



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

ÍNDIRA OLIVEIRA DA LUZ

**MORFOLOGIA RADULAR E DESCRIÇÃO DA ESTRUTURA  
POPULACIONAL E REPRODUTIVA DO MOLUSCO GASTRÓPODE  
*Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)**

FORTALEZA  
2021

ÍNDIRA OLIVEIRA DA LUZ

MORFOLOGIA RADULAR E DESCRIÇÃO DA ESTRUTURA  
POPULACIONAL E REPRODUTIVA DO MOLUSCO GASTRÓPODE  
*Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar, da Universidade Federal do Ceará, como parte do requisito para obtenção de título de Doutora em Ciências Marinhas Tropicais.

Orientadora: Prof. D.ra Helena Matthews-Cascon  
Coorientadora: Prof. D.ra Cristina de Almeida Rocha-Barreira

FORTALEZA  
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- L994m Luz, Índira Oliveira da.  
Morfologia radular e descrição da estrutura populacional e reprodutiva do molusco gastrópode *Hastula cinerea* (Born, 1778) (Conoidea: Terebridae) / Índira Oliveira da Luz. – 2021.  
98 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Profa. Dra. Helena Matthews-Cascon.  
Coorientação: Profa. Dra. Cristina de Almeida Rocha-Barreira.
1. molusco. 2. toxoglossa. 3. rádula. 4. histologia. 5. reprodução. I. Título.

CDD 551.46

---

ÍNDIRA OLIVEIRA DA LUZ

MORFOLOGIA RADULAR E DESCRIÇÃO DA ESTRUTURA  
POPULACIONAL E REPRODUTIVA DO MOLUSCO GASTRÓPODE  
*Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar, da Universidade Federal do Ceará, como parte do requisito para obtenção de título de Doutora em Ciências Marinhas Tropicais.

BANCA EXAMINADORA

---

D.ra Cristiane Xerez Barroso – Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceará  
(UFC)

---

D.ra Claudia Tasso Callil – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Mato Grosso  
(UFMT)

---

D.r Leonardo Santos de Souza – Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro  
(UFRJ)

---

D.r Sérgio Mendonça de Almeida – Centro de Ciências da Saúde Ciências da Vida,  
Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP)

Dedico esta tese ao meu querido amigo e mestre Elinsmar Vitória Adorno (*in memoriam*). Foi ele que me fez enxergar o mundo dos moluscos. Mais que um professor e orientador, foi um amigo. Para ele, com todo meu carinho! Minha eterna gratidão!

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais (PPGCMT) pelo apoio financeiro, logístico, acadêmico e social. Agradeço aos professores, servidores e estudantes.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), ao Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) e ao Departamento de Biologia pelo apoio logístico e ensinamentos.

À Central Analítica-UFC/CT-INFRA/MCTI-SISNANO/Pró-Equipamentos CAPES pelo apoio logístico e utilização dos equipamentos.

Ao SISBIO/IBAMA pela concessão da licença para coleta dos animais em campo.

Aos professores e pesquisadores participantes da banca examinadora desde a minha qualificação até a minha defesa (D.ra Cristiane Xerez, D.r Paulo Cascon e D.ra Magaline Girão, D.ra Cláudia Callil, D.r Leonardo Souza, D.r Sérgio de Almeida e D.r Luis Ernesto Bezerra).

À minha orientadora Professora Doutora Helena Matthews-Cascon. Obrigada por tanta sabedoria compartilhada e por tanto aprendizado! Obrigada por entender as minhas angústias e dificuldades.

À minha coorientadora Professora Doutora Cristina de Almeida Rocha-Barreira. Agradeço por ter me ensinado tanto! Ensino acadêmico e pessoal. Obrigada por ter sido compreensiva quando precisei.

À secretária do PPGCMT, Isabela Abreu, por toda dedicação. Por ser essa pessoa tão sensata e comprometida conosco. Por todo apoio, solidariedade e amizade de sempre, muitíssimo obrigada, Bela. Você é muito especial.

Ao meu querido Alisson Matos, por tanto companheirismo e amor. Obrigada por todo auxílio acadêmico. Sem você eu não teria chegado até aqui. Você foi uma peça importante (talvez a mais) durante todo esse trajeto. Sou grata por sempre me manter de pé. Obrigada por auxiliar com a estatística, gráficos, fotos, revisões e afins. Te amo!

À Laís, pela ajuda com a histologia. Você foi fundamental nesse processo quando eu mais precisei. Não tenho palavras para te agradecer!

Aos amigos que ajudaram na coleta (Alisson, Jasna, Poliana, Laís, Cristiane, Ravena e Marcos). Ravena, muito obrigada pela ajuda com os gráficos e pela leitura crítica.

Aos amigos do Laboratório de Invertebrados Marinhos do Ceará (LIMCe) pelos conhecimentos compartilhados e por nossas risadas diárias. E ao Laboratório de Zoologia Experimental, especialmente ao Professor Doutor Paulo Cascon, por ceder o espaço e material para manter os aquários.

Aos amigos do Laboratório Zoobentos, por me acolherem com tanto carinho. Sinto-me também parte de vocês.

À minha psicóloga Patrícia, por não me deixar surtar. Segurou na minha mão para iniciar e finalizar todo o processo. Muito obrigada.

Um agradecimento especial ao grupo “Abrolhos”. Allan, Jadson, Magaline, Poliana, e Ravena, obrigada por todo carinho, viagens e amizade. Às meninas, agradeço por cada café que me motivou a seguir.

Às queridas Mariany e Sula, por me mostrarem que eu poderia sempre ir mais. Obrigada por caminharem junto comigo até no isolamento, Sponge Girls.

Aos amigos Emanuelle Burgos e Leonardo Lôbo, por todas as noites remotas de sábado durante a pandemia. Noites que foram importantes para entendermos que não estávamos sós!

Aos amigos da pós-graduação, principalmente a “Espuma do Mar”. Obrigada sempre!

Aos meus pais, Adélia e Irandir, por sempre me incentivar a buscar incessantemente o conhecimento. Por tanto e todo amor e compreensão devido a minha ausência por conta da distância. Às minhas irmãs, Adeilma (mesmo longe se manteve por perto todos os dias) e Juliana, por acreditarem sempre no meu potencial. Meus afilhados, sobrinhos e sobrinha (Vinícius, Rafael, Pedro e Heloísa) por tanto amor. Vini, você sempre me motivou! Amo todos vocês.

A todos meus amigos que estiveram, mesmo longe, me apoiando e encorajando. Amo vocês e sinto falta!

Àqueles membros das minhas famílias, Oliveira e Luz, que acreditaram e me apoiaram. Às famílias Galdino, Sousa e Matos, por sempre terem acreditado e apoiado a ciência. Tenho muito carinho por vocês.

Agradeço as minhas mais lindas surpresas do doutorado: Puppy, que alegrava meus dias tensos; e Martim, que ainda está no forno, mas me trouxe força para finalizar esse ciclo.

A todos que contribuíram de alguma forma para a existência desta pesquisa, fica aqui meu agradecimento.

E por último, a que mais me deu dor de cabeça e alegrias nesses últimos anos (mestrado e doutorado), minha querida espécie de estudo, *Hastula cinerea*. Te levo tatuada na pele e na alma. Obrigada!

“O mundo científico também te põe numa esfera de racismos, preconceitos, pressões e negativismos. Essas vertentes coloniais eu chamarei aqui de “desestimuladores”. Portanto, é preciso ter elementos chaves para combater tais “desestimuladores”: a Resistência, a Coragem e a Responsabilidade! A Resistência e a Coragem para enfrentar tudo e todos que te fazem pensar em desistir. E a Responsabilidade para saber usar a Resistência e a Coragem.”  
(Índira Luz)



## RESUMO

Moluscos gastrópodes da superfamília Conoidea são predadores marinhos que ocorrem em regiões tropicais e subtropicais do planeta. Apresentam morfologia radular variável, a exemplo do dente radular hipodérmico, em forma de arpão e com presença de uma glândula de peçonha, caracterizando assim uma rádula do tipo toxoglossa. A família Terebridae faz parte desse grupo dos toxoglossas e dentre sua diversificada quantidade de espécies está a *Hastula cinerea* (Born, 1778). A espécie *H. cinerea* habita região arenosa de praia e se alimenta principalmente de poliquetas. É uma espécie gonocórica e possui fertilização interna, com desenvolvimento larval com metamorfose intracapsular. Esta tese foi estruturada em dois capítulos. No Capítulo 1, testou-se as hipóteses de que há variação entre os dentes radulares de machos e fêmeas de *H. cinerea* e que existe relação entre o tamanho do dente radular e o tamanho da concha do indivíduo, na população em estudo. No Capítulo 2, testou-se as hipóteses de que a população apresenta uma estrutura de tamanho populacional heterogênea, na região em estudo; a proporção sexual é 1:1; e a população da região semiárida do NE Brasil possui reprodução contínua com picos de desova durante o período seco. As coletas foram realizadas na praia arenosa de Flecheiras, no município de Trairi, litoral oeste do Ceará, NE Brasil. Após a morfologia radular ser analisada por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), a hipótese de dimorfismo sexual radular foi refutada. Entretanto, foi encontrada variação radular na população, com diferenças estruturais e de tamanho, o que confirma a hipótese de relação entre o tamanho do dente radular e o tamanho da concha do indivíduo. Para análise da estrutura populacional e reprodutiva, foram feitas coletas mensais, durante o período de junho de 2017 a agosto de 2018 na zona de varrido das ondas da praia de Flecheiras, Trairi, Ceará. A salinidade foi verificada durante as coletas e dados de pluviosidade foram obtidos da Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME). Para observação das características histomofológicas, utilizou-se protocolos padrões de histologia básica aplicada. Juntamente com análises dos dados abióticos foram obtidos os seguintes resultados: a estrutura de tamanho da população de *H. cinerea* se apresentou heterogênea com indivíduos de 10,49 mm a 49,48 mm; a proporção sexual da espécie na região não segue o padrão de 1:1, possuindo maior quantidade de fêmeas; e o ciclo reprodutivo é contínuo, mas foi refutada a hipótese da ocorrência de picos de desova somente no período seco. Estes resultados contribuem para pesquisas sobre o conhecimento da morfologia funcional radular da espécie *H. cinerea* e também acrescentam informações ao conhecimento sobre a biologia reprodutiva da espécie, contribuindo assim para a base de dados de moluscos com rádula do tipo toxoglossa das regiões tropicais.

**Palavras-chave:** molusco; toxoglossa; rádula; histologia; reprodução.

## ABSTRACT

Gastropod molluscs of the superfamily Conoidea are marine predators that occur in tropical and subtropical regions of the planet. They have variable radular morphology, such as the hypodermic radular tooth, harpoon-shaped and with the presence of a venom gland, characterizing it as a toxoglossa radula. The Terebridae family is part of this group of toxoglossas and among its diverse number of species is *Hastula cinerea* (Born, 1778). The species *H. cinerea* inhabits a sandy region beach and feeds mainly on polychaetes. It is a gonochoric species and has internal fertilization, with larval development with intracapsular metamorphosis. This thesis was structured in two chapters. In Chapter 1, we tested the hypotheses that there is variation between the radular teeth of males and females of *H. cinerea* and that there is a relationship between the size of the radular tooth and the size of the individual's shell in the study population. In Chapter 2, we tested the hypotheses that the population has a heterogeneous population size structure in the region under study; the sex ratio is 1:1; and the population of the semi-arid region of NE Brazil has continuous reproduction with spawning peaks during the dry period. Samples were collected on the sandy beach of Flecheiras, in the municipality of Trairi, west coast of Ceará, NE Brazil. After the radular morphology was analysed using Scanning Electron Microscopy (SEM), the hypothesis of radular sexual dimorphism was refuted. However, radular variation was found in the population, with structural and size differences, which confirms the hypothesis of a relationship between the size of the radular tooth and the size of the individual's shell. To analyse the population and reproductive structure, monthly collections were carried out during the period from June 2017 to August 2018 in the wave swept zone of Flecheiras beach, Trairi, Ceará. Salinity was verified during collections and rainfall data were obtained from the Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME). For the observation of histological characteristics, standard protocols of applied basic histology were used. Together with analysis of abiotic data, the following results were obtained: the population size structure of *H. cinerea* was heterogeneous with individuals ranging from 10.49 mm to 49.48 mm; the sex ratio of the species in the region does not follow the pattern of 1:1, having a larger number of females; and the reproductive cycle is continuous, but the hypothesis of the occurrence of spawning peaks only in the dry period was refuted. These results contribute to research on the knowledge of the radular functional morphology of the species *H. cinerea* and also add information to the knowledge about the reproductive biology of the species, thus contributing to the database of toxoglossa radula molluscs from tropical regions.

**Key words:** mollusc; toxoglossa; radula; histology; reproduction.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. a.** Exemplos de sistema radular da superfamília Conoidea (Fonte: Kantor; Taylor, 2000). **b.** Exemplo da estrutura que envolve a glândula de peçonha (em verde) e o dente radular hipodérmico (em vermelho) (Fonte: adaptada de Ruppert e Barnes, 1996). ..... 19
- Figura 2.** Relações filogenéticas das principais linhagens de Terebridae. Divididos por subfamílias e cada gênero está representado por um número (1 a 13) e uma concha da espécie-tipo (Fonte: Fedosov *et al.*, 2019)..... 21
- Figura 3.** Espécimes do gastrópode *Hastula cinerea* (Born, 1778). Barra de escala: 10 mm. 23
- Figura 4.** Espécie *Hastula cinerea* se alimentando de poliqueta. Foto obtida ainda em campo, após coleta. Barras de escala: 10 mm. .... 23
- Figura 5. a.** Imagem com destaque (seta) para a glândula pedal localizada na região ventral do pé de um espécime fêmea da *H. cinerea*. **b.** Imagem com destaque (seta) para o oviduto de um espécime fêmea da *H. cinerea*. **c.** Imagem com destaque (seta) para o pênis localizada no lado direito da cabeça de um espécime macho de *H. cinerea*. Barras de escala: 10 mm..... 24
- Figura 6.** Mapa de localização da praia arenosa de Flecheiras no município de Trairi, Ceará, Brasil..... 28
- Figura 7.** Área de coleta. Praia de Flecheiras, Trairi, Ceará..... 29
- CAPÍTULO I**..... 35
- Figura 1.** Espécimes de *Hastula cinerea* coletados na praia de Flecheiras Trairi, Ceará, Brasil. Barra de escala: 10 mm. .... 39
- Figura 2.** Probóscide e em destaque (círculo) o saco radular e ceco radular de *Hastula cinerea*. Barra de escala: 10 mm. .... 40
- Figura 3.** Variação dos dentes radulares observada em *Hastula cinerea*. **A.** dentes ainda presos à membrana sub-radular; **B.** dente morfotipo-1; **C.** dente morfotipo-2; **D.** dente morfotipo-3. Barras de escala: **A** = 200 µm; **B** = 50 µm; **C** = 200 µm; **D** = 400 µm..... 42
- Figura 4.** Morfologia do dente morfotipo-1 de *Hastula cinerea*. **A.** visão geral do dente; a seta branca indica a abertura da base e a seta verde aponta para o ligamento. **B.** visão geral do dente; a seta branca indica a abertura da base, a seta verde aponta para o ligamento, o ápice do dente é destacado com a seta vermelha indicando a abertura. **C.** ápice pontiagudo, triangular e liso; visto do lado oposto à sua abertura. **D.** abertura do ápice pontiagudo, triangular e liso. **E.** região central com bordas sobrepostas. **F.** dentes presos a membrana sub-radular. Barra de escala: **A** = 50 µm; **B** = 50 µm; **C** = 20 µm; **D** = 10 µm; **E** = 10 µm; **F** = 200 µm. .... 43
- Figura 5.** Morfologia do dente morfotipo-2 de *Hastula cinerea*. **A.** visão geral do dente; a seta verde indica o ligamento e a seta azul aponta para as serrilhas da região central. **B.** visão geral do dente de outro ângulo; a seta verde indica o ligamento. **C.** ápice pontiagudo e triangular com abertura visível; a seta vermelha indica o entalhe. **D.** de outro ângulo, ápice pontiagudo e triangular; seta vermelha indica entalhe sem a presença de protuberância. **E.** destacam-se as serrilhas (abertura dentada) com projeção inicialmente curva e pontiaguda, no

centro do dente. **F.** serrilhados com projeções inicialmente curvas e pontiagudas no centro do dente. Barra de escala: **A** = 200  $\mu\text{m}$ ; **B** = 200  $\mu\text{m}$ ; **C** = 20  $\mu\text{m}$ ; **D** = 20  $\mu\text{m}$ ; **E** = 50  $\mu\text{m}$ ; **F** = 10  $\mu\text{m}$ .....45

**Fig.ura 6.** Morfologia do dente morfotipo-3 de *Hastula cinerea*. **A.** visão geral do dente, mais robusto na base e mais fino no ápice; a seta verde indica o ligamento e a seta azul aponta para as serrilhas na região central **B.** visão geral do dente de outro ângulo; a seta verde indica o ligamento. **C.** ápice pontiagudo e triangular; a seta vermelha indica o entalhe. **D.** de outro ângulo, ápice pontiagudo e triangular; a seta amarela indica uma protuberância. **E.** as serrilhas (abertura dentada) com projeções curvas e pontiagudas no centro do dente são destacadas. **F.** serrilhados com projeções curvas e farpadas no centro do dente. Barra de escala: **A** = 400  $\mu\text{m}$ ; **B** = 400  $\mu\text{m}$ ; **C** = 50  $\mu\text{m}$ ; **D** = 100  $\mu\text{m}$ ; **E** = 50  $\mu\text{m}$ ; **F** = 50  $\mu\text{m}$ .....46

**Figura 8.** Correlação de Spearman entre o comprimento da concha e o comprimento dos dentes de espécimes de *Hastula cinerea* ( $r = 0,84$ ;  $p < 0,05$ ). Os círculos vermelhos representam os dentes do morfotipo-1, os triângulos verdes representam os dentes do morfotipo-2 e os quadrados azuis representam os dentes do morfotipo-3. ....48

## CAPÍTULO II.....56

**Figura 1.** Variação temporal da pluviosidade (mm) (barras azuis) e da salinidade (linha preta) de junho de 2017 a agosto de 2018, na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.....64

**Figura 2.** Distribuição mensal do tamanho dos espécimes de *Hastula cinerea* coletados na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil. ....66

**Figura 3.** Comprimento da concha dos espécimes de *Hastula cinerea* coletados na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil. Ponto vermelho: média dos dados.....67

**Figura 4.** Região gonadal e glândulas digestivas infectadas por parasita com aspecto de castração (g: gônada; gd: glândula digestiva; p: parasita; setas e círculo indicam a presença do parasita). ....69

**Figura 5.** Corte histológico de gônadas masculinas com células germinativas de *Hastula cinerea*: **eg**: espermatogônia, **ec1**: espermatócito primário, **ec2**: espermatócito secundário, **et**: espermátide, **ez**: espermatozoide, **vs**: vesícula seminal, **gd**: glândula digestiva (eliminada)...71

**Figura 6.** Corte histológico de gônadas femininas com células germinativas de *Hastula cinerea*: **f**: folículo, **og**: ovogônia, **ocp**: ovócito pré-vitelogênico, **ocv**: ovócito vitelogênico, **o**: ovócito maduro, **gd**: glândula digestiva. ....73

**Figura 7.** Fase de desenvolvimento gonadal parcialmente madura de machos de *Hastula cinerea*. Grande quantidade de espermatogônias, espermatócitos primários e secundários nos túbulos testiculares, pouca quantidade de espermátides e espermatozoides. ....74

**Figura 8.** Fase de desenvolvimento gonadal madura de machos de *Hastula cinerea*. **a.** Os túbulos testiculares são preenchidos com todos os tipos celulares. **b.** A vesícula seminal está preenchida por uma grande quantidade de espermatozoides.....75

<b>Figura 9.</b> Fase de desenvolvimento gonadal parcialmente eliminada de machos de <i>Hastula cinerea</i> . Há muitos espaços vazios nos túbulos testiculares. Presença de alguns espermátocitos, espermátides e muitos espermatozoides. ....	76
<b>Figura 10.</b> Fase de desenvolvimento gonadal parcialmente madura de fêmeas de <i>Hastula cinerea</i> . Parede folicular espessa devido à grande quantidade de ovogônias. ....	77
<b>Figura 11.</b> Fase de desenvolvimento gonadal madura de fêmeas de <i>Hastula cinerea</i> . Folículo ovariano, com a parede bastante fina, preenchido de ovócitos maduros. ....	77
<b>Figura 12.</b> Fase de desenvolvimento gonadal parcialmente eliminada de fêmeas de <i>Hastula cinerea</i> . O folículo ovariano apresenta alguns espaços interfoliculares, muito tecido conjuntivo frouxo e restos de células germinativas. ....	78
<b>Figura 13.</b> Fase de desenvolvimento gonadal eliminada de adultos indeterminados de <i>Hastula cinerea</i> . O espaço gonadal possui muito tecido conjuntivo frouxo e células germinativas em processo inicial (recuperação celular), sendo impossível identificação sexual. ....	79
<b>Figura 14.</b> Porcentagem mensal das fases de desenvolvimento gonadal – parcialmente madura, madura, parcialmente eliminada e eliminada – de <i>Hastula cinerea</i> (machos, fêmeas e adultos indeterminados), observada na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil. ....	79
<b>Figura 15.</b> Porcentagem mensal dos períodos do ciclo reprodutivo da espécie <i>Hastula cinerea</i> , durante os meses de estudo na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil. ....	80
<b>Figura 16.</b> Média de tamanho dos oócitos (ovogônia, ovócitos pré-vitelogênico, ovócitos vitelogênicos e ovócitos maduros) de <i>Hastula cinerea</i> na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil. ....	81
<b>Figura 17.</b> Períodos reprodutivos (barras empilhadas) da população de <i>Hastula cinerea</i> e a pluviosidade (linha com pontos), na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil. ....	82
<b>APÊNDICE C</b> .....	97
Proporção sexual de uma população de <i>Hastula cinerea</i> na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil. ....	97

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resultados resumidos da PERMANOVA para o comprimento total das conchas de <i>Hastula cinerea</i> entre os meses estudados na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil (valores em negrito denotam variações significativas) .....	67
<b>Tabela 2.</b> Resultados referentes as avaliações para a verificação da proporção sexual de <i>Hastula cinerea</i> na população estudada na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil (valores marcados por * apresentam diferença significativa) .....	68
<b>APÊNDICE B</b> .....	94
Resultados do teste <i>pos hoc</i> Tukey entre os meses estudados. Valores em negrito indicam diferença estatística significativa ( $p < 0.05$ ) .....	94
<b>APÊNDICE D</b> .....	98
Fases do desenvolvimento gonadal de <i>Hastula cinerea</i> observados durante os meses de estudo na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil .....	98
<b>APÊNDICE E</b> .....	99
Períodos do ciclo reprodutivo de <i>Hastula cinerea</i> observados durante os meses de estudo na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil .....	99

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	17
2. JUSTIFICATIVA.....	25
3. HIPÓTESES.....	26
4. OBJETIVO GERAL .....	26
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	26
6. ESTRUTURA DA TESE .....	27
7. ÁREA DE ESTUDO.....	27
REFERÊNCIAS .....	29
8. CAPÍTULO I.....	36
VARIAÇÃO NO DENTE RADULAR HIPODÉRMICO DO GASTRÓPODE <i>Hastula cinerea</i> (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE).....	36
RESUMO.....	36
ABSTRACT .....	36
INTRODUÇÃO.....	37
MATERIAL E MÉTODOS.....	38
Amostragem e procedimento laboratorial .....	38
Preparação radular para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	39
Análises de dados .....	41
RESULTADOS .....	41
Morfologia dos dentes radulares.....	41
Morfometria radular .....	46
Relação comprimento da concha x comprimento do dente radular.....	48
DISCUSSÃO .....	48
REFERÊNCIAS .....	52
9. CAPÍTULO II .....	57
ESTRUTURA POPULACIONAL E CICLO REPRODUTIVO DO GASTRÓPODE <i>Hastula cinerea</i> (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE).....	57

RESUMO.....	57
INTRODUÇÃO.....	59
MATERIAL E MÉTODOS.....	61
Procedimento de campo e laboratório.....	61
Dados abióticos.....	62
Protocolo histológico.....	62
Análises de dados.....	63
RESULTADOS.....	64
Fatores abióticos.....	64
Estrutura Populacional.....	64
<i>Estrutura populacional por tamanho da concha</i> .....	64
<i>Proporção Sexual</i> .....	67
Caracterização histomorfológica das gônadas.....	68
Caracterização histomorfológica das fases de desenvolvimento gonadal.....	74
Ciclo Reprodutivo.....	79
DISCUSSÃO.....	82
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	92
APÊNDICE A.....	93
APÊNDICE B.....	94
APÊNDICE C.....	97
APÊNDICE D.....	98
APÊNDICE E.....	99



## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As praias arenosas são ambientes altamente dinâmicos e sensíveis que se ajustam às flutuações dos níveis de energia (marés e ondas), o que as tornam sistemas bastante hidrodinâmicos (DEFEO; MCLACHLAN, 2005; MCLACHLAN; DORVLO, 2005). Os fatores morfodinâmicos das praias interferem na diversidade e abundância das assembleias de macrofauna bentônica não sésil, fazendo com que os organismos busquem por áreas com maior disponibilidade de recurso e que gastem menos energia para a sua sobrevivência (DEFEO; MCLACHLAN, 2005; MCLACHLAN; DORVLO, 2005; VELOSO; CARDOSO, 2001). As praias arenosas possuem uma fauna distinta, bem adaptada às condições adversas desses habitats, como a dessecação e altas temperaturas durante as marés baixas, e a instabilidade dos sedimentos pelas ondas durante a maré alta (ALONGI, 1990; VERMEIJ, 2017).

Os organismos marinhos da região de entremarés geralmente são bastante ativos, a exemplo de moluscos gastrópodes que se locomovem ativamente a procura de presas, como poliquetas, bivalves e crustáceos (DEFEO; MCLACHLAN, 2005; VERMEIJ, 2017). Esses gastrópodes, em geral, apresentam corpos hidrodinâmicos, como conchas lisas ou esculturas de baixo relevo e estruturas corpóreas resistentes, a exemplo do pé, que facilitem a sua locomoção e escavação na areia (VERMEIJ, 2017).

Atualmente, o filo Mollusca está dividido em Aculifera (“Aplacophora” e Polyplacophora) e Conchifera (Monoplacophora, Scaphopoda, Bivalvia, Gastropoda e Cephalopoda), mostrando ser uma separação mais antiga em que há diferenças consideráveis entre os subtáxons – a exemplo da presença de rádula, estruturas corpóreas e estudos filogenômicos – e, havendo um estudo de forma holística, poderá ser descoberto mais profundamente a história evolutiva dos moluscos (WANNINGER; WOLLESEN, 2019).

