the land slug *Deroceras laeve* (Pulmonata: Agriolimacidae). **Journal of Molluscan Studies** **72**: 229–233.
- JOHNSON, M.S. & R. BLACK, 1991. Growth, survivorship, and population size in the land snail *Rhagada convicta* Cox, 1870 (Pulmonata: Camaenidae) from a semiarid environment in Western Australia. **Journal of Molluscan Studies** **57**: 367-374.
- JUNQUEIRA, F.O.; ARÉVALO, E.G. & BESSA, E.C.A. 2008. Influência do substrato sobre aspectos do ciclo de vida de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Biociências** **6** (4): 347-354.
- KISS, L.; LAUBANE, C.; MAGNIN, F. & S. AUBRY. 2005. Plasticity of the life cycle of *Xeropicta derbentina* (Krynicky, 1836), a recently introduced snail in Mediterranean France. **Journal of Molluscan Studies** **71**: 221-231.
- LANGE-DE-MORRETES, F.L., 1949. Contribuição ao estudo da fauna brasileira de moluscos. **Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia** **3** (7): 111-126.
- LAZARIDOU-DIMITRIADOU, M. & E.R. BAILEY. 1994. Effect of temperatura on noradrenaline and adrenaline contents in the brain of a terrestrial slug *Laevicaulis alte* (Férussac) (Gastropoda, Soleolifera) **Apex** **9** (1): 1-4.
- LEAHY, W. 1980. Aspectos adaptativos de *Bradybaena similaris* Ferussac, 1821 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) submetido ao jejum e dessecação. **Boletim de Fisiologia Animal** **5**: 131-138.

- LEAHY, W. 1984. Aspectos adaptativos de *Bradybaena similaris* Férussac, 1821 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) submetido ao jejum e dessecação. **Boletim de Fisiologia Animal** 5: 47-55.
- LOCHER, R. & B. BAUR. 2002. Nutritional stress changes sex-specific reproductive allocation in the simultaneously hermaphroditic land snail *Arianta arbustorum*. **Functional Ecology** 16: 623-632.
- MADEC, L.; DESBUQUOIS, C. & M.A. COUTELLEC-VRET. 2000. Phenotypic plasticity in reproductive traits: Importance in the life history of *Helix aspersa* (Mollusca: Helicidae) in a recently colonized habitat. **Biological Journal of the Linnaean Society** 69: 25-39.
- MEIRELES, L.M.O.; SILVA, L.C.; JUNQUEIRA, F.O. & E.C.A. BESSA. 2007. Relação entre comprimento da concha e produção de ovos em *Bulimulus tenuissimus* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Bulimulidae) In: XXX Semana de Biologia, XIII Mostra de Produção Científica, V Feira Municipal de Ciências e II Mostra de Paleobiodiversidade. Juiz de Fora.
- MEIRELES, L.M.O.; SILVA, L.C.; JUNQUEIRA, F.O. & E.C.A. BESSA. 2008. The influence of diet and isolation on growth and survival in the land snail *Bulimulus tenuissimus* (Mollusca: Bulimulidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Zoologia**, 25 (2): 224-227.
- MAY, E. 1932. Über den Galaktogengehalt der von *Helix pomatia*. **Zeitschrift für Biologie** 92: 325-330.
- NEEDHAN, J. 1933. Chemical embryology. **Annual Reviews - Biochemistry** 2: 337-354.
- NORTON, C.G. & J.M. BRONSON. 2006. The relationship of body size and growth to egg production in the hermaphroditic freshwater snail, *Helissoma tricolvis*. **Jornal of Molluscan Studies** 72: 143-147.

- NOWAKOWSKA, A. CAPUTA, M. & J. ROGALSKA. 2006. Seasonal changes in cryoprotectants concentrations in *Helix pomatia* snails. **Journal of Physiology and Pharmacology** **97** (8): 93-105.
- OLIVEIRA, M.P.; E.L. ALMEIDA; I. VIEIRA, & M.H.R. OLIVEIRA. 1968. **Comunicação nº 1. Criação de Moluscos em Terrários e Aquários (Uma experiência em laboratório.** Juiz de Fora. Esdeva, 15p.
- PINHEIRO, J. & E.M. GOMES. 1994. A method for glycogen determination in molluscs. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **37** (3): 569-576.
- PINHEIRO J. & S.B. AMATO. 1994. *Eurytrema coelomaticum*(Digenea, Dicrocoeliidae): the effect of infection on carbohydrate contents of intermediate snail host, *Bradybaena similaris* (Gastropoda, Xanthonychidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **89**: 407-410.
- PINHEIRO, J. 1996. Influence of starvation on the glycogen and galactogen contents in the snail *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Gastropoda). **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **39**: 349-357.
- PORCEL, D.; BUENA, J. D. & A. ALMENDROS. 1996. Alterations in the digestive gland and shellof the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata) after prolonged starvation. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry** **115** (1): 11-17.
- RAUT, S.K. & A. PANIGRAHI. 1988. Egg-nesting in the garden slug *Laevicaulis alte* (Férussac) (Grastropoda: Soleolifera). **Malacological Review** **21**: 101-107.
- REES, B.B. & S.C. HAND. 1993. Biochemical correlates of estivation tolerance in the mountain snail *Oreohelix* (Pulmonata: Oreohelicidae). **Biological Bulletin** **184**: 230–242.
- REZENDE, H.E.B. & P.D. LANZIERI. 1964. Observações anatômicas e histológicas sobre “*Bulimulus tenuissimus*” (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Pulmonata, Bulimulidae). **Revista Brasileira de Biologia** **24** (4): 409-415.