Os gastrópodes (que fazem parte de Conchifera), são os moluscos que melhor se adaptaram à vida terrestre, na água doce e salgada e mesmo com o seu sucesso na colonização em ambientes de água doce e terrestre, os gastrópodes estão entre os animais mais diversos e abundantes nos oceanos (CUNHA; GIRIBET, 2019). Existe uma importância de maximizar a amostragem de grupos externos e reinterpretar a evolução dos caracteres morfológicos e de desenvolvimento em gastrópodes, principalmente no que diz respeito aos seus ancestrais, baseando-se também em estudos com filogenômica (CUNHA; GIRIBET, 2019). Assim sendo, este recente estudo de Cunha e Giribet (2019), com filogenômica, traz três principais

clados: Psilogastropoda, que são os vetigastropodes e os patelogastrópodes, Adenogonogastropoda (=Angiogastropoda), sendo os neritimorfos e Apogastropoda, fazendo parte os caenogastrópodes e os heterobrânquios.

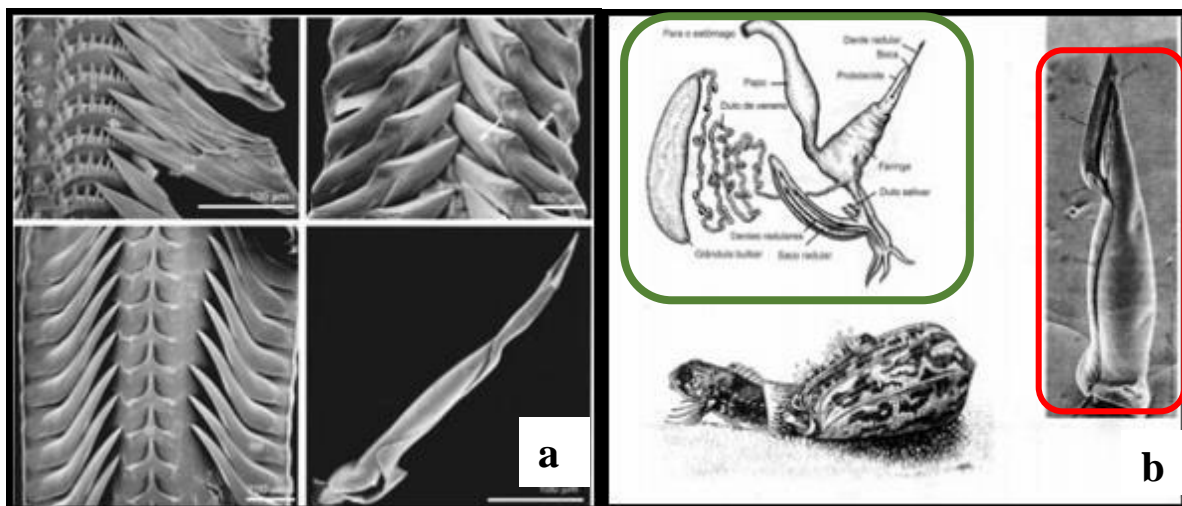
Entre muitos padrões morfológicos e funcionais dos gastrópodes, a morfologia radular é destacada pela sua diversificação e é um caráter que auxilia na separação de grandes grupos ou até mesmo divisão intraespecífica, considerando machos e fêmeas ou jovens e adultos. A rádula, formada por quitina, cresce pela adição de novas fileiras de dentes, por meio de células especiais (e.g. odontoblastos), à medida que as fileiras mais antigas se desgastam (GIRIBET; EDGECOMBE, 2020).

A rádula também refletirá o tipo de dieta de cada grupo, com espécies herbívoras geralmente possuindo muitos dentes pequenos, enquanto os carnívoros tendem a ter menos dentes e mais heterogêneos por fileira; em alguns casos de carnívoros, a rádula tem adaptação para perfurar as conchas de outros moluscos; porém, a rádula mais modificada é a da superfamília Conoidea (Apogastropoda: Caenogastropoda), que pode ser modificada em uma estrutura oca semelhante a um arpão e é usada para injetar peçonha nas presas (GIRIBET; EDGECOMBE, 2020). Os mecanismos de captura e alimentação de presas, no caso de alguns carnívoros, podem diferir entre indivíduos jovens e adultos e essa hipótese precisa ser cuidadosamente pesquisada para detectar alterações ontogenéticas na anatomia radular e também na região anterior do aparelho digestivo (KANTOR; PUILANDRE, 2012; BÜCHNER-MIRANDA *et al.*, 2021).

A superfamília Conoidea, por exemplo, uma das mais diversas entre os gastrópodes com cerca de 5.390 espécies Recentes válidas (MOLLUSCABASE, 2021), possui espécies carnívoras que tem como uma das principais características a morfologia radular modificada e diversificada (BOUCHET *et al.*, 2017; KANTOR; PUILANDRE, 2012). A história da classificação da superfamília Conoidea, assim como a história da classificação dos moluscos em geral, envolve duas vertentes principais: a primeira e mais antiga que envolve somente estudos com a concha, estudos anatômicos e morfologia radular e uma segunda linha mais integrativa, envolvendo também estudos ecológicos, fisiológicos, moleculares e genéticos (BOUCHET *et al.*, 2011; PUILANDRE *et al.*, 2011; PUILANDRE *et al.*, 2016; URIBE; ZARDOYA; PUILANDRE, 2018).

A rádula especializada dos conoideos (Fig. 1a) pode apresentar uma glândula de peçonha que permite que suas espécies capturem presas ativamente (Fig. 1b) (KANTOR;

PUILLANDRE, 2012). Na literatura, pode-se encontrar a superfamília sendo chamada de Conoidea ou Toxoglossa, porém deve-se evitar a nomeação de Toxoglossa para o grupo, pois muitos dos táxons da superfamília não possuem a rádula toxoglossa (presença de peçonha), além de que não é um nome tipificado, e por isso, não pode ser usado para um nome de grupo familiar (BOUCHET *et al.*, 2011; BOUCHET *et al.*, 2017). Sendo assim, o termo Toxoglossa é aceito para indicar organismos que possuem a rádula do tipo toxoglossa.



**Figura 1.** **a.** Exemplos de sistema radular da superfamília Conoidea (Fonte: Kantor; Taylor, 2000). **b.** Exemplo da estrutura que envolve a glândula de peçonha (em verde) e o dente radular hipodérmico (em vermelho) (Fonte: adaptada de Ruppert e Barnes, 1996).

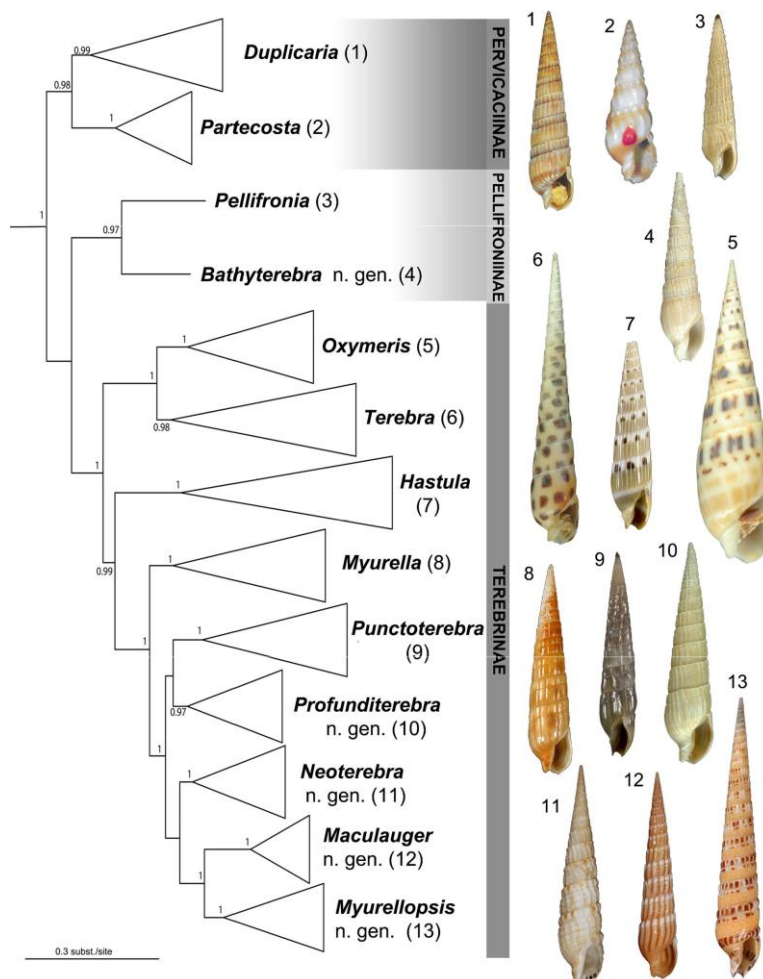
Dentro do grupo dos que possuem a rádula do tipo toxoglossa, as três famílias mais estudadas são Conidae, Turridae e Terebridae, com destaque para a família Conidae, que possui diversos estudos, principalmente no que diz respeito ao potencial terapêutico da toxina presente na sua peçonha (conotoxinas) (e.g. PUILLANDRE; FEDOSOV; KANTOR, 2016). Contudo, estudos relatam forte potencial terapêutico também nas toxinas dos terebrídeos, as teretoxinas (PUILLANDRE; HOLFORD, 2010; VERDES *et al.*, 2016).

Um táxon importante para os estudos da evolução da superfamília Conoidea é a família Terebridae, principalmente quando relacionada com as questões ambientais que levaram a diversificação de toda a família (MODICA *et al.*, 2020). Algumas características, como a presença ou não da peçonha, parece não afetar significativamente nas taxas de diversificação dos terebrídeos, mas a ligação da ecologia larval com a variação de tamanho da concha dos adultos, por exemplo, pode ser um fator que molda a trajetória evolutiva dessa família, considerando as diferenças encontradas dentro da família (MODICA *et al.*, 2020). Mas há necessidade de pesquisas para elucidar questões sobre a reprodução da família, pois é

sabido que esses estudos auxiliam na compreensão história de vida dos organismos (NARCHI, 1976; AVILA-POVEDA; BAQUEIRO-CÁRDENAS, 2009).

Fedosov *et al.* (2019), em recente revisão, descreveram as principais características diagnósticas da família Terebridae, a qual apresenta: conchas alongadas ou cônicas, multiespiraladas, com espira muito alta e a última volta relativamente pequena; a abertura da concha é pequena, com entalhe sifonal anterior ou um canal sifonal reto e muito curto; o seio anal é indistinto; opérculo que pode ser córneo, arredondado ou em forma de folha, com núcleo terminal; na região cefálica há dois tentáculos oculares curtos com olhos na ponta; probóscide pleurembólica variando de tamanho entre as espécies, mas a probóscide acessória pode estar presente ou ausente; glândulas salivares, glândulas salivares acessórias e glândula de veneno; e a rádula é composta apenas por dentes marginais e dependendo da espécie, pode variar nas formas duplex (plana, sólida e recurvada) e hipodérmica oca (em forma de agulha ou lança).

A família Terebridae tem como sinónimas os nomes Acusidae Gray, 1853 e Pervicaciidae Rudman, 1969, possuindo três subfamílias: **Pellifroniinae** Fedosov, Malcolm, Terryn, Gorson, Modica, Holford & Puillandre, 2020, **Pervicaciinae** Rudman, 1969, **Terebrinae** Mörch, 1852 (FEDOSOV *et al.*, 2019; MOLLUSCABASE, 2021) (Fig. 2). São popularmente conhecidos no mundo como “*auger-shell*” ou “*snail auger*” (caracol trado/broca/parafuso) (CERNOHORSKY, 1978; HOLFORD *et al.*, 2009; MOLLUSCABASE, 2021).



**Figura 2.** Relações filogenéticas das principais linhagens de Terebridae. Divididos por subfamílias e cada gênero está representado por um número (1 a 13) e uma concha da espécie-tipo (Fonte: Fedosov *et al.*, 2019).

Atualmente, a família Terebridae é composta por 17 gêneros: *Bathyterebra* Fedosov, Malcolm, Terryn, Gorson, Modica, Holford & Puillandre, 2020, *Pellifronia* Terryn & Holford, 2008, que fazem parte da subfamília Pellifroniinae; *Duplicaria* Dall, 1908, *Partecosta* Dance & Eames, 1966, que fazem parte da subfamília Pervicaciinae; *Gradaterebra* Cotton & Godfrey, 1932, *Granuliterebra* Oyama, 1961, *Hastula* H. Adams & A. Adams, 1853, *Hastulopsis* Oyama, 1961, *Macaulaeger* Fedosov, Malcolm, Terryn, Gorson, Modica, Holford & Puillandre, 2020, *Microtrypetes* Pilsbry & Lowe, 1932, *Myurella* Hinds, 1845, *Myurellopsis* Fedosov, Malcolm, Terryn, Gorson, Modica, Holford & Puillandre, 2020, *Oxymeris* Dall, 1903, *Perirhoe* Dall, 1908, *Pristiterebra* Oyama, 1961, *Profunditerebra* Fedosov, Malcolm, Terryn, Gorson, Modica, Holford & Puillandre, 2020, *Terebra* Bruguière, 1789, que fazem parte da subfamília Terebrinae (FEDOSOV *et al.*, 2019; MOLLUSCABASE, 2021).

No caso do gênero *Hastula*, sua validade foi bastante controversa até pouco tempo, pois alguns taxonomistas não consideravam *Hastula*, e sim, *Impages* E. A. Smith, 1873, como o gênero válido. Segundo Cernohorsky (1978), uma diferença entre os gêneros seria a morfologia de suas rádulas, sendo a rádula das espécies de *Hastula* composta de um par de dentes delgados e curvos em cada fileira e a rádula das espécies de *Impages* composta por um conjunto de dentes com formato e formação semelhantes às dos conídeos. Uma recente revisão filogenética foi considerada *Hastula* para diversas espécies, com base em taxonomia integrativa, que combinou diferentes fatores anatômicos, morfológicos e moleculares (FEDOSOV *et al.*, 2019). Ainda segundo Fedosov *et al.* (2019), as espécies de *Hastula* são bastante fáceis de reconhecer entre os Terebridae, devido às características de suas conchas, tipicamente brilhantes, e por possuírem glândula de veneno e dentes hipodérmicos.

As espécies do gênero *Hastula* possuem conchas com tamanhos que variam de pequeno até médio (12–90), brilhantes, com protoconcha paucispiral ou mutlispiral (1 a 5 espirais), podendo ter esculturas axial de crenulações na região subsutural ou costelas finas em parte da volta. A escultura espiral pode estar presente como um sulco singular na zona subsutural. A abertura varia de alongada a arredondada; probóscide pleurembólica, glândula de peçonha, glândulas salivares bem desenvolvidos e dentes radulares marginais hipodérmicos (com múltiplas perfurações nas paredes) ligados a membrana fina e reduzida; e a sua distribuição geográfica compreende o Indo-Pacífico, África Ocidental, Caribe e costa Atlântica da América do Sul (RIOS, 2009; FEDOSOV *et al.*, 2019).

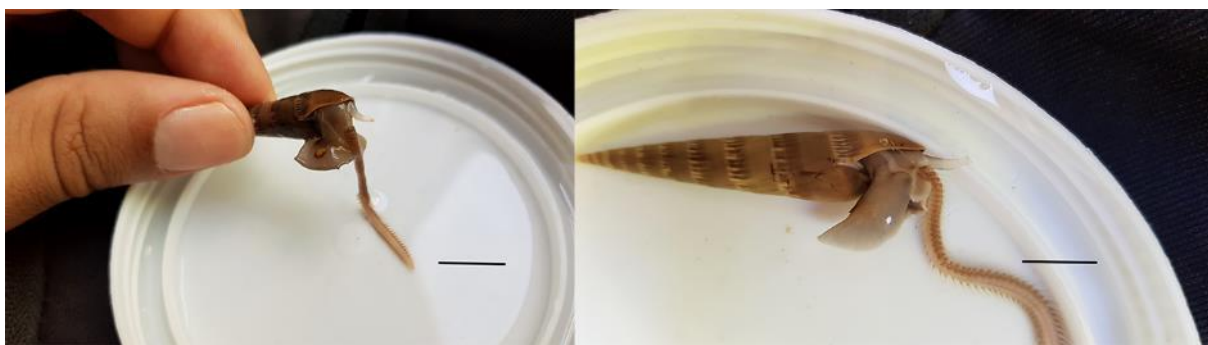
No Brasil, foram registradas quatro espécies de *Hastula*: *H. cinerea* (Born, 1778), *H. hastata* (Gmelin, 1791), *H. salleana* (Deshayes, 1859) e *H. imitatrix* (Aufennberg & Lee, 1988) (MOLLUSCABASE, 2021; SIMONE, 1999; RIOS, 2009).

A espécie *H. cinerea* (Fig. 3), possui dentes marginais hipodérmicos e peçonha suficiente para paralisar a sua presa, geralmente poliquetas (Fig. 4); corpo em formato alongado, concha resistente com ápice agudo, coloração variando de creme a marrom escuro, sendo encontrados também espécimes albinos – mesmo que raros – podendo alcançar 68 mm de comprimento; protoconcha longa e delgada com cerca de 5 voltas (BANDEL, 1984; MARCUS; MARCUS, 1960; MOLINA *et al.*, 2013; SIMONE, 1999, TERRY, 2007). Popularmente conhecida como “grey atlantic auger” (trado/broca/parafuso cinza do atlântico)

e, em algumas regiões do Brasil, “agulhinha” (ABSHER; FERREIRA JUNIOR; CHRISTO, 2015).



**Figura 3.** Espécimes do gastrópode *Hastula cinerea* (Born, 1778). Barra de escala: 10 mm.



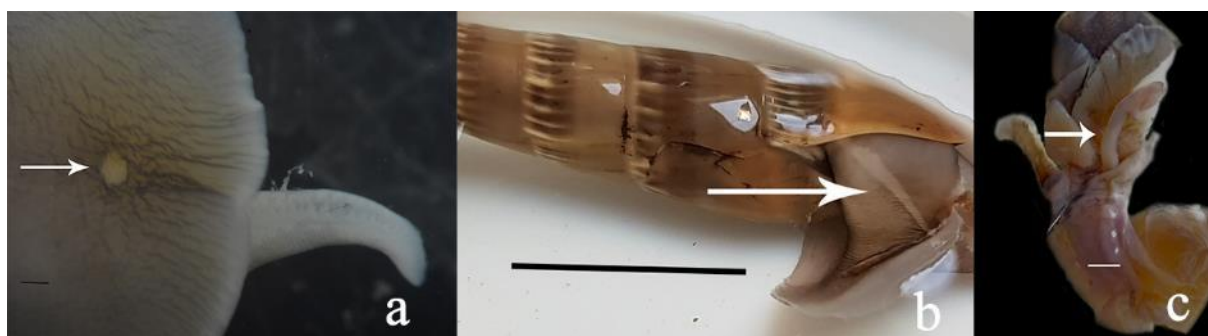
**Figura 4.** Espécie *Hastula cinerea* se alimentando de poliqueta. Foto obtida ainda em campo, após coleta. Barras de escala: 10 mm.

Na descrição original, a espécie *H. cinerea* recebeu o nome de *Buccinum cinereum* Born, 1778. Até o momento já foram considerados alguns outros nomes para a espécie como: *Terebra cinerea* (Born, 1778), *Terebra laurina* Hinds, 1844, *Terebra luctuosa* Hinds, 1844, *Terebra jamaicensis* C. B. Adams, 1850, *Terebra acuta* Deshayes, 1857, *Hastula luctuosa* (Hinds, 1958), *Impages cinerea* (Born, 1778) e hoje encontra-se dentro do gênero *Hastula* (FEDOSOV *et al.*, 2019; MOLLUSCABASE, 2021).

*Hastula cinerea* habita praias arenosas e pode ser vista na maré baixa enterrada superficialmente na areia ou bastante ativa na subida da maré, onde aproveitam a dinâmica das ondas e marés para se alimentar (MARCUS; MARCUS, 1960; MOLINA *et al.*, 2013; SIMONE, 1999). Essa espécie se distribui em manchas não contínuas, podendo exibir grande densidade de indivíduos, em determinadas áreas da praia e independente de seu tamanho é mais abundante na faixa intermediária do médio litoral, região que facilita a obtenção de alimento (MOLINA *et al.*, 2013).

A distribuição geográfica da *H. cinerea* é relativamente ampla, com ocorrências no Pacífico Leste, desde o México até o Peru e em ambos os lados do Atlântico. No Atlântico Oeste, há registros desde a Flórida, EUA, até o Brasil, entre o Ceará e Santa Catarina. No Atlântico Leste a espécie ocorre na costa do continente Africano (ABBOTT, 1974; RIOS, 2009; TERRY, 2007). Acredita-se que a faixa do Pacífico e da África Ocidental seja uma expansão relativamente tardia da distribuição (ABBOTT, 1974; RIOS, 2009; TERRY, 2007).

É uma espécie gonocórica, possui fertilização interna e desenvolvimento larval com metamorfose intracapsular (BANDEL, 1976; MARCUS; MARCUS, 1960). A diferença sexual macroscópica encontrada nas fêmeas é a presença da glândula feminina (ovopositor), localizada na região ventral do pé (Fig. 5a); e a presença do canal do oviduto do lado direito da cabeça, que é possível visualizar claramente em espécimes adultos (Fig. 5b); nos machos é possível identificar a presença do pênis do lado direito da cabeça (Fig. 5c), que muitas vezes se encontra retraído tornando difícil sua visualização (MARCUS; MARCUS, 1960). Não há relatos sobre o ciclo reprodutivo da *H. cinerea* e apenas um único estudo menciona sobre o desenvolvimento da espécie (BANDEL, 1976).



**Figura 5.** a. Imagem com destaque (seta) para a glândula pedal localizada na região ventral do pé de um espécime fêmea da *H. cinerea*. b. Imagem com destaque (seta) para o oviduto de um espécime fêmea da *H. cinerea*. c. Imagem com destaque (seta) para o pênis localizada no lado direito da cabeça de um espécime macho de *H. cinerea*. Barras de escala: 10 mm.



## 2. JUSTIFICATIVA

Alguns trabalhos sobre os conoideos já foram realizados, muitos sobre aspectos morfológicos, sistemáticos e taxonômicos (e.g. BANDEL, 1976; CERNOHORSKY, 1978; FEDOSOV et al., 2019; MARCUS; MARCUS, 1960; MILLER, 1975; MILLER, 1979; MODICA et al., 2020; SIMONE, 1998; SIMONE, 1999), descrição morfológica da rádula (e.g. MILLS, 1977; NYBAKKEN; PERRON, 1988; VORTSEPNEVA; TZETLIN; KANTOR 2019) e sobre potencial da peçonha (e.g. CASTELIN et al., 2012; IMPERIAL et al., 2007; ALBURAE; MOHAMMED, 2020). Porém, em sua maioria esses estudos são sobre a família Conidae, contudo, os estudos sobre as demais famílias e, especificamente, sobre o gênero *Hastula* são escassos (e.g. MARCUS; MARCUS, 1960; SIMONE, 1998; SIMONE, 1999; IMPERIAL et al., 2007).

É sabido que na biomedicina o estudo da toxina presente nos gastrópodes com rádula do tipo toxoglossa é promissor e, por esta razão, as pesquisas estão direcionadas principalmente para a família Conidae. Porém, estudos com as demais famílias que também apresentam a rádula toxoglossa, podem vislumbrar um cenário promissor para pesquisas futuras sobre essas toxinas. Além disso, a ampliação do conhecimento sobre a taxonomia, anatomia, morfologia, ecologia e reprodução, podem agregar informações pertinentes e importantes para o desenvolvimento das pesquisas médicas e biotecnológicas.

Também existe uma lacuna, no grupo dos que possuem a rádula do tipo toxoglossa, sobre a caracterização histomorfológica e aspectos da biologia reprodutiva para o gênero *Hastula*. Afirmando assim, a necessidade da inclusão de mais uma linha de estudo que trará mais informações para o grupo, visto que entender o ciclo reprodutivo de uma espécie, por exemplo, pode trazer contribuições para o manejo (no caso da sua utilização farmacológica) e conservação da espécie. Pesquisas sobre reprodução são imprescindíveis para entendimento da história de vida dos organismos, pois, conhecer as fases de desenvolvimento gonadal, razão sexual e todo o ciclo reprodutivo dos animais é importante para direcionar os demais estudos sobre a biologia das espécies e assim, compreender melhor a ecologia da população (NARCHI, 1976; AVILA-POVEDA; BAQUEIRO-CÁRDENAS, 2009; ELHASNI, 2010).

Desta forma, baseada nos trabalhos descritivos sobre a espécie *H. cinerea* de Marcus e Marcus (1960) e Simone (1999), esta pesquisa trará novas contribuições para a descrição desta espécie, incluindo dados sobre variações na morfologia dos dentes radulares,

caracterizações histomorfológicas e novos conhecimentos sobre a biologia reprodutiva da espécie, acrescentando, portanto, informações sobre os moluscos com rádula do tipo toxoglossa de regiões tropicais.

### **3. HIPÓTESES**

- Há variação entre o dente radular do macho e da fêmea da espécie *H. cinerea*.
- Existe relação entre o tamanho do dente radular e o tamanho da concha do indivíduo.
- A população apresenta uma estrutura de tamanho populacional heterogênea.
- A proporção sexual na população de *H. cinerea* é de 1:1.
- A população da espécie *H. cinerea* localizada na costa semiárida do Ceará possui uma reprodução contínua com picos de reprodução durante o período seco.

### **4. OBJETIVO GERAL**

- ✓ Caracterizar e descrever os dentes radulares e a aspectos reprodutivos do gastrópode com rádula do tipo toxoglossa *H. cinerea*, em uma praia do nordeste brasileiro.

### **5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Examinar microscopicamente as especificidades radulares da *H. cinerea*
- ✓ Relacionar o dente radular e suas características com o sexo dos espécimes
- ✓ Relacionar o tamanho do dente radular com o tamanho da concha de cada espécime
- ✓ Avaliar a estrutura populacional da espécie
- ✓ Avaliar a razão sexual na população alvo do estudo
- ✓ Caracterizar histomorfológicamente as gônadas
- ✓ Caracterizar o ciclo reprodutivo da espécie na população alvo do estudo

## 6. ESTRUTURA DA TESE

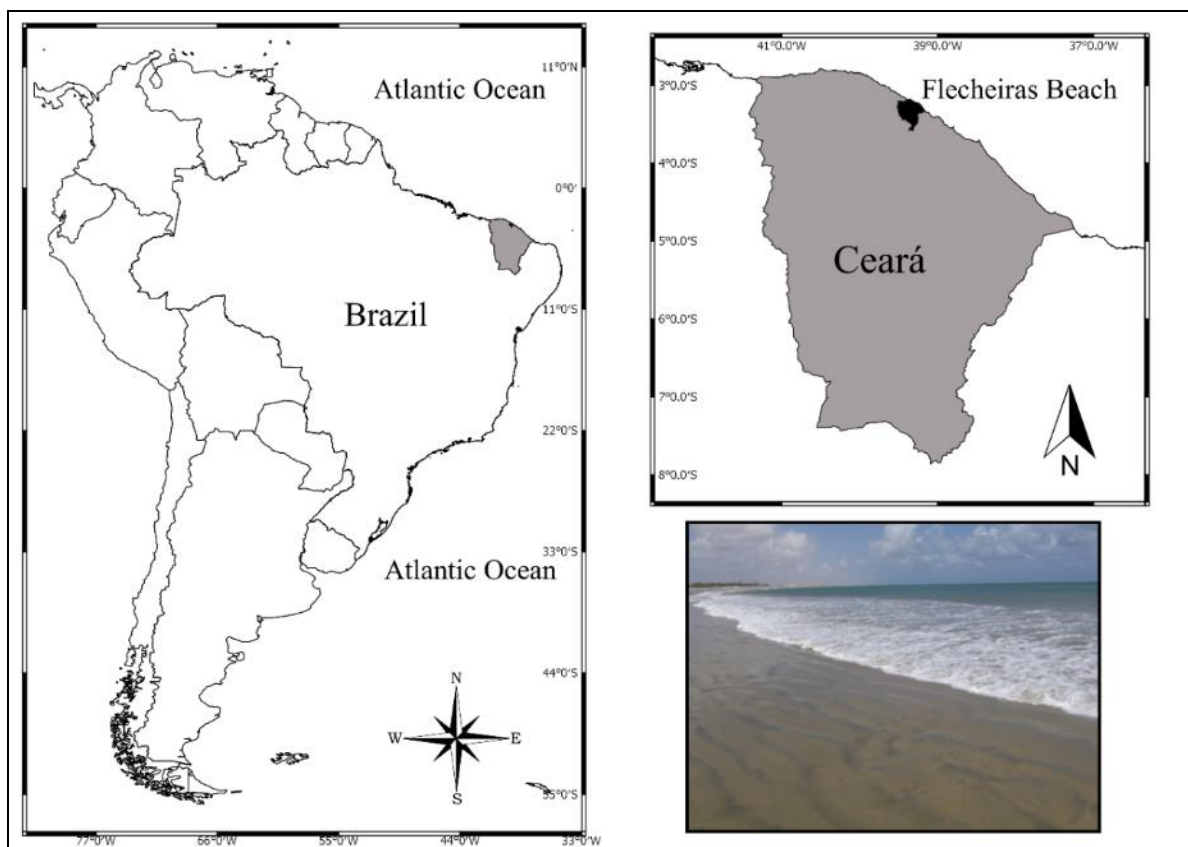
Baseada nas hipóteses e objetivos específicos, a tese será apresentada em dois capítulos:

Capítulo I: “**Varição no dente radular hipodérmico do gastrópode *Hastula cinerea* (Born, 1778) (Conoidea: Terebridae)**”. Neste capítulo foi descrito, com o auxílio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), o dente radular da espécie *H. cinerea*, verificando a possível existência de dimorfismo sexual nos dentes radulares e a possibilidade de haver relação dos dentes radulares com o tamanho dos espécimes analisados.

Capítulo II: “**Estrutura populacional e ciclo reprodutivo do gastrópode *Hastula cinerea* (Conoidea: Terebridae)**”. Neste capítulo foi analisada e caracterizada a estrutura populacional e reprodutiva da espécie *Hastula cinerea* na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, ao longo de 15 meses. Foi verificado o tamanho da concha e proporção sexual dos espécimes coletados, como também foram analisados, histologicamente, as gônadas e caracterizado o ciclo reprodutivo da espécie.

## 7. ÁREA DE ESTUDO

Todos os espécimes de *H. cinerea* foram coletados, mediante licença do IBAMA/SISBIO nº 57033, na praia arenosa de Flecheiras, município de Trairi, Ceará (3°13'10.34" S 39°16'23.25" O) (Fig. 6). Alguns exemplares de espécimes coletados na área, foram depositados na “Coleção Malacológica Prof. Henry Ramos Matthews (CMPHRM)”, série B da UFC (número de registro: CMPHRM6545B).



**Figura 6.** Mapa de localização da praia arenosa de Flecheiras no município de Trairi, Ceará, Brasil.

O município de Trairi situa-se na Mesorregião do Norte do Ceará e faz parte da Microrregião de Itapipoca, se distanciando da capital Fortaleza em 105 km (IPECE, 2021). Está inserido nas Bacias hidrográficas do rio Curu e do Litoral, sendo drenado pelos rios Trairi e Mundaú, e o córrego do Tamanduá; seu clima é definido como Tropical Quente Semiárido Brando e as temperaturas médias estão entre 26° e 28° (DOURADO *et al.*, 2016; IPECE, 2021; VIEIRA; FEITOSA; BENVENUTI, 1998). A pluviosidade anual média é de 1.589 mm, com chuvas no verão (janeiro a abril) (FUNCEME, 2021). A praia de Flecheiras pertencente – divisão político-administrativa – ao município de Trairi, fica inserida na região litorânea conhecida como litoral oeste do Ceará e possui uma alta movimentação turística (IPECE, 2021). (Fig. 7).



**Figura 7.** Área de coleta. Praia de Flecheiras, Trairi, Ceará.

A praia de Flecheiras é uma praia dissipativa que possui uma área de descobrimento da praia, na maré baixa, em torno de 120 m de extensão; a zona de arrebatção é moderadamente estreita e com muitas linhas de quebra de onda (ROCHA-BARREIRA, *et al.*, 2005; ROCHA-BARREIRA; QUEIROZ, 2019). Considerando que o ambiente físico das praias arenosas do Ceará possui uma diminuição no tamanho do grão da areia do leste ao extremo oeste da costa, a praia de Flecheiras possui uma característica de grãos mais fino, podendo variar entre os períodos e zonas (ROCHA-BARREIRA; QUEIROZ, 2019).

No período seco a constituição do sedimento na praia de Flecheiras é bastante variável, com a areia fina se concentrando nas zonas do supra litoral e faixa mais inferior e a área intermediária com areia média; no período chuvoso o sedimento é moderadamente selecionado, com areia muito fina, fina e média em toda a faixa de entre marés (ROCHA-BARREIRA, *et al.*, 2005; ROCHA-BARREIRA; QUEIROZ, 2019).

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, R. T. **American Seashells**. 2 th ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 663p. 1974.

ABSHER, T. M.; FERREIRA JUNIOR, A. L.; CHRISTO, S. W. **Conchas de Moluscos Marinhos do Paraná**. Curitiba - PR: Museu de Ciências Naturais - MCN - SCB – UFPR, 20 p. 2015.

ALBURAE, N.A.; MOHAMMED, A.E. Antiproliferative effect of the Red Sea cone snail, *Conus geographus*. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 19: 577–581. 2020.

ALONGI, D.M. The ecology of tropical soft-bottom benthic ecosystems **Oceanography and Marine Biology**. Annu. Rev., v. 28, pp. 381-496, 1990.

BANDEL, K. Spawning, development and ecology of some higher Neogastropoda from the Caribbean Sea of Colombia (South America). **The Veliger**, v. 19, n. 2, p. 176-193, 1976.

BOUCHET, P.; KANTOR, Y. I.; SYSOEV, A.; PUILLANDRE, N. A new operational classification of the Conoidea (Gastropoda ). **Journal of Molluscan Studies**, v. 77: 273–308. 2011.

BOUCHET, P.; ROCROI, J.; HAUSDORF, B.; KAIM, A.; KANO, Y.; NÜTZEL, A.; PARKHAEV, P.; SCHRÖDL, M.; STRONG, E.E. Revised classification, nomenclator and typification of gastropod and monoplacophoran families. **Malacologia**, v. 61, n. 1-2, p. 1-526, 2017.

BÜCHNER-MIRANDA, J. A.; SALAS-YANQUIN, L. P.; AVERBUJ, A., NAVARRO, J. M.; CUBILLOS, V. M.; MATOS, A.; ZABALA, SOLEDAD; CHAPARRO, O. R. Ontogenetic shifts of predatory strategies by the carnivorous gastropod *Acanthina monodon* (Pallas, 1774). **Malacologia**, v. 64, n. 1, p. 93-108, 2021.

CASTELIN, M.; PUILLANDRE, N.; KANTOR, Y.I.; MODICA, M. V.; TERRY, Y.; CRUAUD, C.; BOUCHET, P.; HOLFORD, M. Macroeolution of venom apparatus innovations in auger snails (Gastropoda; Conoidea; Terebridae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 64: 21–44. 2012.

CERNOHORSKY, W. O. **Tropical Pacific Marine Shells**. Pacific Publications – Sydney: New York, 1978.

CUNHA, T. J.; GIRIBET, G. A congruent topology for deep gastropod relationships. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 286: 20182776, n. 1898. 2019.

DEFEO, O.; MCLACHLAN, A. Patterns, processes and regulatory mechanisms in sandy beach macrofauna: a multi-scale analysis. **Marine Ecology Progress Series**, v. 295, p. 1-20, 2005.

DOURADO, E. G.; SANTOS, J. F.; HOLANDA, L. R.; SANTOS, J. L.; SOUSA, J. E. **Dunas, grupos ceramistas e exploração de recursos: Hipóteses para a ocupação na praia de Flecheiras, em Trairi – CE**. Revista Tarairiú. Campina Grande - PB, Ano VI. v.1, n.12. 2016.

FEDOSOV, A.E.; MALCOLM, G.; TERRY, Y.; GORSON, J.; MODICA, M.V.; HOLFORD, M.; PUILANDRE, N. Phylogenetic classification of the family Terebridae (Neogastropoda: Conoidea). **Journal of Molluscan Studies**, v. 85: 359–387. 2019.

FUNCEME. **Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos**. Disponível em: <http://www.funceme.br/>. Acessado em 23 de maio de 2021.

GIRIBET, G.; EDGEcombe, G. D. **The invertebrate tree of life**. Princeton University Press, 2020.

HOLFORD, M.; PULLIANDRE, N.; TERRY, Y.; CRUAUD, C.; OLIVEIRA B.; BOUCHET P. Evolution of the Toxoglossa venom apparatus as inferred by molecular phylogeny of the Terebridae. **Molecular Biology and Evolution**, v. 26, n. 1, p. 15-25, 2009.

IMPERIAL, J. S.; KANTOR, Y.; WATKINS, M.; HERALDE, F. M.; STEVENSON, B., CHEN, P.; HANSSON, K.; STENFLO, J.; OWNBY, J. P.; BOUCHET, P.; OLIVERA, B. M. Venomous auger snail *Hastula (Impages) hectica* (Linnaeus, 1758): Molecular phylogeny, foregut anatomy and comparative toxinology. **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**, v. 308: 744–756. 2007.

IPECE. **Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará**. Disponível em: <http://ipecedata.ipece.ce.gov.br/ipece-data-web/module/perfil-municipal.xhtml>. Acessado em 23 de maio de 2021.

KANTOR, Y.I.; PUILANDRE, N. Evolution of the Radular Apparatus in Conoidea (Gastropoda: Neogastropoda) as Inferred from a Molecular Phylogeny. **Malacologia**, v. 55: 55–90. 2012.

KANTOR, Y. I.; TAYLOR, J. D. Formation of marginal radular teeth in Conoidea (Neogastropoda) and the evolution of the hypodermic envenomation mechanism. **Journal of Zoology**, v. 252: 251–262. 2000.

KLUSSMANN-KOLB, A.; DINAPOLI, A.; KUHN, K.; STREIT, B.; ALBRECHT, C. From sea to land and beyond—new insights into the evolution of Euthyneuran Gastropoda (Mollusca). **BMC Evolutionary Biology**, v. 8, n. 1, p. 1-16, 2008.

MARCUS, E.; MARCUS, E. On *Hastula cinerea*. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Zoologia**, 23: 25–65. 1960.

MCLACHLAN, A.; DORVLO, A. Global patterns in sandy beach microbenthic communities. **Journal of Coastal Research**, v. 21, n. 4 (214), p. 674-687, 2005.

MILLER, B. A. The Biology of *Terebra gouldi* Deshayes, 1859, and a Discussion of Life History Similarities among other Terebrids of Similar Proboscis Type. **Pacific Science**, v. 29. N. 3. p. 227-241. 1975.

MILLER, B. A. The Biology of *Hastula inconstans* (Hinds, 1844) and a Discussion of Life History Similarities among other Hastulas of Similar Proboscis Type. **Pacific Science**, v. 33. N.3. 1979.

MILLS, P. M. Radular tooth structure in three species of Terebridae. **Veliger**, v. 19, p. 259-265, 1977.

MODICA, M.V.; GORSON, J.; FEDOSOV, A.E.; MALCOLM, G.; TERRY, Y.; PUILANDRE, N.; HOLFORD, M. Macroevolutionary Analyses Suggest That Environmental Factors, Not Venom Apparatus, Play Key Role in Terebridae Marine Snail Diversification. **Systematic Biology**, v. 69: 413–430. 2020.

MOLINA, W. F.; LIMA FILHO, P. A.; DANTAS, V. F. R.; MOTTA NETO, C. C.; BERTOLLO, L. A. C. Morphological differences associated with colour morphs of the auger snail *Hastula cinerea* (Conoidea: Terebridae) from northeast Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**. v. 93, n. 4, p. 1035. 2013.

MOLLUSCABASE, 2021. *Hastula cinerea* (Born, 1778). Disponível em: World Register of Marine Species: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=225109>. Acessado em 01 de abril de 2021.

MOLLUSCABASE, 2021. Terebridae. Disponível em: World Register of Marine Species: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=225109>. Acessado em 01 de abril de 2021.



MOLLUSCABASE, 2021. Terebrinae. Disponível em: World Register of Marine Species: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=225109>. Acessado em 01 de abril de 2021.

NARCHI, W. Ciclo anual da gametogênese de *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia). **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, v. 1, n. 1, p. 331-350, 1976.

NYBAKKEN, J.; PERRON, F. Ontogenetic change in the radula of *Conus magus* (Gastropoda). **Marine Biology**, v. 98, 239-242. 1988.

PUILLANDRE, N.; KANTOR, Y.U.I.; SYSOEV, A.; COULOUX, A.; MEYER, C.; RAWLINGS, T.; TODD, J.A.; BOUCHET, P. The Dragon tamed? A molecular phylogeny of the Conoidea (Gastropoda). **Journal of Molluscan Studies**, v. 77: 259–272. 2011.

PUILLANDRE, N.; FEDOSOV, A.E.; KANTOR, Y.I. Systematics and Evolution of the Conoidea. In: **Evolution of Venomous Animals and Their Toxins** (P. Gopalakrishnakone & Anita Malhotra, eds), pp. 367–398. Springer. 2016.

PUILLANDRE, N.; HOLFORD, M. The Terebridae and teretoxins: Combining phylogeny and anatomy for concerted discovery of bioactive compounds. **BMC Chemical Biology**, v. 10(1): 1-12. 2010.

RIOS, E. C. **Compendium of Brazilian sea shells**. Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande: Editora Evangraf, 668p. 2009.

ROCHA-BARREIRA, C. A. *et al.* Levantamento da macroinfauna bentônica de ambientes inconsolidados do estado do Ceará: faixa entremarés de praias arenosas. **Programa Ecológico e Econômico da Zona Costeira do Estado do Ceará**, 2005.

ROCHA-BARREIRA, C. A.; QUEIROZ, L. S. Morphodynamics and macrofauna communities in 12 sandy beaches of Brazil Northeast: a semiarid tropical study. In: MOCHEL F. R. (org.) **Gerenciamento costeiro e gerenciamento portuário 2**. Ponta Grossa, PR: Atena Editora. p. 85 – 106. 2019.

RUPPERT, E.; BARNES, R.D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6ª ed., São Paulo: Editora Roca, 1029p. 1996.

SIMONE, L. R. L. A phylogenetic study of the Terebrinae (Mollusca, Caenogastropoda, Terebridae) based on species from the Western Atlantic. **Journal of Comparative Biology (Ribeirão Preto)**, v. 3(2) 1998.

SIMONE, L.R.L. Comparative morphology and systematics of Brazilian Terebridae (Mollusca, Gastropoda, Conoidea), with descriptions of three new species. **Zoosystema**, v. 21: 199–248. 1999.

TERRY, Y. Terebridae: A Collectors Guide. **Conchbooks, Hackenheim, Germany & NaturalArt, Gent, Belgium**, v. 65, 2007.

URIBE, J. E.; ZARDOYA, R.; PUILANDRE, N. Phylogenetic relationships of the conoidean snails (Gastropoda: Caenogastropoda) based on mitochondrial genomes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 127, p. 898-906, 2018.

VELOSO, V. G.; CARDOSO, R. S. Effect of morphodynamics on the spatial and temporal variation of macrofauna on three sandy beaches, Rio de Janeiro State, Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 81, n. 3, p. 369-375, 2001.

VERDES, A.; ANAND, P.; GORSON, J.; JANNETTI, S.; KELLY, P.; LEFFLER, A.; SIMPSON, D.; RAMRATTAN, G.; HOLFORD, M. From Mollusks to Medicine: A Venomics Approach for the Discovery and Characterization of Therapeutics from Terebridae Peptide Toxins. **Toxins**, v. 8. 2016.

VERMEIJ, G. J. Shell features associated with the sand-burying habit in gastropods. **Journal of Molluscan Studies**, v. 83, n. 2, p. 153-160, 2017.

VIEIRA, A. T.; FEITOSA, F. A. C.; BENVENUTI, S. M. P. Diagnóstico do município de Trairi. **Programa de recenseamento de fontes de abastecimento por água subterrânea no estado do Ceará**. 1998.

VORTSEPNÉVA, E.; TZETLIN, A.; KANTOR, Y. First ultrastructural study of the formation of the hypodermic radula teeth of *Conus* (Neogastropoda: Conidae). **Journal of Molluscan Studies**, v. 85: 184–196. 2019.

WANNINGER, A.; WOLLESEN, T. The evolution of molluscs. **Biological Reviews**, v. 94, n. 1, p. 102-115, 2019.

## CAPÍTULO I

**VARIAÇÃO NO DENTE RADULAR HIPODÉRMICO DO GASTRÓPODE *Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)**

## 8. CAPÍTULO I

### VARIAÇÃO NO DENTE RADULAR HIPODÉRMICO DO GASTRÓPODE *Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)

#### RESUMO

Este estudo fornece detalhes sobre as variações morfológicas dos dentes radulares da espécie *Hastula cinerea*, que possui dentes radulares do tipo toxoglossa. Espécimes de *H. cinerea* foram coletados na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, NE Brasil. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para analisar as especificidades radulares. Foram usados trinta espécimes: dezesseis machos e quatorze fêmeas de diferentes tamanhos. O comprimento total da concha foi medido. Com as análises do MEV, mais de um morfotipo de dente radular foi encontrado para a espécie *H. cinerea*. O padrão dos dentes encontrados é semelhante aos dentes do tipo hipodérmico do grupo, mas com diferenças estruturais e dimensionais entre indivíduos maiores e menores. Foi possível observar três variações radulares (morfotipo-1, morfotipo-2 e morfotipo-3), relacionadas aos diferentes tamanhos de espécimes, independente do sexo, configurando uma variação radular. Portanto, esse resultado incentiva novas pesquisas sobre a morfologia funcional de *H. cinerea*.

**Palavras-chave:** morfologia; dimorfismo; toxoglossa; rádula; MEV.

### VARIATION IN THE RADULAR HYPODERMIC TOOTH OF THE GASTROPOD

*Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)

#### ABSTRACT

This study provides details on the morphological variations in the radula teeth of the species *Hastula cinerea*, which have hypodermic radular teeth of the toxoglossa type. *H. cinerea* specimens were collected at Flecheiras beach, Trairi, Ceará, NE Brazil. Scanning electron microscopy (SEM) was performed to analyse the radula specificities. Thirty specimens were used: sixteen males and fourteen females of different sizes. The total length of the shell was measured. With the SEM analyses, more than one radula tooth morphotype was found for the species *H. cinerea*. The pattern of the teeth found is similar to the hypodermic teeth of the group, however, with structural and dimensional differences between smaller and larger individuals. It was possible to observe three radula variations (morphotype-1, morphotype-2 and morphotype-3), related to different sizes of individuals, regardless of sex, configuring a variation in the radula teeth. Therefore, this result brings a contribution that stimulates future research with the functional morphology of *H. cinerea*.

**Key words:** morphology; dimorphism; toxoglossa; radula; SEM.

## INTRODUÇÃO

A família Terebridae, junto com a família Conidae, é uma das mais diversas – cerca de 400 espécies de terebrídeos – na superfamília Conoidea; há alta plasticidade dentro dos conoideos, o que impulsiona o sucesso evolutivo, levando a especiação do grupo (FEDOSOV *et al.*, 2020; MODICA *et al.*, 2020). Os terebrídeos estão distribuídos em oceanos tropicais e subtropicais e variam de 15 a 150 mm em comprimento de concha (TAYLOR; MILLER, 1990; CASTELIN *et al.*, 2012; FEDOSOV *et al.*, 2020).

A espécie *Hastula cinerea* (Born, 1778), pertencente à família Terebridae, possui probóscide pleurembólica, que se encontra abrigada na cavidade rincodeal (MARCUS; MARCUS, 1960; TAYLOR, 1990; SIMONE, 1999), com dentes marginais hipodérmicos (MARCUS; MARCUS, 1960; BANDEL, 1984; TAYLOR, 1990; SIMONE, 1999). A espécie habita praias arenosas e é ativa durante as marés altas, onde se alimenta principalmente de poliquetas, fazendo uso de seus dentes hipodérmicos contendo a peçonha (MARCUS; MARCUS, 1960; MATTHEWS *et al.*, 1975; SIMONE, 1999; MOLINA *et al.*, 2012) No Brasil, esta espécie se distribui ao longo da costa do Ceará a Santa Catarina (RIOS, 2009).

O aparelho radular é diversificado mesmo dentro de famílias e gêneros de conoideos. Pode ser composto por mais de uma estrutura; por exemplo, o saco radular e o ceco radular são adjacentes, formando parte de uma única estrutura - o divertículo radular - localizado na base da probóscide (TAYLOR, 1990; TAYLOR; KANTOR; SYSOEV, 1993). No saco radular, há dentes em formação, enquanto no ceco radular, há apenas dentes maduros prontos para serem usados (TAYLOR; MILLER, 1990; TAYLOR; KANTOR; SYSOEV, 1993; IMPERIAL *et al.*, 2007; CASTELIN *et al.*, 2012).

O ceco radular está presente em muitos conoideos, a exemplo de alguns gêneros da família Terebridae, como *Hastula* e *Terebra*. A bolsa sublingual encontrada em gastrópodes com fita radular é considerada homóloga ao ceco radular (TAYLOR; KANTOR; SYSOEV, 1993). Uma membrana sub-radular também pode estar presente em muitas rádulas do tipo toxoglossa; pode persistir em dentes maduros, com fixação mantida no ceco radular, como na família Terebridae (IMPERIAL *et al.*, 2007; CASTELIN *et al.*, 2012).

A anatomia da estrutura radular e do aparato de peçonha das espécies de Terebridae sugere que exista uma estratégia semelhante à da família Conidae, que é a mais estudada na superfamília Conoidea (BANDEL, 1984; IMPERIAL *et al.*, 2007). No entanto, existem diferenças pontuais no mecanismo de envenenamento da presa e alimentação, em que nos terebrídeos um único dente é transferido para a ponta da probóscide e a peçonha é

injetada através deste dente na presa, já em Conidae vários dentes estão no ceco radular prontos para uso imediato, podendo ser usado em uma única presa. (BANDEL, 1984; IMPERIAL et al., 2007). Assim, entender o desenvolvimento radular e do aparato de peçonha na superfamília Conoidea é fundamental para a compreensão da história evolutiva de todo o grupo (HOLFORD et al., 2009; CASTELIN et al., 2012; KANTOR; PUILLANDRE, 2012).

Apesar de diversos estudos terem sido realizados a respeito da morfologia radular em conoideos (e.g. NYBAKKEN; PERRON, 1988; VORTSEPNEVA; TZETLIN; KANTOR, 2019; VORTSEPNEVA; HERBERT; KANTOR, 2020), ainda são poucos os estudos que foram realizados sobre as especificidades e funções dos dentes radulares da espécie *H. cinerea* (MARCUS; MARCUS, 1960; BANDEL, 1984; TAYLOR, 1990; SIMONE, 1999), e nenhum estudo foi realizado sobre as variações nos seus dentes radulares.

Desta forma, o objetivo do estudo foi examinar as especificidades radulares, relacionando-as ao tamanho da concha e ao sexo dos indivíduos, a fim de testar a hipótese de que existe variação nos dentes radulares de *H. cinerea*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostragem e procedimento laboratorial**

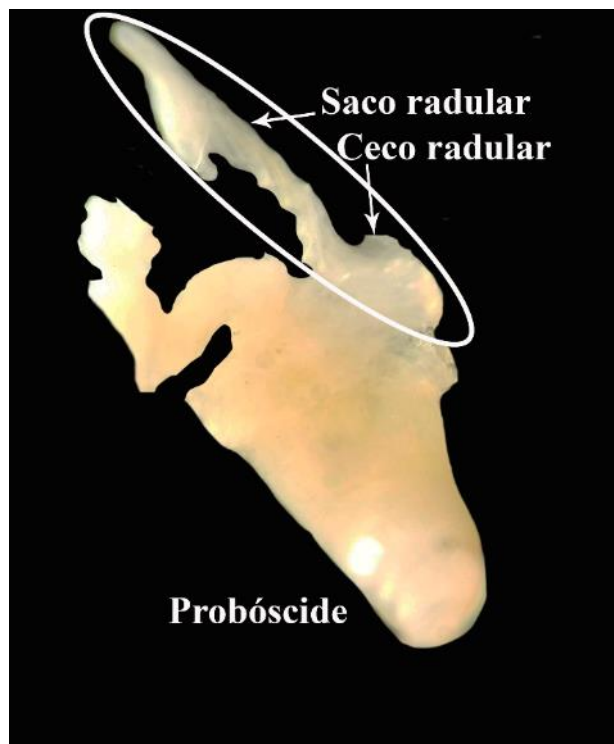
Espécimes de *H. cinerea* (Fig. 1) foram coletados na região entre marés na praia arenosa de Flecheiras, na cidade de Trairi, Ceará, Brasil (3°13'10.34" S 39°16'23.25" O). No laboratório, os espécimes foram separados de acordo com o sexo. Os indivíduos foram, então, medidos com um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. Todos os espécimes foram analisados quanto as características morfológicas da sua concha e a anatomia interna, baseados, principalmente, no trabalho descritivo de Simone (1999).



**Figura 1.** Espécimes de *Hastula cinerea* coletados na praia de Flecheiras Trairi, Ceará, Brasil. Barra de escala: 10 mm.

#### **Preparação radular para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Para a análise radular, utilizando o MEV, foram usados 30 indivíduos de diferentes tamanhos (16 machos e 14 fêmeas; 19-48,5 mm no comprimento da concha). Após medir o comprimento da concha, cada espécime foi dissecado em microscópio estereoscópio, e a probóscide e o divertículo radular (saco radular e ceco radular) foram separados (Fig. 2).



**Figura 2.** Probóscide e em destaque (círculo) o saco radular e ceco radular de *Hastula cinerea*. Barra de escala: 10 mm.