- REYES- TUR B. & O. RAMIRES-ÁLVAREZ, 2002. Dinámica de los subnichos ecológicos em el molusco terrestre *Polymita venusta* Gmelin 1792, (Stylommatophora; Helminthoglyptidae) en Mayari, Cuba. **Revista Biología 16** (1): 27-33.
- RICKFLES, R.E. 2004. **A economia da natureza**. Quinta Edição. Guanabara Koogn S.A. Rio de Janeiro. 503p.
- ROSA, R.; P.R. COSTA & M.L. NUNES. 2004. Effect of the sexual maturation on the tissue biochemical composition of *Octopus vulgaris* and *O. defilippi* (Mollusca, Cephalopoda). **Marine Biology 145**: 563-574.
- ROSA, R.; COSTA, P.R. BANDARRA, N. & M.L. NUNES. 2005 Changes in tissue biochemical composition and energy reserves associated with sexual maturation in the ommastrephid squids *Illex coindetii* and *Todaropsis eblanae*. **Biology Bulletin 208**: 100–113.
- ROSSI, I.C. & R.S.M. DA SILVA. 1993. Effects of starvation and a carbohydrate-rich diet on glycogen metabolism in a gastropod mollusc, *Megalobulimus oblongus*. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology 106**: 831–836.
- SELANDER, R.K. & D.W. KAUFMAN. 1973. Self- Fertilization and Genetic Population Structure in a Colonizing Land Snail. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States** (4): 1186-1190.
- SILVA, L.C.; MEIRELES, L.M.O.; JUNQUEIRA, F.O. & E.C.A. BESSA. 2008. Development and reproduction in *Bulimulus tenuissimus* (Mollusca, Bulimulidae) in laboratory. **Revista Brasileira de Zoologia 25** (2): 220-223.
- SIMONE, L.R.L. 1999. Mollusca Terrestres. *In*: Brandão, C.R. & E.M.. Cancelllo, (Org.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX: Invertebrados Terrestres**. 1ª ed. São Paulo: FAPESP, 538p.

- SIMONE, L.R.L. 2006. **Land and freshwater molluscs of Brazil**. São Paulo. EGB, FAPESP. 390p.
- SOUTH, H. 1992 . A comparison of the life cycle of *Deroceras reticulatum* (Müller) and *Arion intermedius* Normand (Pulmonata: Stylommatophora) at different temperatures under laboratory conditions. **Journal of Molluscan Studies** **48**: 233-244.
- STAIKOU, A.E. 1998. Aspects of life cycle, population dynamics, growth and secondary production of the pulmonate snail *Cepaea vindobonensis* (Férussac, 1821) in northern Greece. **Journal of Molluscan Studies** **64**: 297-308.
- STAIKOU, A. & M. LAZARIDOU-DIMITRIADOU. 1990. Aspects of the cycle, populations dynamics growth and secondary production of the snail *Manacha cartusiana* (Müller, 1774) (Gastropoda, Pulmonata) in Greece. **Malacologia** **31**: 353-362.
- STEARNS, S.C. 1976. Life history tactics: a review of ideas. **Quarterly Review of Biology** **51**, 3-47.
- STEARNS, S. C. 1989 Trade- offs in life-history evolution. **Functional Ecology** **3**: 259-268.
- STICKLE, W. 1975. The reproductive physiology of the intertidal prosobranch *Thais lamellosa* (Gmelin). II Seasonal change in biochemical composition. **Biology Bulletin** **148**: 448-460.
- STOREY, K.B. 2002. Life in the slow lane: molecular mechanisms of estivation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A** **133**: 733-754.
- SUMNER, J.B. 1925. A method for colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry** **65**: 393.
- TELES, H.M.S & L.R. FONTES. 2002. Implicações da introdução e dispersão de *Achatina fulica* Bowdich, 1882 no Brasil. **Boletim do Instituto Adolfo Lutz** **12**: 3-5.

- THIENGO, S. C. & S.B. AMATO. 1995. *Phyllocaullis variegatus* (Mollusca: Veronicellidae), A new intermediate host for *Brachylaima* sp. (Digenea: Brachylaimatidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **90** (5): 14-18.
- TOMPA, A.S. 1979. Oviparity, egg retention and ovoviviparity in pulmonates. **Journal of Molluscan Studies** **45**: 155-160.
- TOMPA, A.S. 1984. Land snails (Stylomatophora). *In* TOMPA, A.; VERDONK, N.K. & J.M.W VAN DEN BIGGELAAR (eds). **The Mollusca Reproduction**. London, Academic Press **7**: 47-140p.
- THOMÉ, J. W.; S. R. GOMES & J. B. PICANÇO. 2006. **Guia ilustrado: os caracóis e as lesmas dos nossos bosques e jardins**. Pelotas, USEB, 123p.
- 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.
- VAN ELK, R. & J. JOOSSE, 1981. The UDP galactose 4 epimerase of the albumen gland of *Lymnaea stagnalis* and the effects of photoperiod, starvation and trematodes infections on its activity. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry** **70**: 45-52.
- ZANCAN, D.M. & M. ACHAVAL. 1995. Morphology of the dorsal body of the pulmonate mollusk *Megalobulimus oblongus* (Müller, 1774) and its seasonal variations. **Brazilian Journal of Medical and Biological Sciences** **55**: 1–11.
- WAYNE, N. L. 2001. Regulation of Seasonal Reproduction in Mollusks. **Journal of biological rhythms** **16** (4): 391-402.

- WILLIAMS, E.E. 1970. Seasonal variations in the biological composition of the edible winkle *Littorina littorea*(L.). *Comp. Biochem. Physiology* 33: 655-661.
- WOLDA, H. & D.A KREULEN. 1973. Ecology of some experimental populations the land snail *Cepaea nemoralis* (L.) Production and survival of eggs and juveniles. **Netherlands Journal of Zoology** 23: 17-22.

Anexos