O protocolo de dissolução da rádula foi adaptado de Matthews-Cascon *et al.* (2005). As estruturas foram dissolvidas em hidróxido de potássio (KOH) a 10% para remover todo o tecido mole, permanecendo apenas os dentes radulares. A probóscide foi dissolvida separadamente do divertículo radular para verificar a existência de dentes radulares prontos para uso imediato. Pela abordagem anatômica (Fig. 2), o saco e o ceco radular foram dissolvidos juntos. Após a dissolução do tecido mole, os dentes radulares foram separados e lavados em água destilada. Posteriormente, os dentes foram desidratados em uma série crescente de álcool (70%, 80%, 90% e 100% P.A., 40 min cada).

Em seguida, os dentes permaneceram imersos em álcool 100% P.A. até que o material fosse montado – com o auxílio do microscópio estereoscópio para coleta dos dentes radulares – em *stubs* com fita adesiva específica e submetido à análise em MEV na Central Analítica da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os dentes radulares foram posicionados de maneira horizontal nos *stubs* e as micrografias foram realizadas em ângulo de 90°.

Após a análise em MEV, o material foi depositado na “Coleção Malacológica Prof. Henry Ramos Matthews (CMPHRM)”, série B da UFC (números de registro: CMPHRM6584B - CMPHRM6586B).



## **Análises de dados**

Os dentes foram medidos (comprimento – distância entre a base e o ápice), por meio de suas imagens após MEV, no programa ImageJ.

Os dados foram testados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Teste de Levene). Não atenderam os pressupostos e o teste não paramétrico de Mann-Whitney foi utilizado para comparar o tamanho dos dentes radulares entre os sexos. Para comparar o tamanho dos diferentes morfotipos de dentes, foram utilizados os testes não paramétricos de Kruskal - Wallis e Mann - Whitney a posteriori. A análise de correlação de Spearman foi realizada para observar a relação entre o tamanho do dente e o comprimento da concha de indivíduos com *H. cinerea*. Também foi testada uma equação de crescimento alométrico logarítmica: Log (comprimento do dente radular) versus Log (comprimento da concha). Os testes foram realizados com nível de significância  $\alpha = 0,05$  (ZAR, 1999). Todas as análises foram feitas no R v.4.0 (R CORE TEAM, 2016).

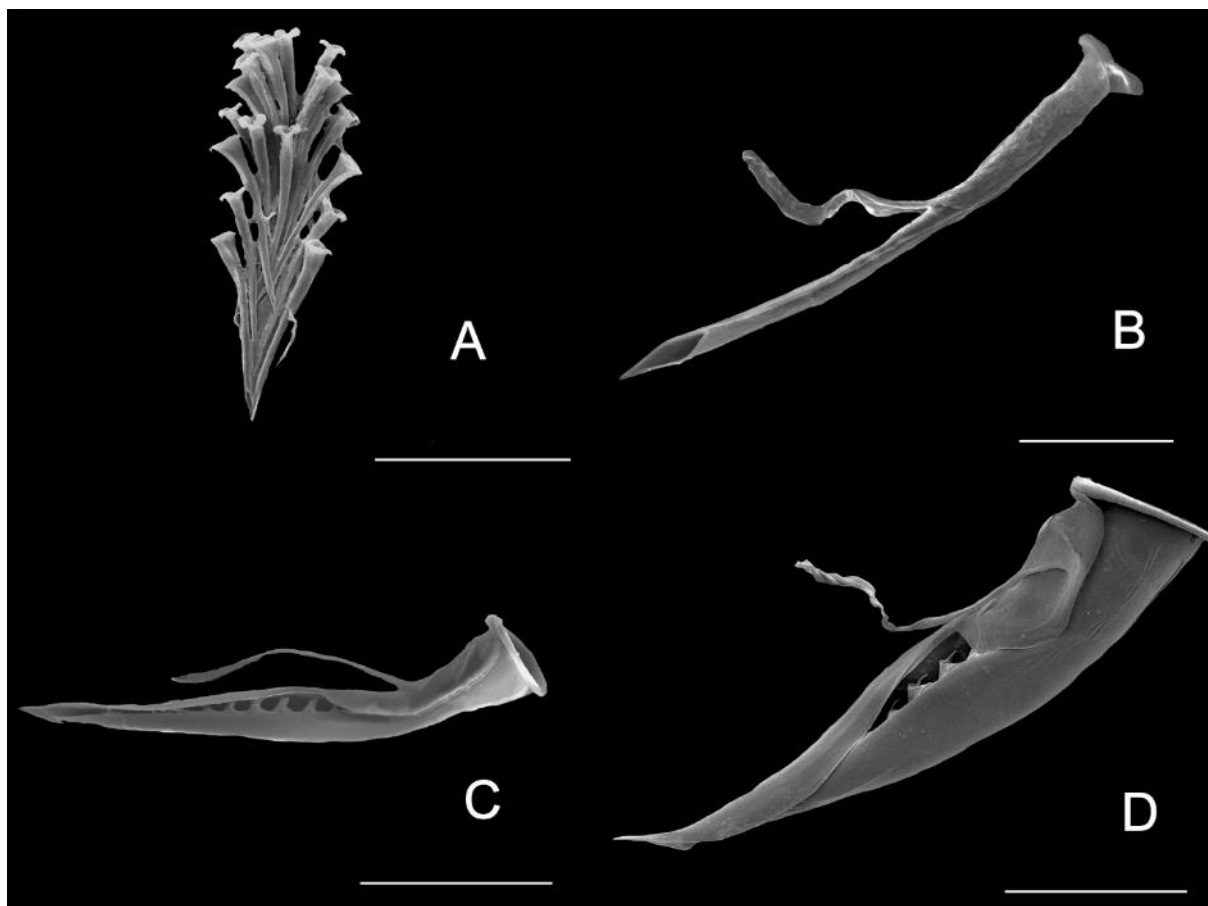
## **RESULTADOS**

### **Morfologia dos dentes radulares**

Nenhum dente foi encontrado nas probóscides analisadas. Portanto, todos os dentes utilizados na análise MEV foram provenientes do divertículo radular, considerando o saco radular e o ceco radular.

Foram observadas variações nos dentes radulares dos espécimes de *H. cinerea* analisados, independentemente do sexo. Nenhuma diferença foi encontrada no tamanho dos dentes radulares entre macho e fêmea (Mann-Whitney:  $z = 0,82$ ,  $p = 0,41$ ).

Foram observados dentes radulares ainda aderidos à membrana sub-radular (Fig. 3a). Três variações de dentes radulares foram visualizadas e, portanto, classificadas em três morfotipos: morfotipo de dente radular-1 (M1), morfotipo de dente radular-2 (M2) e morfotipo de dente radular-3 (M3) (Fig. 3b, 3c, e 3d, respectivamente). Quando visualizados em microscópio estereoscópio, os morfotipos também seguiram os padrões visualizados em MEV.



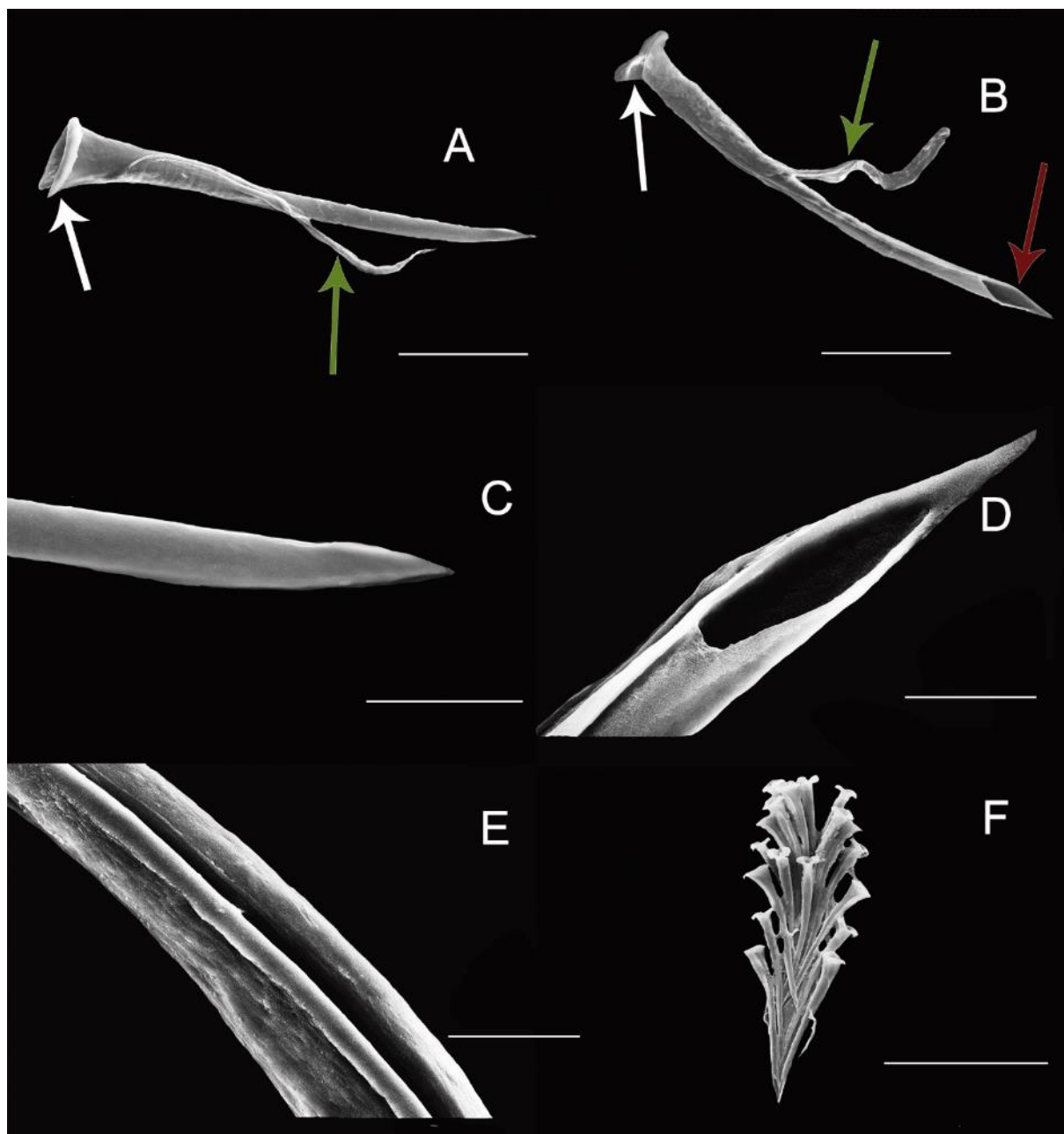
**Figura 3.** Variação dos dentes radulares observada em *Hastula cinerea*. **A.** dentes ainda presos à membrana sub-radular; **B.** dente morfotipo-1; **C.** dente morfotipo-2; **D.** dente morfotipo-3. Barras de escala: **A** = 200  $\mu\text{m}$ ; **B** = 50  $\mu\text{m}$ ; **C** = 200  $\mu\text{m}$ ; **D** = 400  $\mu\text{m}$ .

Dos 30 espécimes analisados, 17 apresentaram dentes M1, apenas 3 apresentaram dentes M2 e 10 apresentaram dentes M3. Todos os espécimes apresentaram um único morfotipo de dentes radulares.

O número de dentes presentes em cada indivíduo era variável, chegando a  $> 20$  em alguns espécimes e  $< 10$  em outros. O número de dentes também variou entre os morfotipos, seguindo a ordem:  $M1 > M2 > M3$ , sendo que os de M1 frequentemente encontravam-se ainda aderidos à membrana sub-radular. Assim, o número total de dentes radulares foi de 160, 15 e 45 para os morfotipos M1, M2 e M3, respectivamente, e todos foram analisados.

M1 é um dente característico do tipo hipodérmico, na forma de um tubo semelhante a uma folha enrolada com bordas sobrepostas. Este dente é fino, da base ao ápice, semelhante a uma agulha (Fig. 4a e 4b). M1 possui uma abertura que vai da base ao ápice (Fig. 4b). A base é curvada para fora formando uma base circular ao redor da abertura (Fig. 4a e 4b, setas brancas). O ápice lembra a ponta de uma agulha, pontiaguda e triangular (Fig. 4c e 4d). Na região central, só é possível ver as bordas sobrepostas, como se uma folha estivesse

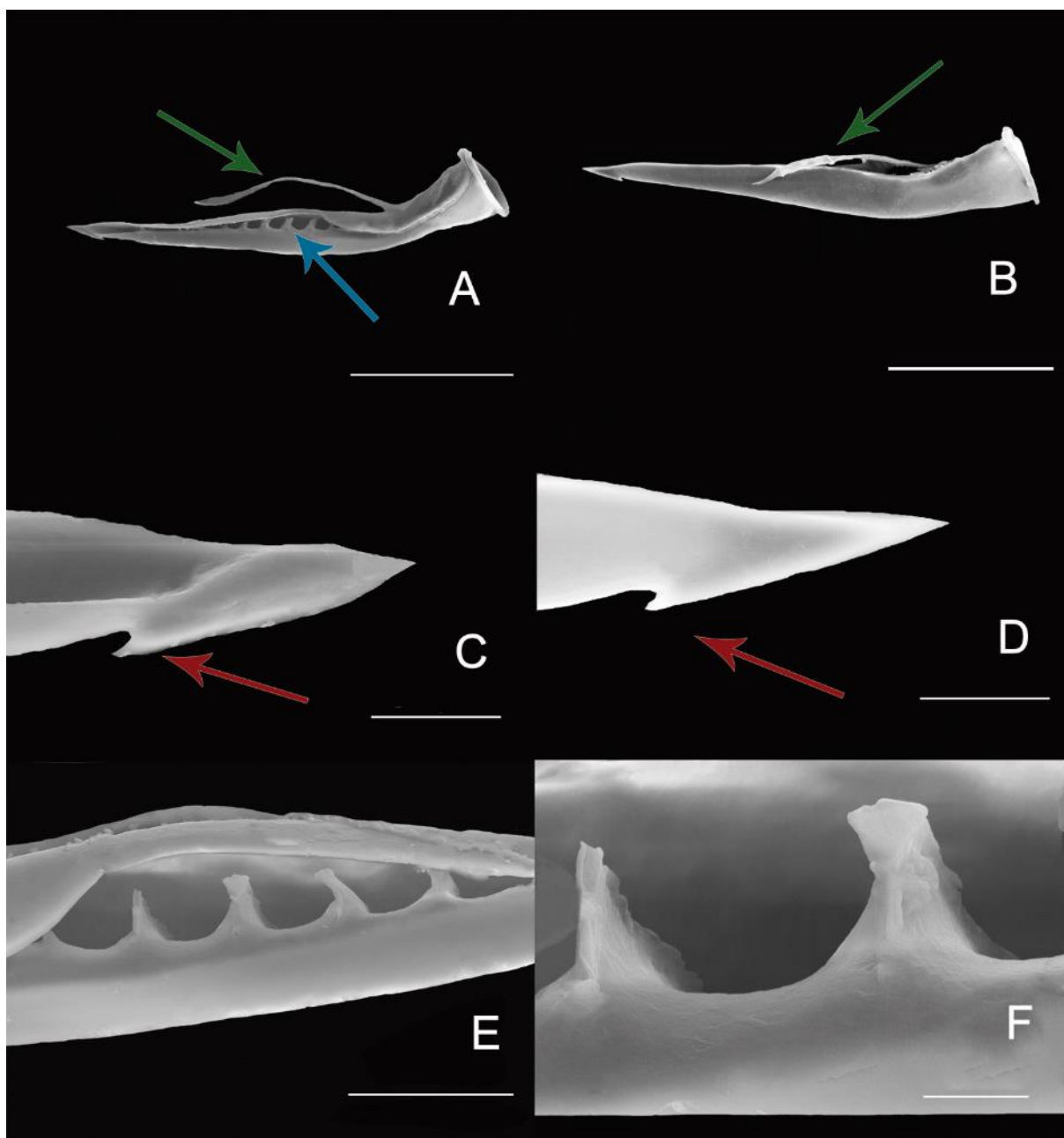
fechada (Fig. 4e). M1 possui um ligamento (pedúnculo longo e flexível) que é a continuação da base que se estende até próximo ao ápice (Fig. 4a e 4b, setas verdes). Uma característica marcante observada é que, geralmente, esses dentes ainda estavam aderidos à membrana subradular e alguns ainda permaneceram na membrana mesmo após o uso de KOH para dissolver os tecidos moles (Fig. 4f). Não foram observados dentículos nas análises em MEV, como também não foram observados em microscopia óptica.



**Figura 4.** Morfologia do dente morfotipo-1 de *Hastula cinerea*. **A.** visão geral do dente; a seta branca indica a abertura da base e a seta verde aponta para o ligamento. **B.** visão geral do dente; a seta branca indica a abertura da base, a seta verde aponta para o ligamento, o ápice do dente é destacado com a seta vermelha indicando a abertura. **C.** ápice pontiagudo, triangular e liso; visto do lado oposto à sua abertura. **D.** abertura do ápice pontiagudo, triangular e liso. **E.**

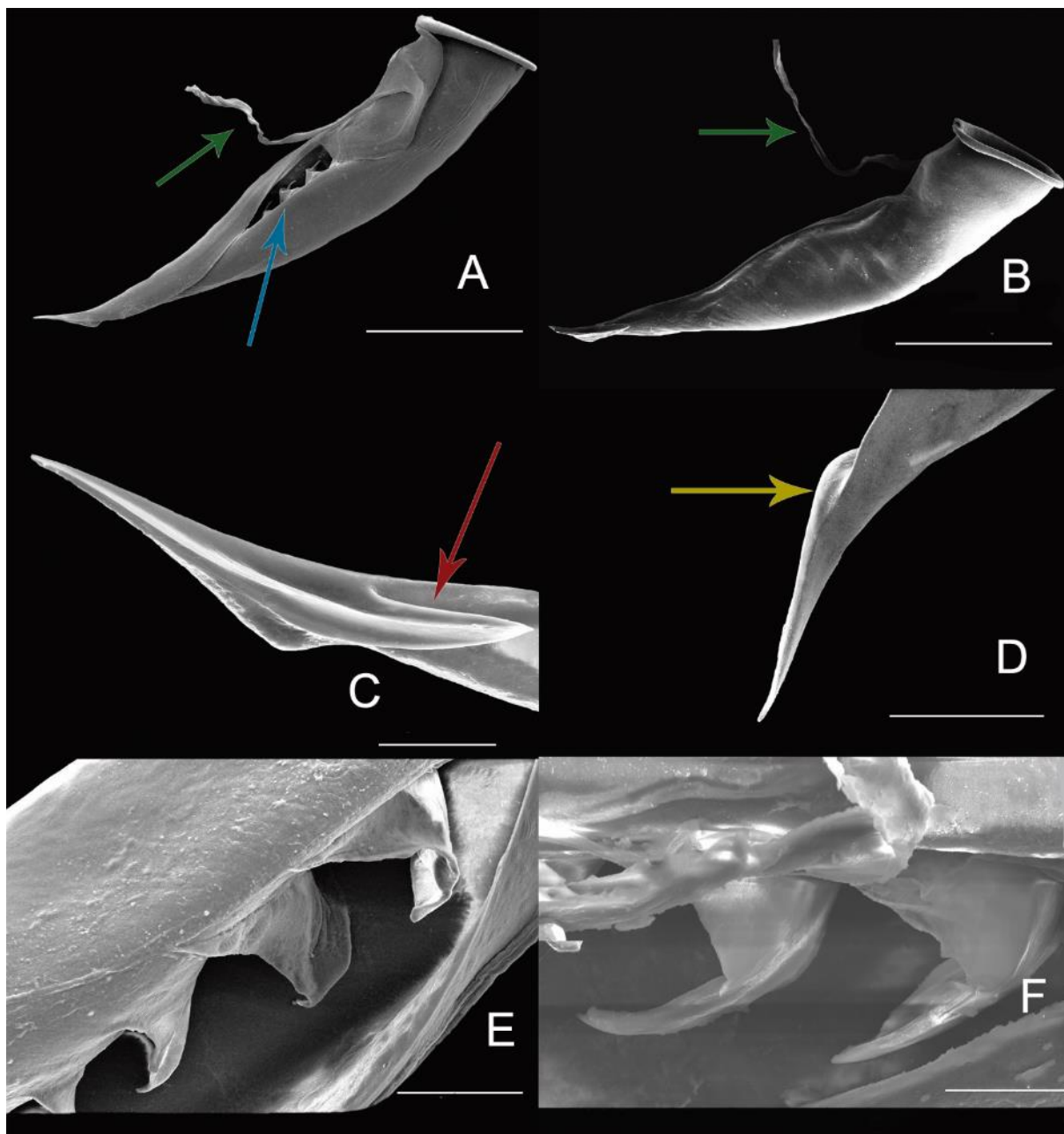
região central com bordas sobrepostas. **F.** dentes presos a membrana sub-radular. Barra de escala: **A** = 50  $\mu\text{m}$ ; **B** = 50  $\mu\text{m}$ ; **C** = 20  $\mu\text{m}$ ; **D** = 10  $\mu\text{m}$ ; **E** = 10  $\mu\text{m}$ ; **F** = 200  $\mu\text{m}$ .

M2 também é um dente característico do tipo hipodérmico em forma de tubo semelhante a uma folha enrolada com bordas sobrepostas; uma abertura vai da base ao ápice, e a base é curvada para fora formando uma borda circular ao redor da abertura. Estruturalmente – difere de M1 (Fig. 5a e 5b), pois apresenta um ápice pontudo (pontiagudo e triangular) com entalhe (Fig. 5c e 5d, setas vermelhas). Além disso, na região central, existe uma abertura dentada com projeções inicialmente curvas e pontiagudas (Fig. 5a, seta azul; 5e; e 5f). Porém, assim como M1, M2 também possui uma continuação ligamentar da base que se estende até próximo ao ápice (Fig. 5a e 5b, setas verdes).



**Figura 5.** Morfologia do dente morfotipo-2 de *Hastula cinerea*. **A.** visão geral do dente; a seta verde indica o ligamento e a seta azul aponta para as serrilhas da região central. **B.** visão geral do dente de outro ângulo; a seta verde indica o ligamento. **C.** ápice pontiagudo e triangular com abertura visível; a seta vermelha indica o entalhe. **D.** de outro ângulo, ápice pontiagudo e triangular; seta vermelha indica entalhe sem a presença de protuberância. **E.** destacam-se as serrilhas (abertura dentada) com projeção inicialmente curva e pontiaguda, no centro do dente. **F.** serrilhados com projeções inicialmente curvas e pontiagudas no centro do dente. Barra de escala: **A** = 200  $\mu\text{m}$ ; **B** = 200  $\mu\text{m}$ ; **C** = 20  $\mu\text{m}$ ; **D** = 20  $\mu\text{m}$ ; **E** = 50  $\mu\text{m}$ ; **F** = 10  $\mu\text{m}$ .

M3 também é um dente característico do tipo hipodérmico, com a forma de um tubo enrolado com bordas sobrepostas, com uma abertura da base ao ápice e uma borda curva para fora formando uma borda circular em torno da abertura. No entanto, este morfotipo é mais robusto na base e diminui gradualmente para o ápice (Fig. 6a e 6b). Semelhante ao M2, o ápice se assemelha a uma lança (pontiaguda e triangular) com um entalhe; porém esse entalhe é maior em M3 (Fig. 6c, seta vermelha) e tem uma protuberância (Fig. 6d, seta amarela). Na região central, M3 também apresenta uma abertura dentada e projeções curvas e pontiagudas totalmente desenvolvidas (Fig. 6a, seta azul; 6e; e 6f). Possui também o ligamento que é uma continuação da base até próximo ao ápice, como nos demais morfotipos (Fig. 6a e 6b, setas verdes). Assim, este morfotipo é estruturalmente semelhante ao M2. Nenhum dente deste morfotipo foi encontrado aderido à membrana sub-radular.



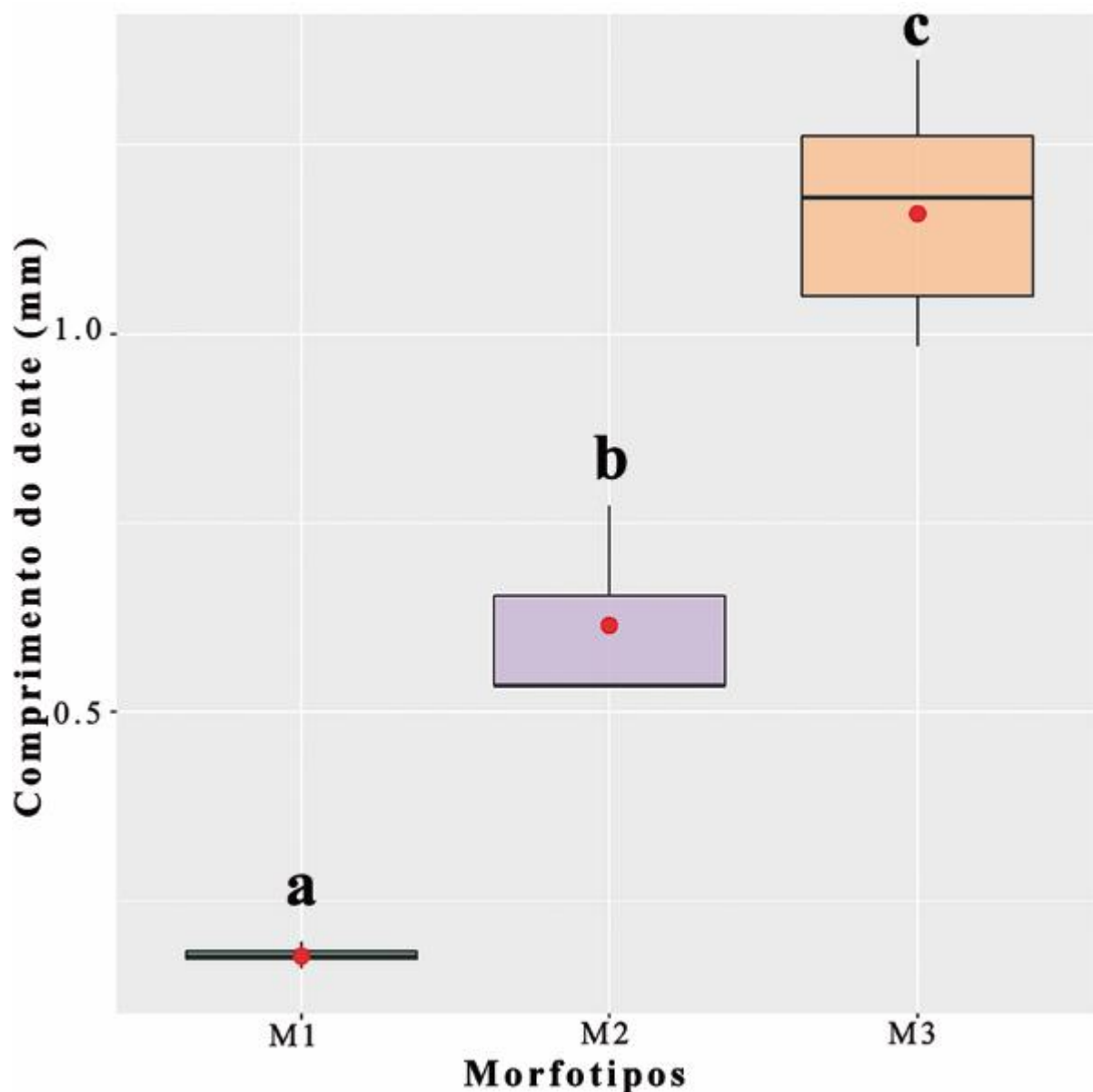
**Fig.ura 6.** Morfologia do dente morfotipo-3 de *Hastula cinerea*. **A.** visão geral do dente, mais robusto na base e mais fino no ápice; a seta verde indica o ligamento e a seta azul aponta para as serrilhas na região central **B.** visão geral do dente de outro ângulo; a seta verde indica o ligamento. **C.** ápice pontiagudo e triangular; a seta vermelha indica o entalhe. **D.** de outro ângulo, ápice pontiagudo e triangular; a seta amarela indica uma protuberância. **E.** as serrilhas (abertura dentada) com projeções curvas e pontiagudas no centro do dente são destacadas. **F.** serrilhados com projeções curvas e farpadas no centro do dente. Barra de escala: **A** = 400  $\mu\text{m}$ ; **B** = 400  $\mu\text{m}$ ; **C** = 50  $\mu\text{m}$ ; **D** = 100  $\mu\text{m}$ ; **E** = 50  $\mu\text{m}$ ; **F** = 50  $\mu\text{m}$ .

### Morfometria radular

Os dentes M1 apresentaram comprimento médio de 0,177 mm ( $\pm 0,01$ ), com menor tamanho de 0,150 mm e maior tamanho de 0,199 mm. Os dentes M2 apresentaram comprimento médio de 0,614 mm ( $\pm 0,12$ ), com menor tamanho de 0,508 mm e maior

tamanho de 0,794 mm. Os dentes M3 apresentaram comprimento médio de 1,19 mm ( $\pm 0,14$ ), com menor tamanho de 0,923 mm e maior tamanho de 1,44 mm. Assim, o comprimento dos dentes M3 foram maiores que M1 e M2, e os dentes M2 foram maiores que M1.

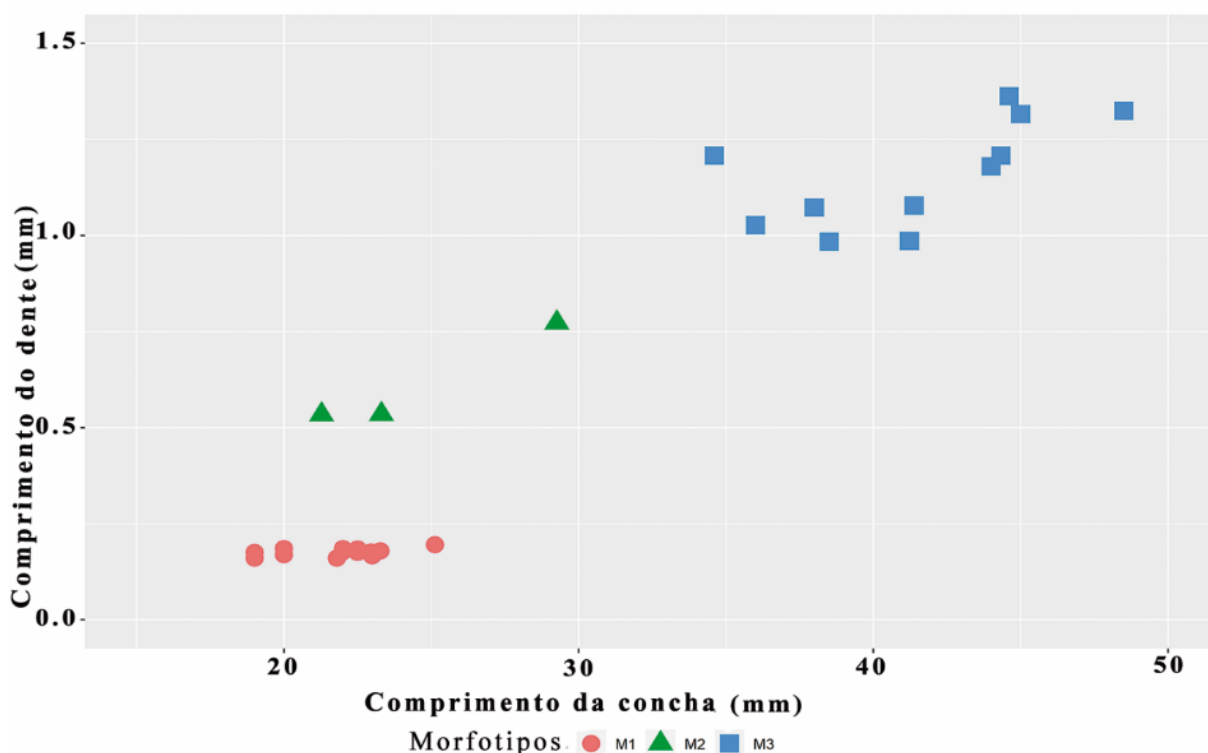
Diferença estatisticamente significativa foi verificada entre os morfotipos com relação aos tamanhos dos dentes (Kruskal – Wallis: 23,20,  $df = 2$ ,  $p < 0,05$ ). O teste de Mann-Whitney a posteriori mostrou que os três morfotipos diferem entre si em tamanho (Fig. 7).



**Figura 7.** Comprimento médio dos três morfotipos de dentes radulares de *Hastula cinerea*. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) – teste a posteriori de Mann-Whitney

### Relação comprimento da concha x comprimento do dente radular

Houve correlação positiva significativa entre o comprimento da concha e o tamanho dos dentes radulares (Spearman:  $r = 0,84$ ;  $p < 0,05$ ). Animais menores (19 a 29,9 mm no comprimento da concha) apresentaram dentes M1 ou M2, enquanto os animais maiores (30 a 48,5 mm no comprimento da concha), dentes M3 (Fig. 8). Foi encontrado um crescimento alométrico positivo entre o comprimento da rádula (CD) e o comprimento da concha (SL) (Equação alométrica:  $CD = 2.59SL - 4.14$ ;  $R^2 = 0.86$ ,  $p < 0.001$ ).



**Figura 8.** Correlação de Spearman entre o comprimento da concha e o comprimento dos dentes de espécimes de *Hastula cinerea* ( $r = 0,84$ ;  $p < 0,05$ ). Os círculos vermelhos representam os dentes do morfotipo-1, os triângulos verdes representam os dentes do morfotipo-2 e os quadrados azuis representam os dentes do morfotipo-3.

### DISCUSSÃO

Este estudo é o primeiro a identificar a variação em dentes radulares na espécie *H. cinerea*. Essa variação é atribuída à diferença radular, considerando a relação dos dentes com os diferentes tamanhos dos indivíduos, independente do sexo. Os dentes de espécimes do gênero *Hastula* são do tipo hipodérmicos marginais conectados a uma membrana fina e reduzida e, muitas vezes, com múltiplas perfurações nas paredes dos dentes (FEDOSOV *et al.*, 2020). No entanto, essas perfurações não foram encontradas em *H. cinerea*. Neste estudo, foi possível visualizar os dentes ainda aderidos à membrana. Conhecida como membrana sub-



radular, a mesma está presente em *H. hectica* (Linnaeus, 1758) e *H. cinerea*, e sua integridade persiste mesmo após a dissolução do saco radular ou ceco radular, mantendo os dentes fixos na membrana (IMPERIAL *et al.*, 2007; CASTELIN *et al.*, 2012). No entanto, durante o crescimento radular, os dentes presentes no ceco radular são transferidos da região mais antiga da membrana para a ponta da probóscide até que sejam usados (IMPERIAL *et al.*, 2007).

Foram encontrados três morfotipos (M1, M2 e M3), dois destes (M1 e M2) foram característicos de indivíduos com menores comprimentos de concha, enquanto o M3 foi característico daqueles com maiores comprimentos. M2, por apresentar estruturas semelhantes - mas claramente reduzidas - às de M3, está em processo de transformação radular de M1 para M3. Assim, o padrão dos dentes encontrados em *H. cinerea* neste estudo é semelhante aos dentes do tipo hipodérmico do grupo (por exemplo, BANDEL, 1984; CALVO, 1987; NYBAKKEN; PERRON, 1988; TAYLOR, 1990; SIMONE, 1999; IMPERIAL *et al.*, 2007; CASTELIN *et al.*, 2012; VORTSEPNEVA *et al.*, 2019; FEDOSOV *et al.*, 2020). Porém, dentes radulares de *H. cinerea* apresentam diferenças estruturais e de tamanho dentro da espécie, discriminadas nos três morfotipos descritos neste estudo.

Marcus e Marcus (1960) descreveram o dente de *H. cinerea* semelhante ao de M2 encontrado no presente estudo; a semelhança deveu-se principalmente ao tamanho detalhado do dente, que era de 0,54 mm. Bandel (1984) descreveu a rádula de espécimes do gênero *Terebra*, entre eles a de *H. cinerea* [descrita como *Terebra cinerea* (Born, 1778)]; a descrição inclui características como uma pequena farpa no ápice dos dentes. Juntando as características detalhadas e as imagens fornecidas naquele estudo, os dentes descritos por Bandel se assemelham ao M2. Calvo (1987) descreveu o dente de *H. cinerea* semelhante ao de M2, sendo um dente levemente arqueado. Seguindo o mesmo padrão, Taylor (1990) mencionou que algumas espécies do gênero *Hastula* possuem a forma mais simples e completa de dentes; entre as espécies citadas estavam *H. penicilata* (Hinds, 1844), *H. salleana* (Deshayes, 1859) e *H. cinerea*, que tinha dentes robustos com ponta farpada, semelhante a um arpão e uma base larga - semelhante a M2 e M3. Observando as imagens e parte da descrição do estudo publicado por Simone (1999), o autor pode ter observado dente semelhante ao M1; no entanto, o comprimento do dente descrito foi de 650 µm, indicando dente em transformação - M2. Contudo, esses estudos anteriores não mencionam a variação dos dentes radulares em *H. cinerea*.

Imagens em MEV são essenciais para diagnosticar e reconhecer diferenças sutis em estruturas como a rádula. Quando bem detalhadas, tais análises podem confirmar ou excluir diferenças pré-visualizadas, o que poderia ter acontecido nos estudos citados acima. Nossa pesquisa, além de pré-visualizar os dentes radulares – parte interna e externa – em microscopia óptica, teve o MEV como ponto chave para tornar a análise mais robusta. Portanto, fica clara a importância de analisar um grande número de espécimes de diferentes tamanhos, pré-visualizar em microscopia óptica e capturar imagens em MEV da estrutura de vários ângulos. A análise em MEV auxilia na identificação de novas características morfológicas e detalhes que facilitam a identificação das espécies (KOWNACKI; SZAREK-GWIAZDA; WOŹNICKA, 2015).

Estudos anteriores mostraram variações intraespecíficas nos dentes radulares, como diferenças ontogenéticas e formação e maturação dentária para outras espécies da superfamília Conoidea, principalmente para a família Conidae (e.g. NYBAKKEN; PERRON, 1988; VORTSEPNEVA; TZETLIN; KANTOR, 2019; VORTSEPNEVA; HERBERT; KANTOR, 2020). Um estudo com *Conus magus* Linnaeus, 1758 encontrou uma diferença ontogenética nos dentes radulares; dentes adultos eram maiores e mais complexos do que os de espécimes jovens (também com a presença de um dente em transição); variações foram encontradas também no intestino anterior, no qual o saco radular tinha formato e tamanho diferentes (NYBAKKEN; PERRON, 1988). Também existem estudos recentes sobre o processo de formação e maturação dos dentes radulares em Conoidea, enfatizando as transformações na forma dos dentes marginais, que ocorrem em diferentes fases da vida; assim, esses estudos confirmam a existência de diferenças ontogenéticas para a superfamília (VORTSEPNEVA; TZETLIN; KANTOR, 2019; VORTSEPNEVA; HERBERT; KANTOR, 2020). No presente estudo, foi observada uma variação em *H. cinerea*, ao se considerar os diferentes tamanhos dos dentes e as diferentes formas encontradas.

Muitos estudos sobre rádulas toxoglossas descrevem a forma dos dentes relacionando-os com o modo de vida dos organismos (e.g. NYBAKKEN; PERRON, 1988; TAYLOR; KANTOR; SYSOEV, 1993; IMPERIAL *et al.*, 2007). Gastrópodes conoideos com rádula hipodérmica possuem vários dentes prontos para uso imediato, incluindo dentes múltiplos que podem ser usados em uma única presa, como os do gênero *Conus* (IMPERIAL *et al.*, 2007). Em contraste, o gênero *Hastula* tem dentes no ceco presos à membrana, escondidos e apoiados na base da probóscide e durante o envenenamento da presa, apenas

uma pequena parte dos dentes se projeta, não penetrando profundamente no corpo da presa (IMPERIAL *et al.*, 2007).

A estrutura de um dente está relacionada à sua funcionalidade, como a ponta mais em forma de agulha pronta para penetrar na presa, bem como a presença de farpas ou denticulos que prendem o dente na presa até que todo o veneno seja injetado e o predador possa se alimentar da presa paralisada (KOHN; NYBAKKEN; VAN MOL, 1972). No caso da *H. cinerea*, ela se alimenta de poliquetas (MARCUS; MARCUS, 1960). Nesse contexto, os morfotipos encontrados neste estudo podem estar relacionados aos hábitos alimentares de *H. cinerea*, uma vez que os espécimes podem capturar diferentes poliquetas em diferentes fases da vida. Bandel (1984) relatou que diferenças estruturais nos dentes estão relacionadas aos hábitos alimentares dos organismos, exemplificando diferentes espécies de *Conus* e suas várias presas (peixes, poliquetas e outros moluscos). Alguns estudos citam a relação entre os hábitos alimentares dos moluscos e o dimorfismo ontogenético (e.g. NYBAKKEN; PERRON, 1988). Imperial *et al.* (2007) mencionaram que a ligação entre a dieta e a morfologia da rádula de *Hastula* permanecia tênue e parece que até o momento, essa conexão se mantém frágil. Assim, a variação radular encontrada no presente estudo reforça a hipótese da existência de variação nos dentes radulares de *H. cinerea*.

Como mencionado anteriormente, o conoideos com rádula toxoglossa são moluscos que injetam peçonha em suas presas para paralisá-las e ingeri-las. Assim, os dentes podem ter se ajustado aos seus hábitos alimentares. Sendo assim, a captura do alimento também pode estar relacionada ao potencial da peçonha, pois para paralisar algumas presas (e.g. peixes e poliquetas), os organismos com rádula toxoglossa podem precisar de uma quantidade maior de peçonha (NYBAKKEN; PERRON, 1988; CASTELIN *et al.*, 2012). Alguns estudos detalham as diferenças encontradas no potencial de peçonha dentro da superfamília Conoidea (e.g., IMPERIAL *et al.*, 2007; HOLFORD *et al.*, 2009; CASTELIN *et al.*, 2012; KANTOR; PUILANDRE, 2012; GORSON *et al.*, 2015).

Devido à evolução dos conopeptídeos na superfamília Conoidea, alguns autores sugerem que as espécies da família Terebridae desenvolveram diferentes toxinas como resposta, ou consequência, à adaptação da presa (CASTELIN *et al.*, 2012; GORSON *et al.*, 2021). Abordagens integrativas que identificam suas presas, como a comparação anatômica do intestino anterior e radular (e.g. GORSON *et al.*, 2021), além de complementar a filogenia da família, podem caracterizar novas toxinas com potencial terapêutico (CASTELIN *et al.*,

2012). Gorson *et al.* (2021) sugerem uma forte correlação entre a glândula de peçonha e a amplitude da dieta dos terebrídeos, propondo uma revisão da definição da complexidade da peçonha dos conoideos em relação à captura de presas. Esses autores também afirmam que é essencial construir teorias robustas que relacionem a evolução da peçonha e as espécies negligenciadas. Nossa pesquisa dá uma contribuição importante para essa construção, pois inclui uma característica anatômica de fácil estudo, que é a característica morfológica do dente radular com base em variação radular dentro de uma espécie de terebrídeos, o que não havia sido explorada em estudos anteriores.

Esta pesquisa contribui para o estudo anatômico e morfológico do grupo de conoideos com rádula do tipo toxoglossa, especialmente para o gênero *Hastula*, pois descrevemos a variação radular em *H. cinerea*. É fundamental que as investigações anatômicas utilizem ferramentas como MEV, em conjunto com análises em microscopia óptica, e com espécimes de diferentes tamanhos, para que não se percam detalhes das estruturas que favorecem o estudo de uma população em diferentes fases da vida. Nossos resultados sugerem uma relação intrínseca entre os hábitos alimentares e/ou o potencial da toxina presente na peçonha de *H. cinerea* em diferentes estágios da vida, o que pode ser comprovado em futuras investigações sobre a morfologia funcional da espécie.

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, R. T. **American Seashells**. 2 th ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 663p. 1974.

BANDEL, K. Spawning, development and ecology of some higher Neogastropoda from the Caribbean Sea of Colombia (South America). **Veliger**, v. 19, n. 2, p. 176-193, 1976.

CASTELIN, M.; PUILLANDRE, N.; KANTOR, Y.I.; MODICA, M. V.; TERRY, Y.; CRUAUD, C.; BOUCHET, P.; HOLFORD, M. Macroevolution of venom apparatus innovations in auger snails (Gastropoda; Conoidea; Terebridae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 64: 21–44. 2012.

CALVO I. S. **Rádulas de gastrópodes marinhos brasileiros**. Rio Grande: Editora FURG, 201p. 1987.

FEDOSOV, A.E.; MALCOLM, G.; TERRY, Y.; GORSON, J.; MODICA, M.V.; HOLFORD, M.; PUILLANDRE, N. Phylogenetic classification of the family Terebridae (Neogastropoda: Conoidea). **Journal of Molluscan Studies**, v. 85: 359–387. 2019.

GORSON, J.; FASSIO, G.; LAU, E. S.; HOLFORD, M. Diet Diversity in Carnivorous Terebrid Snails Is Tied to the Presence and Absence of a Venom Gland. **Toxins**, v.13, n. 2, p. 108. 2021.

HOLFORD, M.; PULLIANDRE, N.; TERRY, Y.; CRUAUD, C.; OLIVEIRA B.; BOUCHET P. Evolution of the Toxoglossa venom apparatus as inferred by molecular phylogeny of the Terebridae. **Molecular Biology and Evolution**, v. 26, n. 1, p. 15-25, 2009.

IMPERIAL, J. S.; KANTOR, Y.; WATKINS, M.; HERALDE, F. M.; STEVENSON, B., CHEN, P.; HANSSON, K.; STENFLO, J.; OWNBY, J. P.; BOUCHET, P.; OLIVERA, B. M. Venomous auger snail *Hastula (Impages) hectica* (Linnaeus, 1758): Molecular phylogeny, foregut anatomy and comparative toxinology. **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**, v. 308: 744–756. 2007.

KANTOR, Y.I.; PULLIANDRE, N. Evolution of the Radular Apparatus in Conoidea (Gastropoda: Neogastropoda) as Inferred from a Molecular Phylogeny. **Malacologia**, v. 55: 55–90. 2012.

KOHN, A. J.; NYBAKKEN, J. W.; VAN MOL, J. Radula tooth structure of the gastropod *Conus imperialis* elucidated by scanning electron microscopy. **Science**, v. 176, n. 4030, p. 49-51. 1972.

KOWNACKI, A.; SZAREK-GWIAZDA, E.; WOŹNICKA, O. The importance of scanning electron microscopy (SEM) in taxonomy and morphology of Chironomidae (Diptera). **European Journal of Environmental Sciences**, v. 5, n. 1. 2015.

MARCUS, E.; MARCUS, E. On *Hastula cinerea*. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Zoologia**, v. 23: 25–65. 1960.

MATTHEWS-CASCON, H.; ALENCAR, H. A.; RABAY, S. G.; MOTA, R. M. S. Sexual dimorphism in the radula of *Pisania pusio* (Linnaeus, 1758) (Mollusca, Gastropoda, Buccinidae). **Thalassas**, v. 21, n. 1, p. 29-33, 2005.

MATTHEWS, H. R.; COELHO, A.; CARDOSO, P.; KEMPF, M. Notas sobre a família Terebridae no Brasil. **Arquivo do Museu Nacional**, v. 55:85–104. 1975.

MODICA, M.V.; GORSON, J.; FEDOSOV, A.E.; MALCOLM, G.; TERRY, Y.; PULLIANDRE, N.; HOLFORD, M. Macroevolutionary Analyses Suggest That Environmental Factors, Not Venom Apparatus, Play Key Role in Terebridae Marine Snail

Diversification. **Systematic Biology**, v. 69: 413–430. 2020.

MOLINA, W. F.; LIMA FILHO, P. A.; DANTAS, V. F. R.; MOTTA NETO, C. C.; BERTOLLO, L. A. C. Morphological differences associated with colour morphs of the auger snail *Hastula cinerea* (Conoidea: Terebridae) from northeast Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**. v. 93, n. 4, p. 1035. 2013.

NYBAKKEN, J.; PERRON, F. Ontogenetic change in the radula of *Conus magus* (Gastropoda). **Marine Biology**, v. 98, 239-242. 1988.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. 2016.

RIOS, E. C. **Compendium of Brazilian sea shells**. Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande: Editora Evangraf, 668p. 2009.

SIMONE, L.R.L. Comparative morphology and systematics of Brazilian Terebridae (Mollusca, Gastropoda, Conoidea), with descriptions of three new species. **Zoosystema**, v. 21: 199–248. 1999.

TAYLOR, J. The anatomy of the foregut and relationships in the Terebridae. **Malacologia**. v. 32, n. 1, p. 19-34. 1990.

TAYLOR, J. D.; MILLER, J. A. A new type of gastropod proboscis: the foregut of *Hastula bacillus* (Gastropoda: Terebridae). **Journal of Zoology**, v. 220, n. 4, p. 603-617. 1990.

TAYLOR, J. D.; KANTOR, Y. I.; SYSOEV, A. V. Foregut anatomy, feeding mechanisms, relationships and classification of the Conoidea (=Toxoglossa)(Gastropoda). **Bulletin of the Natural History Museum. Zoology series**, v. 59, n. 2, p. 125-170. 1993.

TERRYN, Y. Terebridae: A Collectors Guide. **Conchbooks, Hackenheim, Germany & NaturalArt, Gent, Belgium**, v. 65, 2007.

VORTSEPNEVA, E.; TZETLIN, A.; KANTOR, Y. First ultrastructural study of the formation of the hypodermic radula teeth of *Conus* (Neogastropoda: Conidae). **Journal of Molluscan Studies**, v. 85: 184–196. 2019.

VORTSEPNEVA, E.; HERBERT, D. G.; KANTOR, Y. Radula formation in two species of Conoidea (Gastropoda). Radula formation in two species of Conoidea (Gastropoda). **Journal of Morphology**, v. 281, n. 10, p. 1328-1350. 2020.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Pearson Education India, 1999.

## CAPÍTULO II

### ESTRUTURA POPULACIONAL E CICLO REPRODUTIVO DO GASTRÓPODE *Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)





## 9. CAPITULO II

### ESTRUTURA POPULACIONAL E CICLO REPRODUTIVO DO GASTRÓPODE *Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)

#### RESUMO

A espécie *Hastula cinerea* é gonocórica e possui fertilização interna com desenvolvimento intracapsular, porém não há estudos sobre seu período reprodutivo. Sabendo que pesquisas sobre reprodução são importantes para entendimento da história de vida dos organismos, este trabalho tem por objetivo verificar a estrutura populacional reprodutiva da espécie *H. cinerea*, caracterizar as células germinativas, verificar o ciclo reprodutivo e a proporção sexual da espécie. Para isso, foram coletados durante quinze meses, por esforço de captura, indivíduos de *H. cinerea* na praia de Flecheiras, costa semiárida do Ceará. A salinidade pontual da água do mar foi verificada todos os meses durante o período de coleta e os dados de pluviosidade durante período de coleta foram obtidos pela Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME). Todos os organismos coletados passaram por procedimentos histológicos e os cortes da gônada de machos e de fêmeas de *H. cinerea* foram observados em microscópio óptico. A população de *H. cinerea* na região em estudo apresentou estrutura heterogênea com relação à proporção sexual e o tamanho dos indivíduos, observando-se fêmeas maiores e em maiores quantidades do que os machos. Para análise do ciclo reprodutivo, a condição da gônada de cada animal foi classificada quanto ao seu estágio de desenvolvimento (Parcialmente madura, Madura, Parcialmente eliminada e Eliminada). Em quase todos os meses de estudo, foram observados todos os estágios gonadais, o que evidencia um ciclo reprodutivo contínuo na região de estudo. O ciclo reprodutivo foi dividido em dois períodos: amadurecimento (gônadas Parcialmente maduras e Maduras) e de desova (gônadas Parcialmente eliminadas e Eliminadas), os quais se sucedem não sendo observado um período de repouso. Ao relacionar a frequência relativa dos espécimes nos diferentes estágios de desenvolvimento gonadal com a precipitação acumulada mensal na região de estudo, pode-se observar que o pico de desova ocorre no período seco (junho a setembro de 2017) e também quando as chuvas ocorriam na região (março e abril de 2018). A proporção de organismos em amadurecimento gonadal aumenta no período seco (outubro de 2017), com um pico durante os meses de janeiro, fevereiro e maio de 2018. Assim, o ciclo reprodutivo da *H. cinerea* foi considerado contínuo, sendo o amadurecimento gonadal regulado pelo aumento da ocorrência de pluviosidade, tal como já observados em outras populações de outras espécies na região Nordeste do Brasil. Entretanto, o período de desova é extenso, ocorrendo tanto em meses mais secos quanto nos chuvosos. Esses dados complementam informações para caracterização reprodutiva dos gastrópodes da família Terebridae, principalmente para região do Atlântico Sul, visto que não há relatos na literatura científica.

**Palavras-chave:** comprimento da concha; proporção sexual; gônada; histologia; reprodução

**POPULATION STRUCTURE AND REPRODUCTIVE CYCLE OF THE  
GASTROPOD *Hastula cinerea* (BORN, 1778) (CONOIDEA: TEREBRIDAE)**

**ABSTRACT**

The species *Hastula cinerea* is gonochoric and has internal fertilization with intracapsular development, but there are no studies on its reproductive period. Knowing that research on reproduction is important for understanding the life history of organisms, this work aims to verify the reproductive population structure of the species *H. cinerea*, characterize the germ cells, verify the reproductive cycle and the sex ratio of the species. For this, individuals of *H. cinerea* were collected for fifteen months, by means of capture effort, on Flecheiras beach, on the semiarid coast of Ceará. The punctual salinity of sea water was checked every month during the collection period and rainfall data during the collection period were obtained by the Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME). All collected organisms underwent histological procedures and the gonad sections of males and females of *H. cinerea* were observed under an optical microscope. The population of *H. cinerea* in the region under study showed a heterogeneous structure in relation to sex ratio and size of individuals, with larger females and in higher number than males. To analyse the reproductive cycle, the condition of the gonads of each animal was classified according to its development stage (Partially ripe, Ripe, Partially emptied and Empty). In almost all of the same studies, all gonadal stages were observed, which shows a continuous reproductive cycle in the study region. The reproductive cycle was divided into two periods: ripening (Partially ripe and Ripe gonads) and spawning (Partially empty and Empty gonads), which follow each other without a rest period being observed. By relating the relative frequency of specimens in the different stages of gonadal development with the monthly accumulated precipitation in the study region, it can be observed that the spawning peak occurs in the dry period (June to September 2017) and also when rains occurred in the region (March and April 2018). The proportion of organisms in gonadal ripening increases in the dry period (October 2017), with a peak during the months of January, February and May 2018. Thus, the reproductive cycle of *H. cinerea* was considered continuous, with gonadal ripening being regulated by increased rainfall, as observed in other populations of other species in the Northeast region of Brazil. However, the spawning period is extensive, occurring both in drier and rainy months. These data complement information for reproductive characterization of gastropods of the Terebridae family, especially for the South Atlantic region, as there are no reports in the scientific literature.

**Key words:** shell length; sex ratio; gonad; histology; reproduction

## INTRODUÇÃO

A história de vida de um organismo compreende as suas relações biológicas com outras espécies, relacionando-as também com aspectos ambientais (WANG *et al.*, 2009; WHITE *et al.*, 2007). A partir da compressão da dinâmica de uma população, por meio de estudos dos episódios reprodutivos, esforço reprodutivo, idade da primeira maturação e crescimento da população, podemos entender a ecologia funcional de determinado grupo biológico (NARCHI, 1976; STEARNS, 1976). A estrutura populacional e o período de recrutamento de uma população são o resultado da adaptação a estímulos ambientais específicos e pressões seletivas que variam ao longo do tempo ou espaço (ANDRADE *et al.*, 2015). Sem uma compreensão mais detalhada das características da história de vida de um grupo animal, os esforços de conservação de espécies continuarão a falhar; assim, estudos locais e regionais representam avanços para preencher as lacunas no conhecimento de espécies nativas (PURCELL *et al.*, 2010).

As populações – conjunto de indivíduos da mesma espécie que vivem em uma determinada área – apresentam cindo propriedade distintas que não são exibidas por indivíduos: distribuição geográfica, abundância, densidade, mudança de tamanho e composição (RICKLEFS; RELYEA, 2016). Desta forma, é possível fazer conexões entre reprodução, estrutura populacional e condições ambientais, atribuindo, assim, um viés ecológico para várias pesquisas. Para muitas espécies marinhas, por exemplo, sabe-se que organismos juvenis habitam locais espacialmente distintos dos adultos, exigindo migração ontogenética entre habitats (SHIELL, 2004; FALKNER; BYRNE, 2006). O tamanho corporal de um animal, por exemplo, é um parâmetro, dentro da população, que determina tanto sua habilidade de sobrevivência quanto a de reprodução, o que influencia na dinâmica da população (WANG *et al.*, 2009; SLATER *et al.*, 2010).

Alguns organismos invertebrados são amplamente estudados quanto a sua estrutura populacional, por terem ampla distribuição geográfica, altas densidades, ciclo de vida curto e fácil amostragem, tais como crustáceos, equinodermos, poliquetas e moluscos (ANDRADE *et al.*, 2015; GLOCKNER-FAGETTI; BENÍTEZ-VILLALOBOS, 2017; WOLFE; BYRNE, 2017; SEIXAS; PAIVA; RUSSO, 2018; CORTE *et al.*, 2020). Dentre os moluscos, os gastrópodes marinhos, por sua diversidade e presença em diversos habitats, trazem uma gama de possibilidades de estudos sobre sua história de vida, sobretudo quando relacionados ao hidrodinamismo ambiental (VERMEIJ, 2017). A espécie *Hastula cinerea* (Born, 1778), que é um gastrópode marinho predador presente na costa brasileira, pertencente

à família Terebridae; é uma espécie que possui uma concha em forma alongada o que, anatomicamente, auxilia no *fitness* da espécie, já que ela é uma espécie habitante de praias arenosas e depende da ação das ondas para se alimentar e se reproduzir (MARCUS; MARCUS, 1960; SIMONE, 1999; VERMEIJ, 2017); e os gastrópodes necessitam de corpos hidrodinâmicos, como conchas lisas, que facilitem a sua locomoção e escavação na areia (VERMEIJ, 2017). *Hastula cinerea* é uma espécie gonocórica e possui fertilização interna com desenvolvimento intracapsular (BANDEL, 1976; MARCUS; MARCUS, 1960). Porém, não há trabalhos sobre o seu período reprodutivo e caracterização histológica das células reprodutivas para a espécie e nem mesmo para a família Terebridae da costa brasileira.

Os organismos podem se reproduzir continuamente ou em determinados períodos do ano, porém, independentemente do tipo de reprodução, sabe-se que fatores ambientais podem estar relacionados com período reprodutivo das espécies e a temperatura, provavelmente, é o fator que mais influencia (ALMEIDA; GIMÉNEZ, 2018; GIESE, 1959). Há uma correlação entre o desenvolvimento gametogênico, desova e mudanças bruscas de temperatura, o que pode ocorrer em zonas temperadas (ALMEIDA; GIMÉNEZ, 2018; WEBBER; GIESE, 1969). Sendo assim, geralmente, espécies de regiões com estações climáticas mais definidas possuem reprodução sazonal, enquanto em regiões com estações climáticas menos definidas a reprodução tende a ser contínua (ALMEIDA; GIMÉNEZ, 2018; CHUNG; KIM; KIM, 1993; MARTEL *et al.*, 1986; WEBBER; GIESE, 1969), a exemplo da região nordeste do Brasil.

Pesquisas realizadas no Nordeste e Centro-Oeste do Brasil estão de acordo com os estudos mencionados acima, onde as regiões com climas menos definidos, a exemplo da região semiárida, tem-se espécies de bivalves e gastrópodes com reprodução contínua (e.g. CALLIL; MANSUR, 2007; ROCHA-BARREIRA; ARAÚJO, 2005; ROCHA-BARREIRA, 2002).

Dentre os parâmetros estudados em ecologia populacional, a proporção sexual de uma população é de interesse para o entendimento da história de vida de determinada espécie. A razão sexual é uma das características populacionais fundamentais em organismos dióicos, elevando as chances de sucesso na reprodução (HASSAN, QUIN, LI; 2018; WEST, 2009). Na natureza, a razão sexual predominante para a maioria das espécies é de 1:1, ou seja, igual proporção para ambos os sexos (FISHER, 1930). Contudo, estudos mais recentes afirmam que muitas populações se desviam do esperado – proporção sexual de 50% de cada gênero – devendo considerar a heterogeneidade de cada população (KREBS, 2014). Existem condições

em que é possível verificar proporção sexual distorcida para algum dos sexos e, essas diferenças podem ser uma resposta adaptativa aos efeitos dos fatores abióticos ou bióticos (YUSA, 2007). A proporção entre os sexos é estudada também para se conhecer o equilíbrio ecológico, biológico e genético de espécies em ecossistemas terrestres e marinhos (KESHAVARZ; JAHROMI, 2017; YUSA, 2007). De acordo com Wenner (1972), a mortalidade pode contribuir para uma proporção sexual desigual, considerando, o comportamento mais ativo de um sexo do que do outro.

Apesar de diversos estudos abordando a reprodução em moluscos terem sido realizados (e.g. ALMEIDA; GIMÉNEZ, 2018; AVILA-POVEDA; BAQUEIRO-CÁRDENAS, 2009; ROCHA-BARREIRA, 2010), existe uma lacuna para os gastrópodes com rádula do tipo toxoglossa a respeito da sua biologia reprodutiva, sobretudo englobando a caracterização histomorfológica das estruturas do sistema reprodutor e também das fases do ciclo reprodutivo.

Assim, considerando a razão sexual dentro de uma população e a região tropical em que a pesquisa foi conduzida, foram testadas as hipóteses de que (i) a população em estudo apresenta uma estrutura de tamanho populacional heterogênea; (ii) não há diferença na proporção sexual da população de *H. cinerea* da praia de Flecheiras e; (iii), a espécie *H. cinerea* possui reprodução contínua com picos de reprodução nos meses de estação seca. A pesquisa teve como objetivos verificar a estrutura populacional reprodutiva da espécie *H. cinerea*, bem como analisar histomorfológicamente as suas gônadas e assim caracterizar o seu ciclo reprodutivo. Desta forma, este estudo contribui com novas informações sobre o conhecimento de aspectos ecológicos e reprodutivos de moluscos gastrópodes com rádula do tipo toxoglossa para as regiões tropicais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Procedimento de campo e laboratório**

A coleta dos espécimes de *H. cinerea* foi realizada, mensalmente, durante 15 meses (junho de 2017 a agosto de 2018) na faixa arenosa da praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, NE Brasil (3°13'10.34" S 39°16'23.25" O). A pluviosidade anual média do município de Trairi é de 1.589 mm, com chuvas concentradas no período de janeiro a abril (FUNCEME, 2021).

Os espécimes de *H. cinerea* foram coletados manualmente – por dois coletores – por esforço de captura durante duas horas. Inicialmente, foi realizada uma coleta piloto para

observar a faixa de ocorrência da espécie na praia. Assim, ficou estabelecido que as coletas seriam realizadas em uma faixa de 300 metros de extensão ao longo da zona de varrido das ondas, em marés baixas de sizígia diurnas. Além disso, foi observado que indivíduos menores apareciam na descida da maré e indivíduos maiores na subida da maré. Por esta razão, a coleta era iniciada uma hora antes do pico da maré baixa de sizígia e finalizada uma hora depois.

Os organismos coletados foram levados ao Laboratório de Invertebrados Marinhos do Ceará (LIMCe) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará (UFC) em recipientes fechados contendo água do mar.

No LIMCe, os indivíduos foram medidos, quanto ao comprimento total, com paquímetro digital com precisão de 0,01 mm, separados individualmente e depois seguiram para o processamento histológico.

### **Dados abióticos**

A salinidade pontual da água do mar foi verificada todos os meses durante o período de coleta (no início, durante e no final de cada coleta). Dados de pluviosidade mensal da região do município de Trairi foram obtidos pela Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME).

### **Protocolo histológico**

Cada espécime foi retirado da concha (com auxílio de um torno de bancada para quebrar a concha, já que a mesma é bastante resistente) e fixado imediatamente em solução de Bouin salino por 12h. Após esse tempo, os organismos foram lavados em água corrente e depois preservados em álcool etílico 70% até continuação e finalização do processamento histológico no Laboratório de Zoobentos no Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

A análise histológica das partes moles dos organismos seguiu protocolo adaptado de Howard *et al.* (1983) e Hewitson *et al.* (2010). As amostras foram desidratadas em série alcoólica crescente, diafanizadas em xilol, impregnadas em duas sequências em parafina PA a 60°C e finalizadas com a inclusão em parafina PA a 60°C. Em sequência, os blocos produzidos foram cortados em 5 µm de espessura, em micrótomo manual e fixados em lâminas de vidro. Para a coloração, as lâminas foram diafanizadas em xilol, reidratadas em séries alcoólicas decrescentes, lavadas em água corrente, coradas com hematoxilina de Harris e eosina aquosa (H&E), sendo, posteriormente, desidratadas em série alcoólica crescente e

diafanizadas em xilol. Para finalizar a montagem da lâmina, foi utilizada resina sintética (Entellan) e lamínula de vidro (Apêndice A).

Cortes histológicos transversais das gônadas de *H. cinerea* foram observados e fotografados em microscópio óptico com câmera fotográfica acoplada. Os tipos celulares e suas características foram descritos baseados em Rocha-Barreira (2010).

O grau de desenvolvimento das gônadas de machos e de fêmeas foi estabelecido de acordo com a proporção das células germinativas nos ácinos gonadais e aspectos tissulares das demais estruturas do aparelho reprodutor (ROCHA-BARREIRA, 2010). Os ovócitos foram medidos utilizando uma lente micrométrica acoplada à ocular do microscópio óptico. Posteriormente, foram identificadas e determinadas as fases reprodutivas e assim, o ciclo reprodutivo da espécie no período de 15 meses.

Os blocos e as lâminas histológicas serão depositados na “Coleção Malacológica Prof. Henry Ramos Matthews (CMPHRM)”, série A da UFC.

### **Análises de dados**

Para a salinidade, foram utilizadas as médias relativas aos dias de coleta de cada mês. Para a pluviosidade foi utilizada a média dos dados mensais totais, obtidos pela FUNCEME. Ao final foi plotado um gráfico, a fim de observar a intensidade de chuvas com valores da salinidade.

Para análise da estrutura populacional, os dados de comprimento total das conchas foram testados quanto a normalidade (teste Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (teste de Levene), os quais não atenderam aos pressupostos para análise paramétrica, sendo então comparados mensalmente utilizando uma PERMANOVA (perm = 9999). Foi realizado o teste a posteriori de Tukey.

A determinação da proporção de indivíduos de cada sexo foi realizada por meio do teste do “Qui-quadrado” ( $x^2$ ), baseada na observação microscópica das gônadas de cada espécime. Para comparar o tamanho das conchas e o sexo foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, pois não atenderam aos pressupostos para análise paramétrica.

Para análise do ciclo reprodutivo, mensalmente, cada animal foi classificado quanto ao seu estágio de amadurecimento gonadal (Parcialmente madura, Madura, Parcialmente eliminada e Eliminada). O número de organismos nos diferentes estágios foi analisado e correlacionado com os valores de precipitação pluviométrica, utilizando-se teste

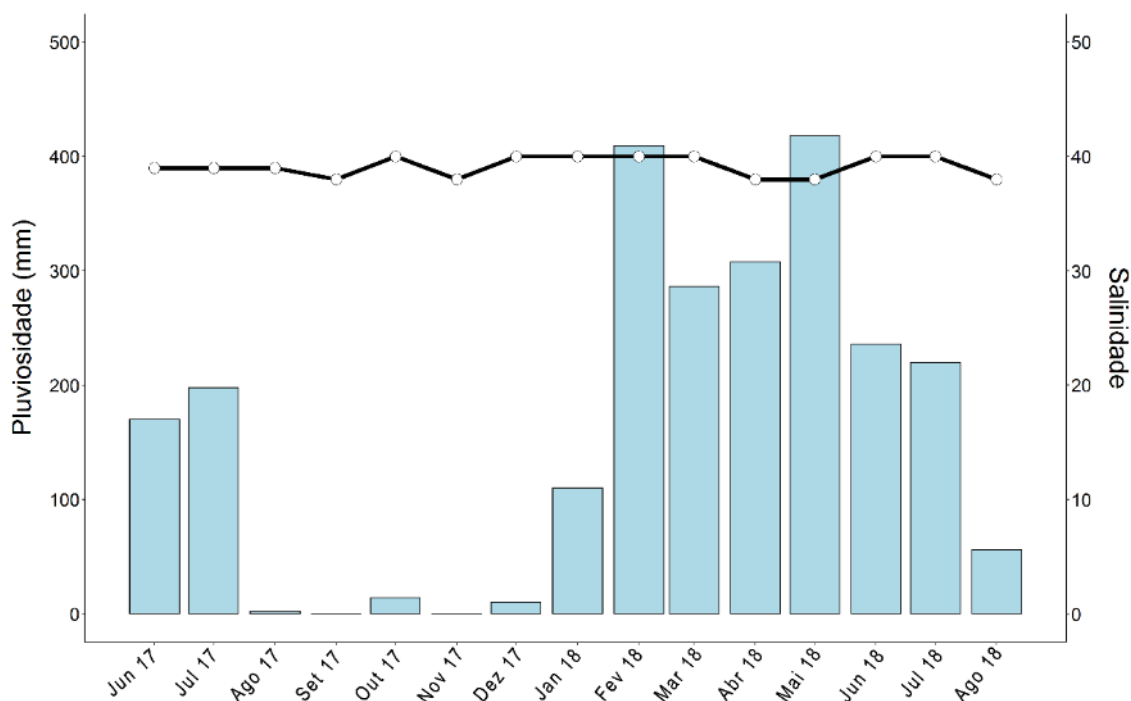
de correlação não paramétrica de Spearman. Todos os cálculos estatísticos e gráficos foram realizados no programa R (v. 4.04) (R CORE TEAM, 2016).

## RESULTADOS

### Fatores abióticos

A salinidade média na área, durante o período de coleta, variou de 38 a 40 (Fig. 1, linha).

As maiores pluviosidades médias mensais registradas na área de estudo foram de 409 mm e 418 mm, nos meses de fevereiro/2018 e maio/2018, respectivamente (Fig. 1, barras) (FUCEME, 2021). Entre os meses de agosto/2017 e dezembro/2017, foram registradas as menores médias mensais, chegando a não haver registro de chuva nos meses de setembro/2017 e novembro/2017 (Fig. 1, barras) (FUCEME, 2021).



**Figura 1.** Variação temporal da pluviosidade (mm) (barras azuis) e da salinidade (linha preta) de junho de 2017 a agosto de 2018, na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.

### Estrutura Populacional

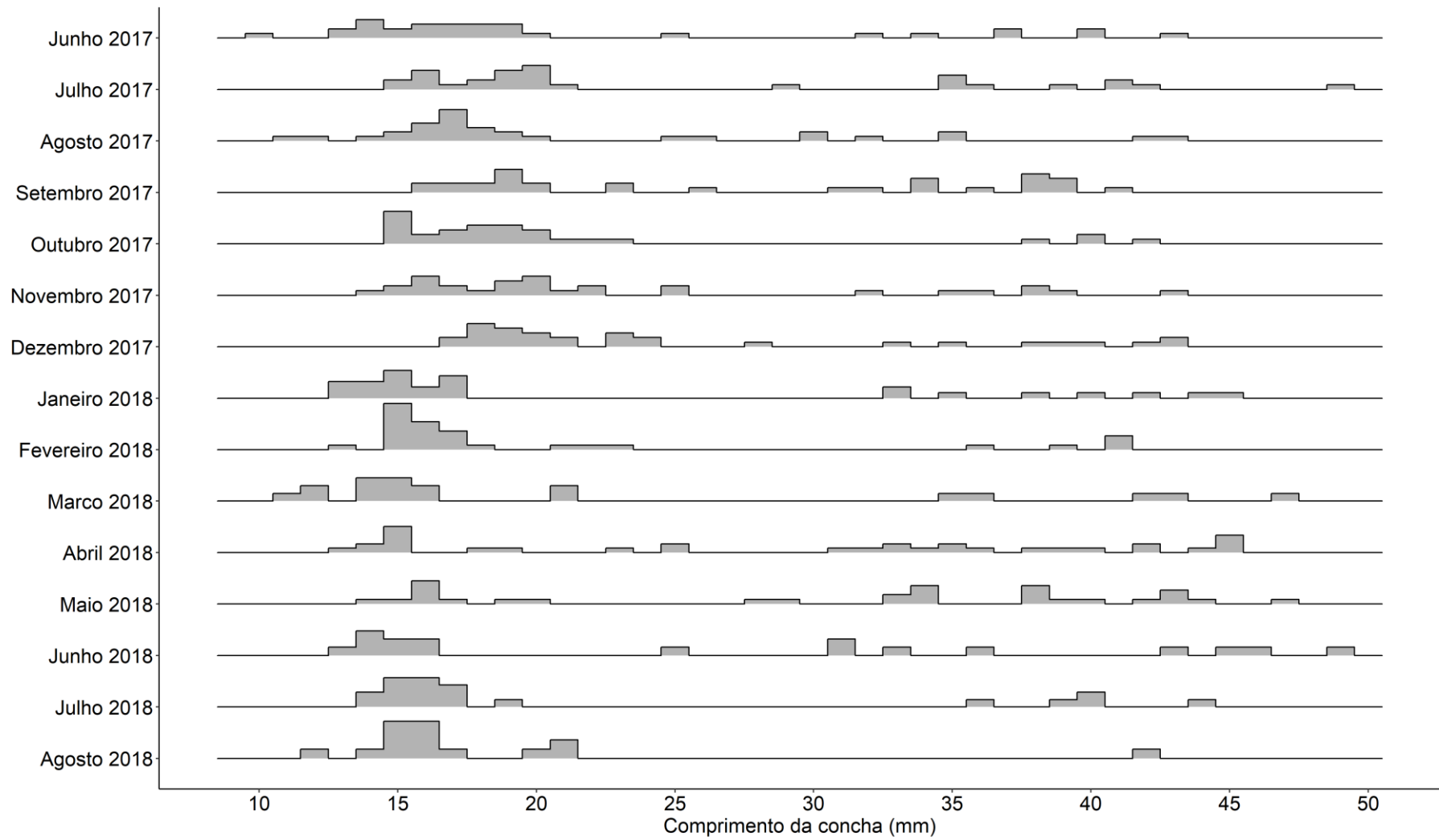
#### *Estrutura populacional por tamanho da concha*

Foram coletados 395 espécimes de *H. cinerea* ao longo dos 15 meses de estudo. A estrutura de tamanho da população se mostrou variável, tendo indivíduos de 10,49 mm a



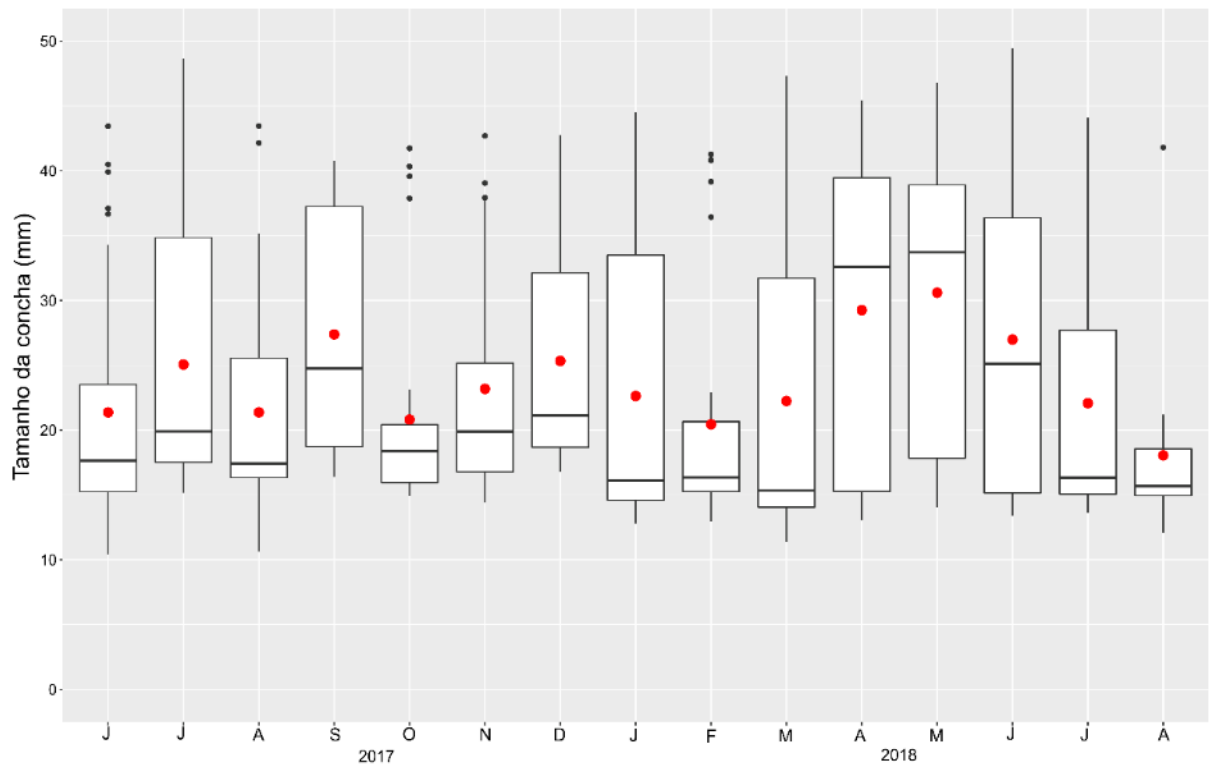
49,48 mm. A maioria dos indivíduos, da população de *H. cinerea*, apresentam tamanhos entre de 10 mm e 20 mm (Fig. 2).

Considerando que os indivíduos jovens da população em estudo possuem tamanhos inferiores a 12,49 (menor indivíduo com gônada em processo reprodutivo – ver página 78 deste documento), houve ocorrência de jovens em todos os meses (Fig. 2).



**Figura 2.** Distribuição mensal do tamanho dos espécimes de *Hastula cinerea* coletados na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.

O mês com menor média de comprimento da concha foi agosto de 2018 (18,04 mm;  $\pm 7$ ) e os meses com as maiores médias foram abril (29,25 mm;  $\pm 11,7$ ) e maio (30,60 mm;  $\pm 11$ ), ambos no ano de 2018 (Fig. 3).



**Figura 3.** Comprimento da concha dos espécimes de *Hastula cinerea* coletados na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil. Ponto vermelho: média dos dados.

A análise PERMANOVA baseada no tamanho dos indivíduos nos diferentes meses revelou uma diferença significativa entre os períodos (Pseudo-F = 3.63,  $p = 0.001$ ) (Tab. 1). Foi observada diferença significativa entre os meses (Apêndice B).

**Tabela 1:** Resultados resumidos da PERMANOVA para o comprimento total das conchas de *Hastula cinerea* entre os meses estudados na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil (valores em negrito denotam variações significativas).

	<b>Df</b>	<b>SSQ</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Pseudo-F</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>
Meses	14	1.6861	0.1181	3.6364	<b>0.001</b>
Residual	380	12.5855	0.8819		
Total	394	14.2716	1		

### *Proporção Sexual*

O sexo foi determinado em 145 indivíduos, sendo 44 machos e 101 fêmeas. A proporção sexual total encontrada foi de 1:2, havendo, significativamente, mais fêmeas do que machos. Houve diferença significativa na proporção sexual da população em alguns meses do

estudo (junho, julho, outubro e dezembro de 2017 e março, abril, maio e junho de 2018) (Tab. 2 e Apêndice C).

**Tabela 2.** Resultados referentes as avaliações para a verificação da proporção sexual de *Hastula cinerea* na população estudada na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil (valores marcados por \* apresentam diferença significativa).

Mês	Macho	Fêmea	Total	Proporção	X <sup>2</sup>	p = 0.05
Jun/17	0	4	4	0:4	4	p < 0.05*
Jul/17	1	7	8	1:7	7	p < 0.05*
Ago/17	2	1	3	1:1	0.33	p > 0.05
Set/17	4	2	6	1:1	0.67	p > 0.05
Out/17	0	8	8	0:8	8	p < 0.05*
Nov/17	4	7	11	1:2	0.82	p < 0.05
Dez/17	3	11	14	1:4	4.57	p < 0.05*
Jan/18	9	3	12	3:1	3	p > 0.05
Fev/18	8	8	16	1:1	0	p > 0.05
Mar/18	1	10	11	1:10	7.36	p < 0.05*
Abr/18	2	10	18	1:5	5.33	p < 0.05*
Mai/18	2	12	12	1:6	7.14	p < 0.05*
Jun/18	0	4	14	0:4	4	p < 0.05*
Jul/18	2	7	9	1:3	2.78	p > 0.05
Ago/18	6	7	13	1:1	0.08	p > 0.05
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>101</b>	<b>145</b>	<b>1:2</b>	<b>22.41</b>	<b>p &lt; 0.05*</b>

A média de comprimento da concha dos machos foi de 20,54 mm ( $\pm 8,75$ ) e para as fêmeas foi de 24,80 mm ( $\pm 11,36$ ). Foi observada diferença entre o tamanho da concha e o sexo dos indivíduos, sendo as fêmeas maiores que os machos ( $H = 8,62$ ,  $p < 0,05$ ).

### Caracterização histomorfológica das gônadas

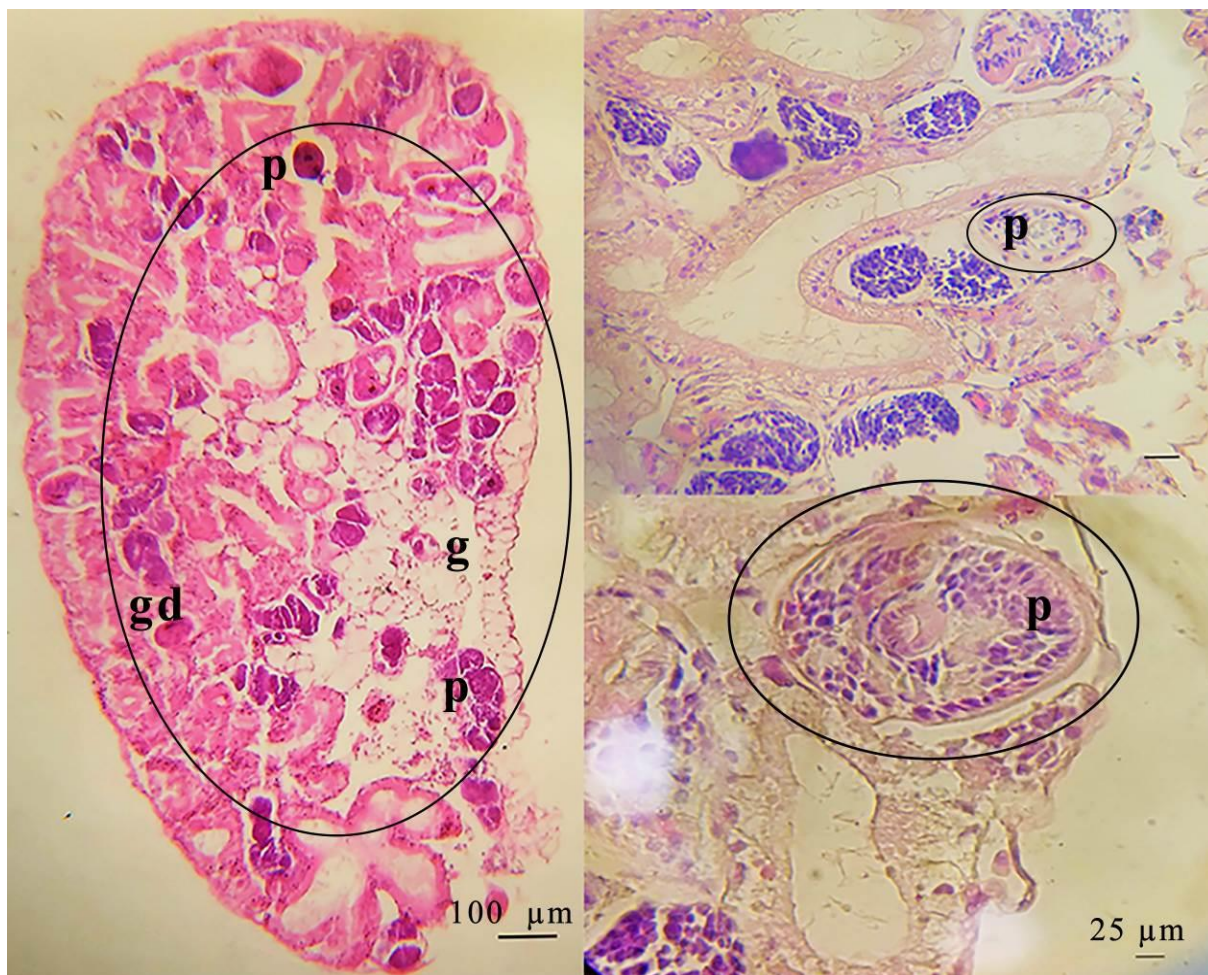
Foram analisados histologicamente 190 indivíduos, dois foram identificados com a presença de parasitas, representando uma incidência de 1,05%.

### *Gônadas parasitadas*

Os espécimes infectados possuíam características bastante diferentes dos indivíduos não parasitados. Em uma gônada não parasitada é possível encontrar células germinativas dos espécimes, associadas a outros tipos de materiais, como o tecido conjuntivo

e a glândula digestiva, que fica próxima a gônada e assim, defini-la quanto ao seu estágio. Na gônada parasitada, essa definição se torna mais difícil ou, muitas vezes indefinida.

As lâminas analisadas mostraram o parasita em diferentes regiões dos espécimes observados, tanto na gônada como na glândula digestiva, por exemplo (Fig. 4). Ainda não foi possível a identificação do parasita quanto a nível específico.



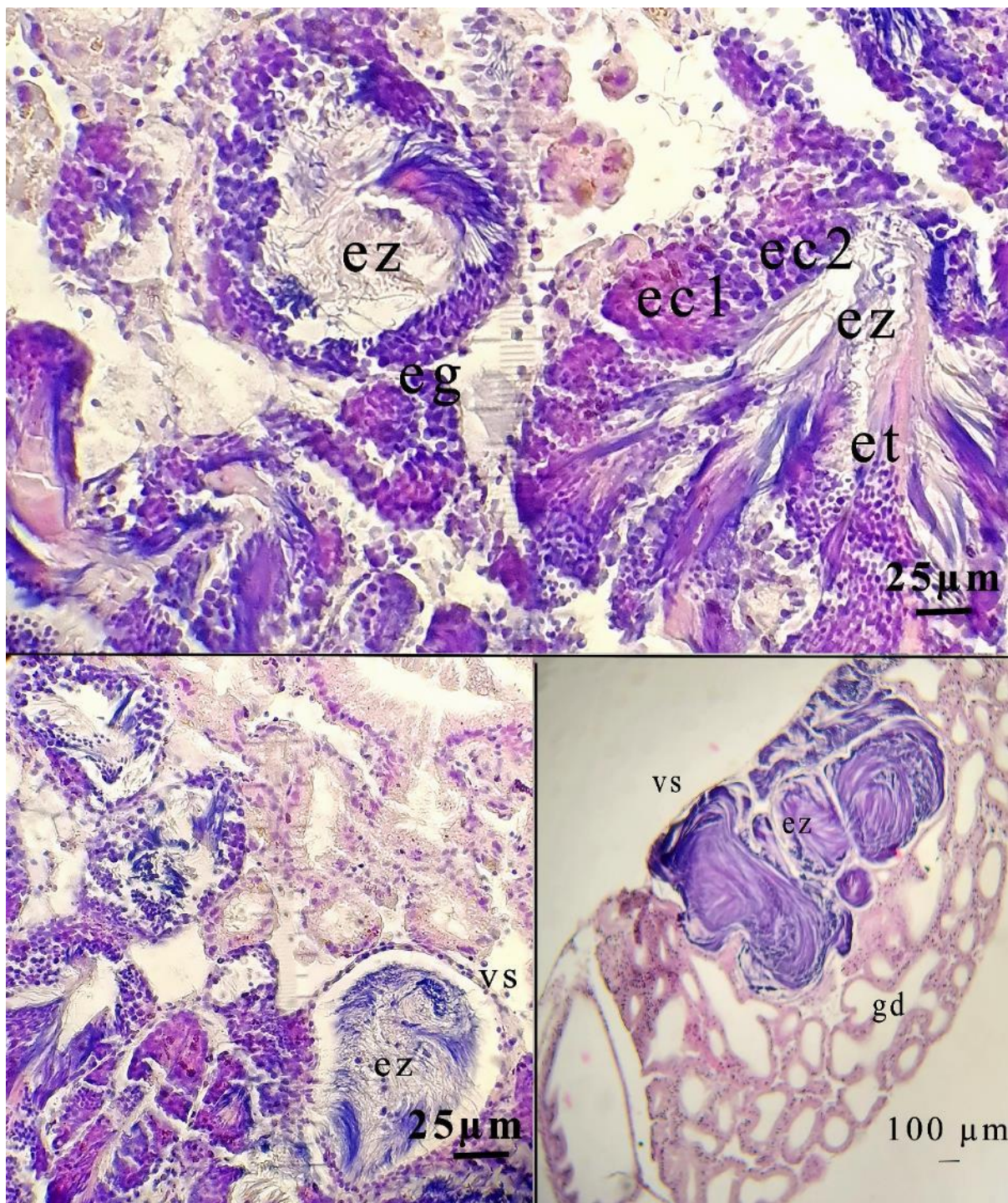
**Figura 4.** Região gonadal e glândulas digestivas infectadas por parasita com aspecto de castração (g: gônada; gd: glândula digestiva; p: parasita; setas e círculo indicam a presença do parasita).

### ***Macho***

Considerando o processo de espermatogênese e espermiogênese, foram identificados nos túbulos testiculares cinco diferentes tipos celulares característicos (Fig. 5). As células mais jovens são as espermatogônias (eg), que estão localizadas próximas à borda da parede do túbulo testicular, são células maiores e mais densas, com citoplasma reduzido em relação ao núcleo, a cromatina granulada e dispersa. Já os espermatócitos primários (ec1) também são células grandes, porém se encontram afastadas da borda da parede do túbulo do

testículo, o citoplasma é ainda mais reduzido e a cromatina granular é menos dispersa. Os espermatócitos primários (ec1) se dividem formando os espermatócitos secundários (ec2), que são células menores, em que o citoplasma desaparece e o núcleo ocupa todo volume celular, a cromatina é bem mais condensada. Outro tipo celular são as espermatídes (et), células bem pequenas de forma mais oval com cromatina totalmente condensada. A partir desse momento, acontece a espermiogênese, que é a transformação das espermatídes (et) em espermatozoides (ez). Os espermatozoides são bem alongados e menos densos e ficam localizados na região do lúmen do túbulo testicular com os flagelos voltados para o centro.

Os espermatozoides (ez), quando maduros e prontos para liberação, vão para a vesícula seminal (vs), que é uma expansão da porção proximal do espermoduto em que só é possível encontrar espermatozoides que serão transportados pelo espermoduto.

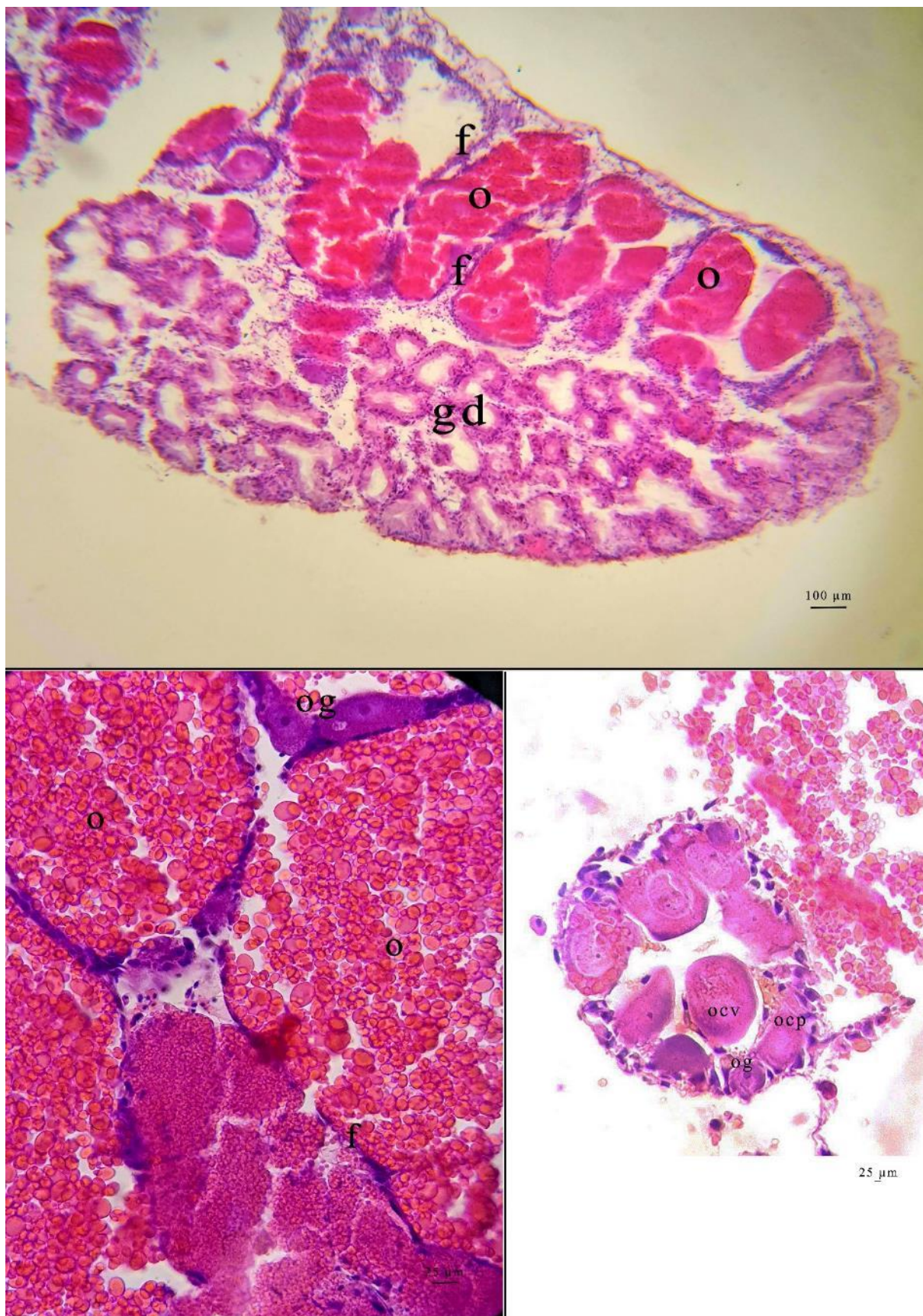


**Figura 5.** Corte histológico de gônadas masculinas com células germinativas de *Hastula cinerea*: **eg**: espermatogônia, **ec1**: espermatócito primário, **ec2**: espermatócito secundário, **et**: espermátide, **ez**: espermatozoide, **vs**: vesícula seminal, **gd**: glândula digestiva (eliminada).

### ***Fêmea***

O amadurecimento das células germinativas femininas ocorre a partir do epitélio abaixo da parede do folículo ovariano (ovulogênese). Os folículos ovarianos (f) são delimitados por uma parede constituída por tecido conjuntivo e células foliculares dispersas (cf). No lúmen do folículo, foi possível identificar quatro diferentes tipos celulares (Fig. 6). O primeiro tipo foi a ovogônia (og), que representa o primeiro estágio do desenvolvimento germinativo, sendo uma célula pequena ligada à parede folicular com núcleo bastante desenvolvido e centralizado, medindo cerca de 27,8  $\mu\text{m}$  ( $\pm 3,15$ ). Os ovócitos pré-vitelogênicos (ocp) são células maiores que as ovogônias, devido ao início do processo de acúmulo de vitelo (vitelogênese) no citoplasma, com núcleo e nucléolo bem evidentes, medindo cerca de 53  $\mu\text{m}$  ( $\pm 7,04$ ). Os ovócitos vitelogênicos (ocv) são células bastante grandes, uma vez que a quantidade de vitelo no citoplasma é maior; núcleo e nucléolo se tornam menos evidentes, medindo cerca de 112  $\mu\text{m}$  ( $\pm 22,16$ ). Já o ovócito maduro (o) possui citoplasma denso e volumoso, repleto de vitelo, não sendo possível visualizar o núcleo e seu tamanho pode chegar a 272,4  $\mu\text{m}$  ( $\pm 82,9$ ).





**Figura 6.** Corte histológico de gônadas femininas com células germinativas de *Hastula cinerea*: **f**: folículo, **og**: ovogônia, **ocp**: ovócito pré-vitelogênico, **ocv**: ovócito vitelogênico, **o**: ovócito maduro, **gd**: glândula digestiva.

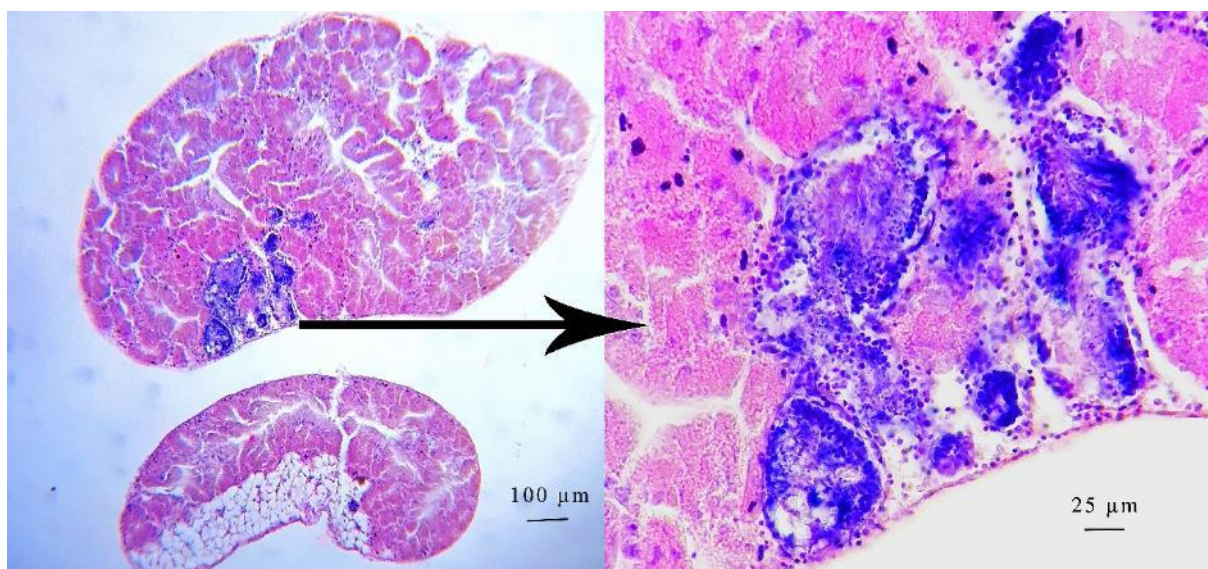
## Caracterização histomorfológica das fases de desenvolvimento gonadal

Foram identificados quatro estágios gonadais em machos, fêmeas e adultos indeterminados. Para machos e fêmeas foram observados os estágios de gônadas parcialmente maduras, gônadas maduras e gônadas parcialmente eliminadas; já para os adultos indeterminados somente gônadas eliminadas.

### *Macho*

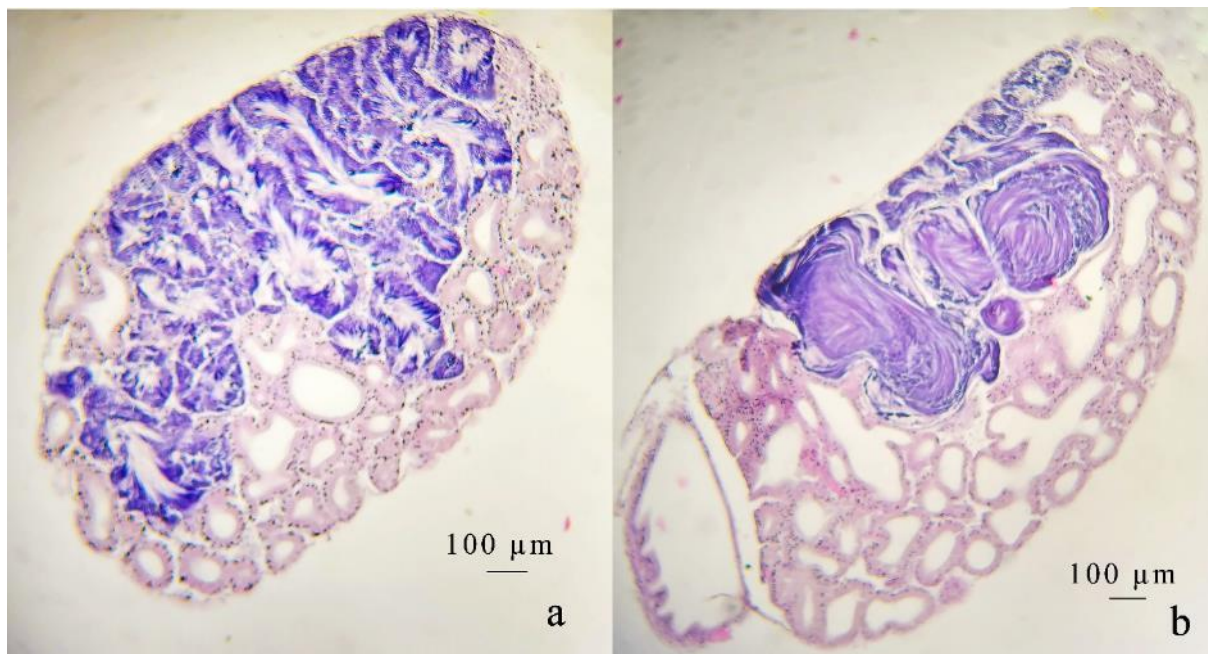
Foram caracterizadas três fases do ciclo reprodutivo masculino considerando o tipo e predominância das células germinativas presentes nos túbulos testiculares e o aspecto da vesícula seminal:

- *Fase da gônada parcialmente madura*: existe uma grande quantidade de espermatogônias, espermatócitos primários e secundários nos túbulos testiculares. Espermátides e espermatozoides são pouco abundantes, muitas vezes este último está ausente. A vesícula seminal em sua maior parte encontra-se eliminada. Nesta fase, o macho está se preparando para liberação dos espermatozoides (Fig. 7).



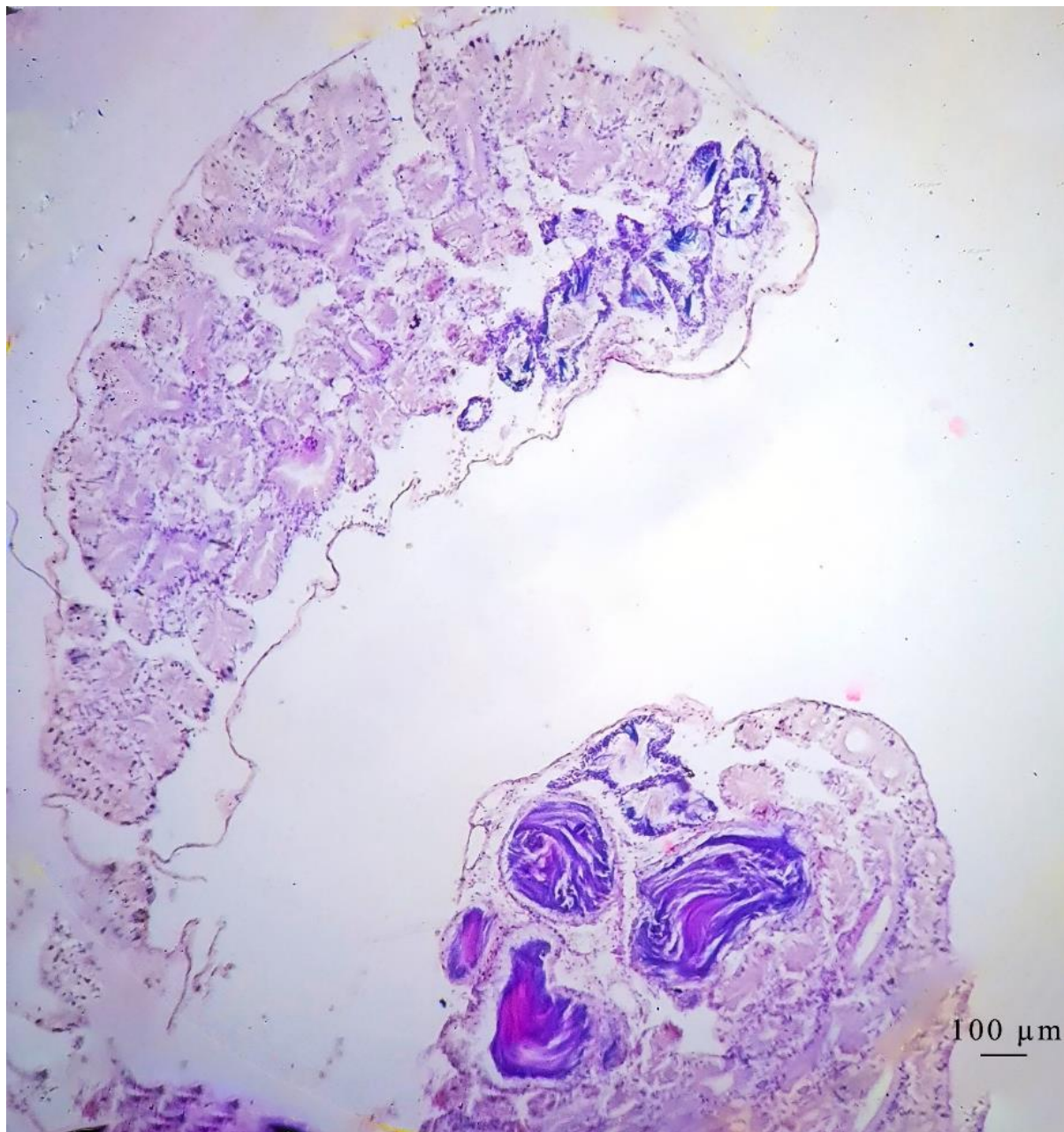
**Figura 7.** Fase de desenvolvimento gonadal parcialmente madura de machos de *Hastula cinerea*. Grande quantidade de espermatogônias, espermatócitos primários e secundários nos túbulos testiculares, pouca quantidade de espermátides e espermatozoides.

- *Fase da gônada madura*: os túbulos testiculares estão preenchidos com todos os tipos celulares (espermatogônias, espermatócitos primários e secundários, espermátides e espermatozoides). Há predominância dos espermatozoides, que apresentam seus flagelos voltados para o lúmen do túbulo testicular. A vesícula seminal está preenchida por uma grande quantidade de espermatozoides. Nesta fase, o macho está pronto para liberação dos espermatozoides (Fig. 8).



**Figura 8.** Fase de desenvolvimento gonadal madura de machos de *Hastula cinerea*. **a.** Os túbulos testiculares são preenchidos com todos os tipos celulares. **b.** A vesícula seminal está preenchida por uma grande quantidade de espermatozoides.

- *Fase da gônada parcialmente eliminada:* os túbulos testiculares estão eseliminando e é possível observar espaços vazios nos mesmos. Porém, ainda há presença de alguns espermatócitos, espermátides e muitos espermatozoides. Há muito tecido conjuntivo frouxo. A vesícula seminal ainda contém espermatozoides. Nesta fase, o macho está liberando espermatozoides (Fig. 9).

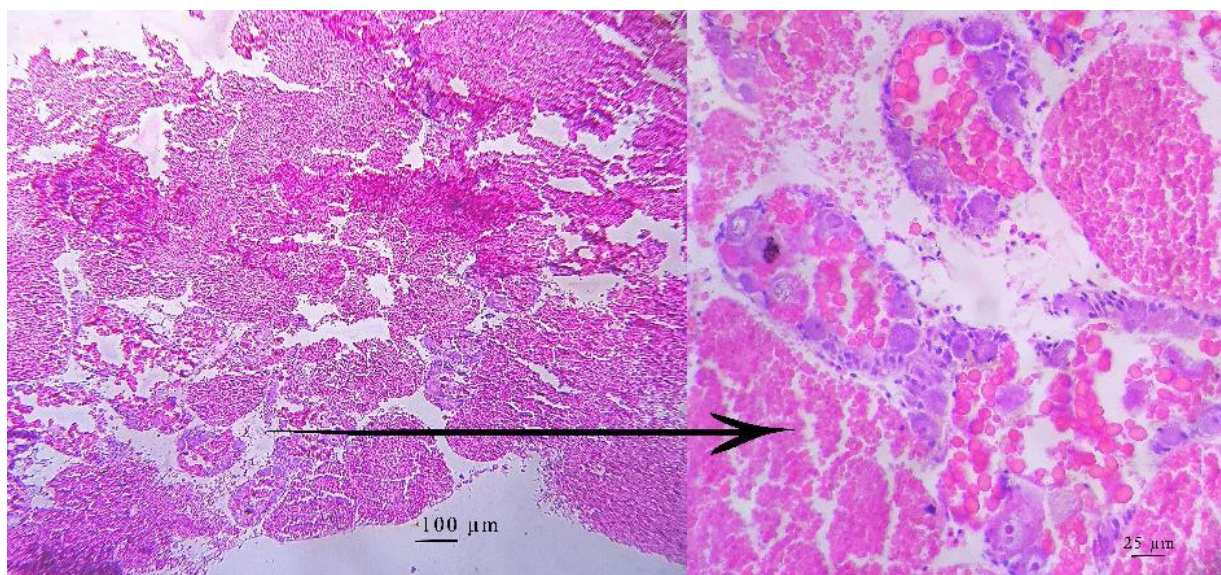


**Figura 9.** Fase de desenvolvimento gonadal parcialmente eliminada de machos de *Hastula cinerea*. Há muitos espaços vazios nos túbulos testiculares. Presença de alguns espermatócitos, espermátides e muitos espermatozoides.

### ***Fêmea***

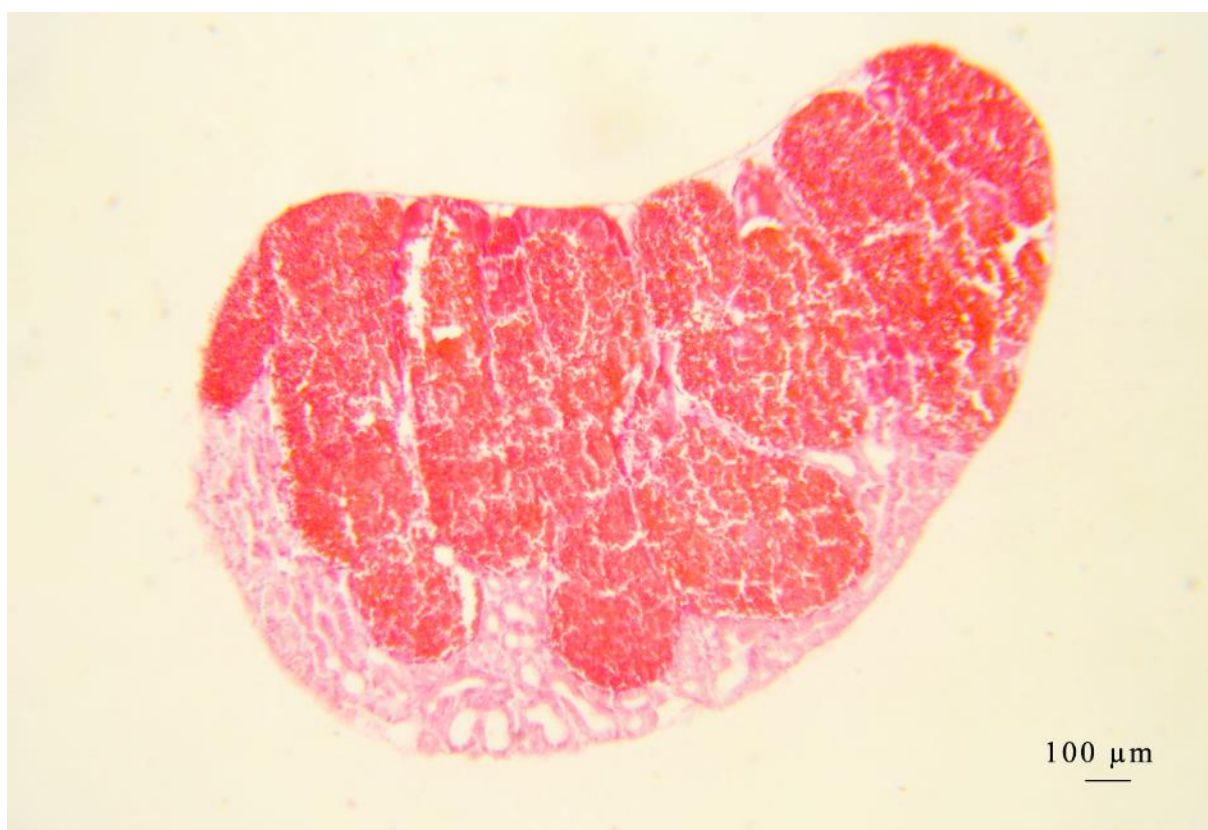
Foram caracterizadas três fases do ciclo reprodutivo feminino baseadas no tipo e predominância das células germinativas e na estrutura da parede folicular.

- *Fase da gônada parcialmente madura*: é possível visualizar todos os tipos celulares, com predominância de ovócitos pré-vitelogênicos. Observa-se uma maior presença de ovogônias e, por isso, a parede do folículo é mais espessa. Nesta fase, a fêmea está se preparando para reprodução (Fig. 10).



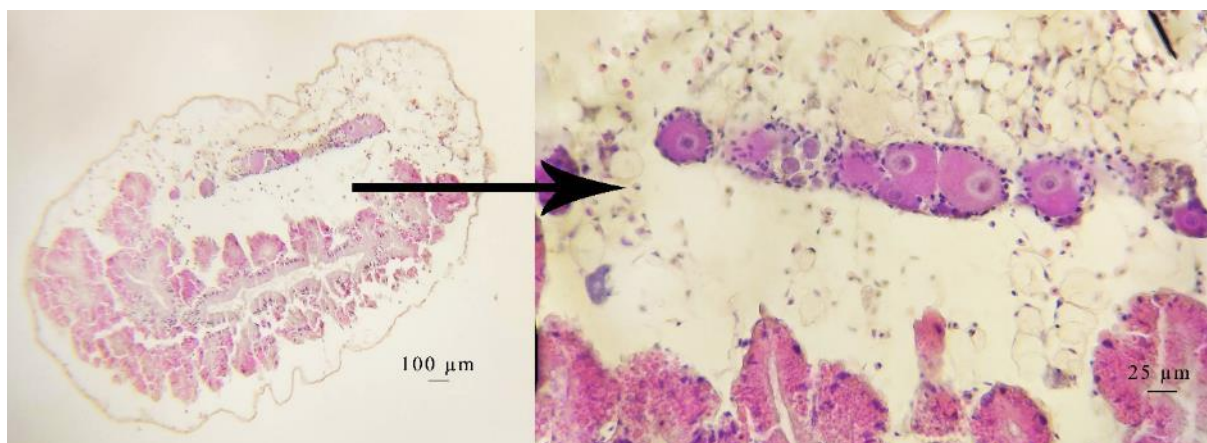
**Figura 10.** Fase de desenvolvimento gonadal parcialmente madura de fêmeas de *Hastula cinerea*. Parede folicular espessa devido à grande quantidade de ovogônias.

- *Fase da gônada madura:* o interior dos folículos é totalmente preenchido de ovócitos maduros, como uma massa densa, em que quase não há espaço interfolicular. A parede do folículo é fina. Nesta fase, a fêmea está pronta para reprodução (Fig. 11).



**Figura 11.** Fase de desenvolvimento gonadal madura de fêmeas de *Hastula cinerea*. Folículo ovariano, com a parede bastante fina, preenchido de ovócitos maduros.

- *Fase da gônada parcialmente eliminada*: é possível visualizar restos de todos os tipos celulares, porém, os ovócitos maduros, ovócitos vitelogênico e pré-vitelogênicos e algumas ovogônias estão em degeneração e espalhados no interior dos folículos. O folículo ovariano apresenta alguns espaços interfoliculares, muita presença de tecido conjuntivo frouxo e células macrofágicas. As paredes dos folículos são bastante finas. Nesta fase, a fêmea está reproduzindo, ou seja, foi fecundada e está liberando suas desovas no ambiente (Fig. 12).

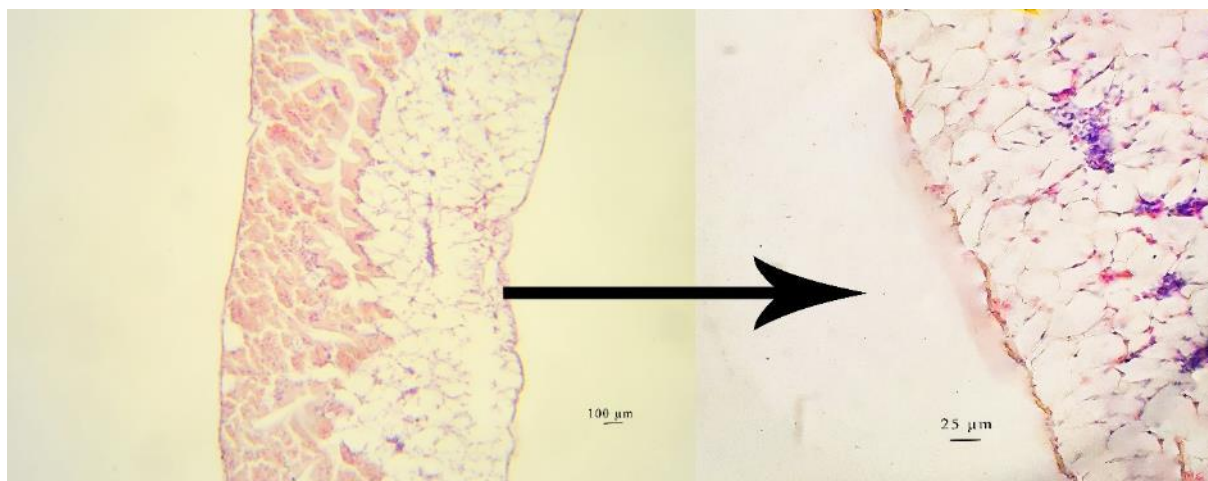


**Figura 12.** Fase de desenvolvimento gonadal parcialmente eliminada de fêmeas de *Hastula cinerea*. O folículo ovariano apresenta alguns espaços interfoliculares, muito tecido conjuntivo frouxo e restos de células germinativas.

#### ***Adultos indeterminados***

Os adultos indeterminados foram caracterizados por possuírem a presença da gônada com células germinativas iniciais, impossibilitando a identificação do sexo, ou ainda, com parte da gônada totalmente eliminada. Para diferenciar adultos indeterminados dos jovens indeterminados, foi considerado o menor tamanho do espécime que, histologicamente, apresentou gônada com células germinativas sexualmente diferenciadas na população em estudo, ou seja, comprimento da concha de 12,49 mm.

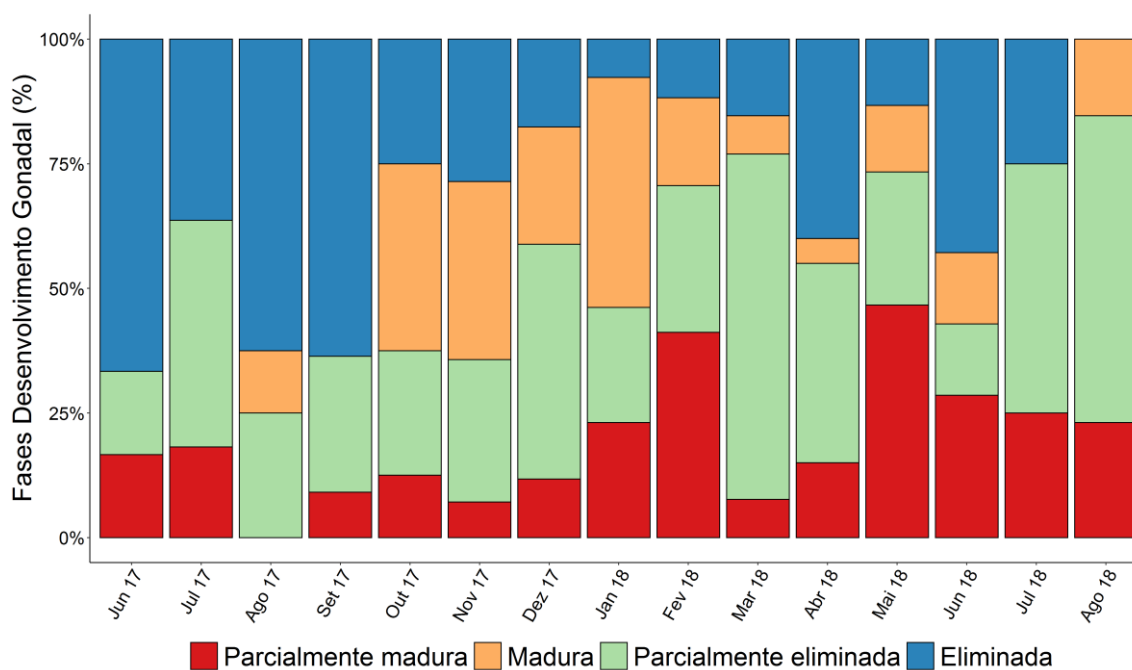
- *Fase da gônada eliminada*: é possível visualizar a gônada com células germinativas iniciais, porém, não é possível identificar se são células iniciais de machos (espermátogônias) ou células iniciais de fêmeas (ovogônia). Quando foi possível visualizar o pênis (macho) ou a glândula do albume e/ou da cápsula (fêmea), o sexo foi identificado, porém, permaneceu como fase gonadal eliminada devido à especificidade da célula germinativa presente. Desta forma, na fase eliminada, pode-se considerar que os espécimes estavam em processo reprodutivo (no caso dos machos liberaram espermatozoides e das fêmeas fecundaram e desovaram) e as gônadas estavam em recuperação celular. Também há presença de muito tecido conjuntivo frouxo (Fig. 13).



**Figura 13.** Fase de desenvolvimento gonadal eliminada de adultos indeterminados de *Hastula cinerea*. O espaço gonadal possui muito tecido conjuntivo frouxo e células germinativas em processo inicial (recuperação celular), sendo impossível identificação sexual.

### Ciclo Reprodutivo

Foram analisadas um total de 187 espécimes de *H. cinerea*, somando machos, fêmeas e adultos indeterminados, para descrição do ciclo reprodutivo da espécie na praia de Flecheiras, Ceará. Foram observadas as quatro fases do ciclo (Madura, Parcialmente madura, Parcialmente eliminada e Eliminada), distribuídas em quase todos os meses do estudo – com exceção das fases madura, que não foi observada nos meses de junho, julho e setembro de 2017 e julho de 2018, e eliminada, que não foi observada no mês de agosto de 2018 (Fig. 14 e Apêndice D). Todas as fases foram utilizadas para determinação do ciclo reprodutivo.



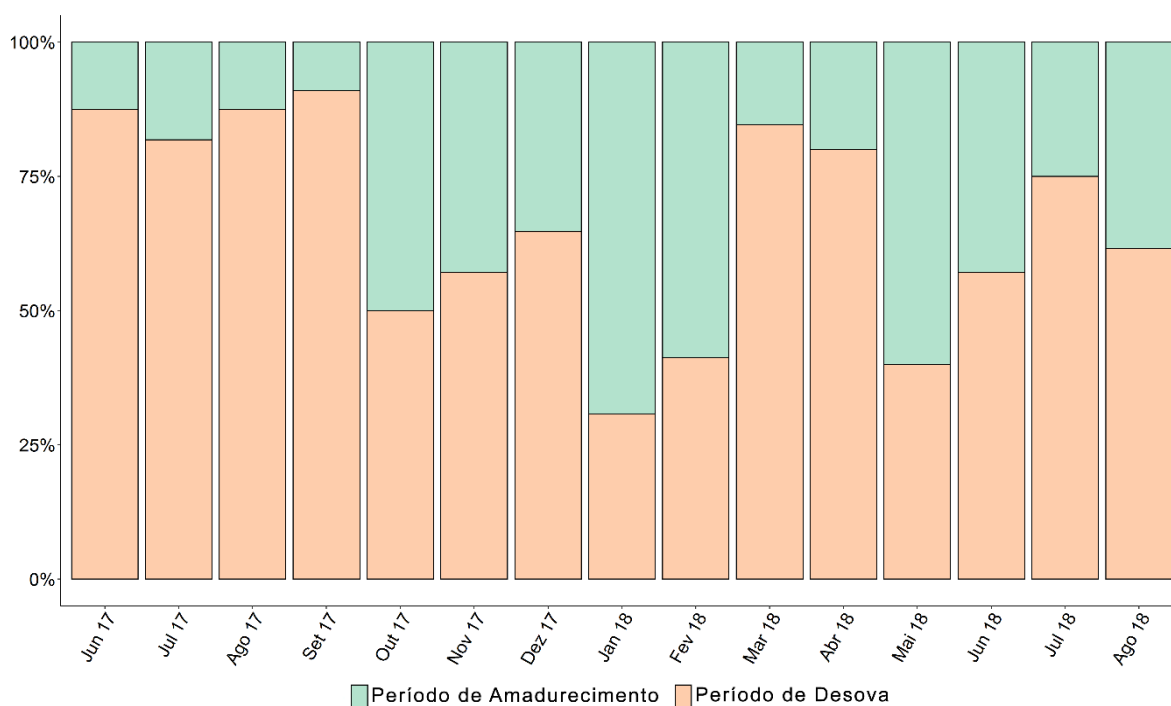
**Figura 14.** Porcentagem mensal das fases de desenvolvimento gonadal – parcialmente madura, madura, parcialmente eliminada e eliminada – de *Hastula cinerea* (machos, fêmeas e adultos indeterminados), observada na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.

O ciclo reprodutivo, durante o estudo, foi dividido em dois períodos: período de amadurecimento (gônadas Parcialmente maduras e Maduras) e o período de desova (gônadas Parcialmente eliminadas e Eliminadas) (Fig. 15 e Apêndice E).

No período de amadurecimento, quando as gônadas estão parcialmente maduras, os indivíduos estão se preparando para a reprodução; e quando as gônadas já se apresentam maduras, a espécie está pronta para cópula e liberação de cápsulas. Apesar de ser observado em todos os meses, a espécie atingiu 50% ou mais de indivíduos em amadurecimento nos meses de outubro de 2017, janeiro, fevereiro e maio de 2018 (Fig. 15).

No período de desova, as gônadas parcialmente eliminadas e eliminadas indicam que a espécie está em busca de parceiros para cópula. Pode-se afirmar que, durante esse período, os machos transferem espermatozoides para as fêmeas, que por sua vez fecundam e depositam suas cápsulas no ambiente. Esse período foi observado durante todo o estudo, sendo possível afirmar que a espécie está se reproduzindo durante todos os meses na região, com destaque para os meses de junho a setembro de 2017 e março, abril, junho e julho de 2018. (Fig. 15).

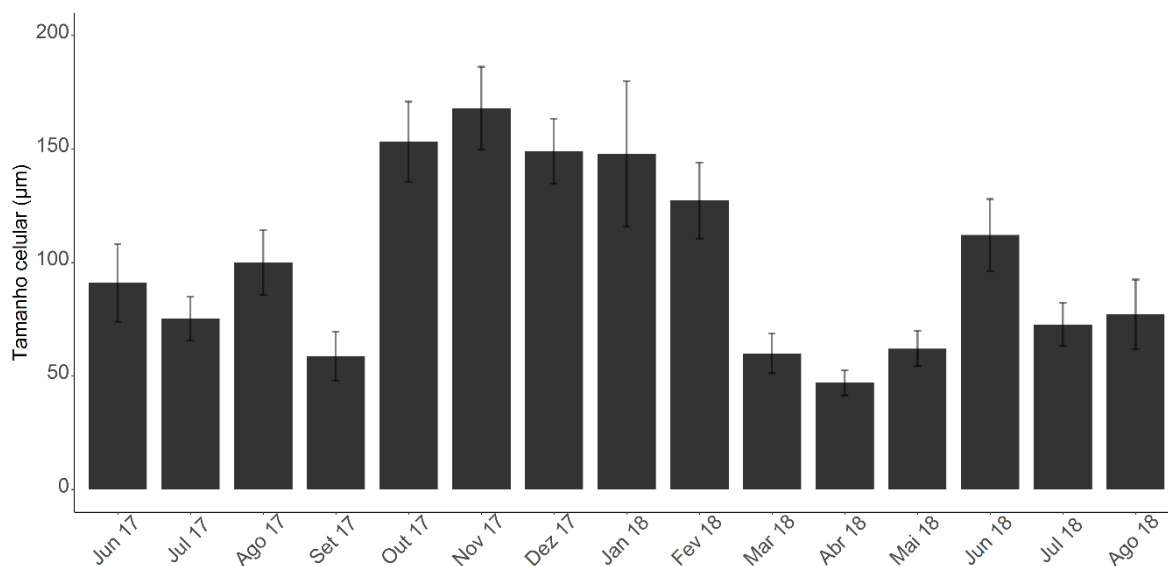
Assim, ao serem analisados os dois períodos (amadurecimento e desova) da espécie *H. cinerea* na praia de Flecheiras, pode-se afirmar que a população da região apresenta um ciclo reprodutivo contínuo (Fig. 15).



**Figura 15.** Porcentagem mensal dos períodos do ciclo reprodutivo da espécie *Hastula cinerea*, durante os meses de estudo na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.



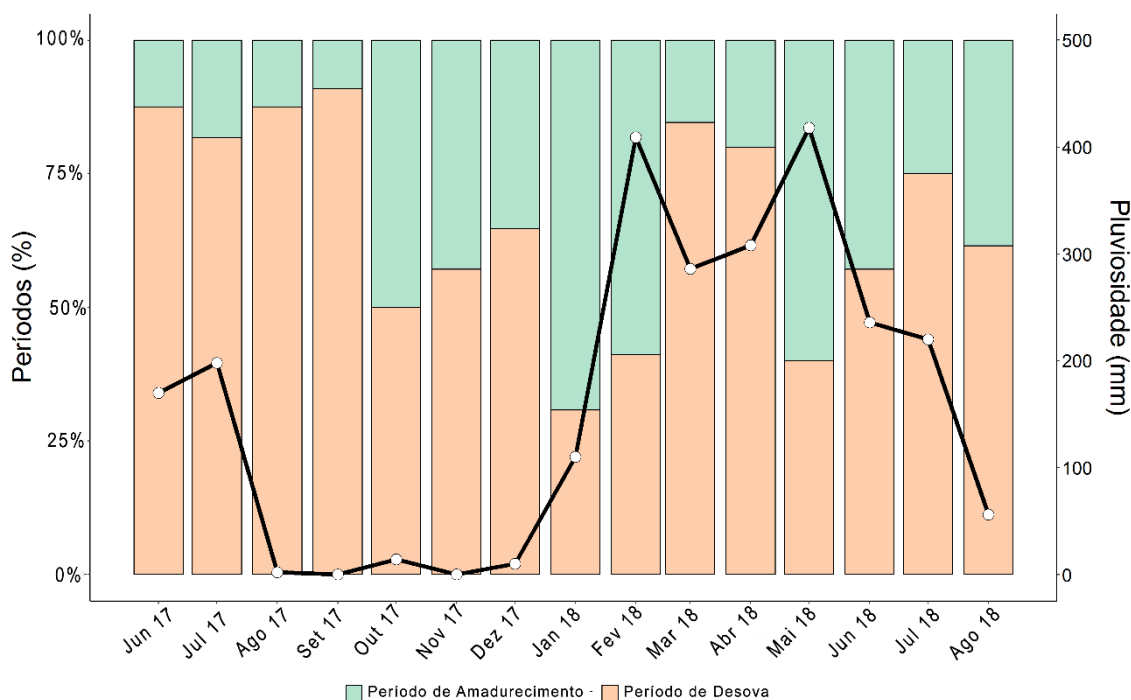
O tamanho médio dos ovócitos variou ao longo dos meses de estudos, acompanhando as variações nas proporções das fases de desenvolvimento gonadal observadas. Assim, as maiores médias de tamanho do ovócito se concentraram nos meses correspondentes à fase de amadurecimento (Fig. 16).



**Figura 16.** Média de tamanho dos oócitos (ovogônia, ovócitos pré-vitelogênico, ovócitos vitelogênicos e ovócitos maduros) de *Hastula cinerea* na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.

Ao relacionar o ciclo reprodutivo com a pluviosidade, pode-se observar que apesar de apresentar picos de reprodução entre os meses de junho a setembro de 2017 (período seco), altas taxas de período reprodutivo também ocorreram nos meses de chuva (março e abril de 2018, principalmente). Já o amadurecimento gonadal começa a se intensificar ainda no período seco, com maior ocorrência durante os meses de janeiro, fevereiro e maio de 2018 (quando inicia uma alta na pluviosidade) (Fig. 17).

Portanto, o amadurecimento ocorre no período seco, com um pico no início do período chuvoso, e a desova é contínua, com maiores picos no período chuvoso prolongando-se até o início do período seco seguinte. Este comportamento coincide com o tamanho dos ovócitos, onde os maiores tamanhos são observados no período seco.



**Figura 17.** Períodos reprodutivos (barras empilhadas) da população de *Hastula cinerea* e a pluviosidade (linha com pontos), na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.

## DISCUSSÃO

A estrutura populacional da espécie *H. cinerea*, na praia de Flecheiras, é heterogênea com relação ao comprimento de concha e proporção sexual desigual. Tais observações rejeitam a hipótese proposta de que a proporção é balanceada de 1:1 e evidenciam a diferença significativa no tamanho da concha entre os sexos. O ciclo reprodutivo, apesar de contínuo, como sugerido na hipótese, apresentou picos de reprodução tanto em períodos secos, quanto em períodos de alta pluviosidade, refutando a hipótese de picos reprodutivos somente no período seco.

A população de *H. cinerea* estudada apresentou uma amplitude de variação no tamanho da concha, atingindo valores médios (menor média mensal 18,04 mm e maior 30,60 mm) diferentes de outras regiões do Nordeste. Molina *et al* (2013), por exemplo, encontraram uma média de tamanho superior a 40 mm para a região do Rio Grande do Norte (RN) (5°59'1"S 35°7'20"W). Porém, as médias de tamanho de duas populações de *H. cinerea* estudadas por Luz (2015), na Bahia (BA) (14°47'55"S 39°02'01"W), mostraram tamanhos pouco heterogêneos e com médias de tamanho abaixo de 17 mm. Em pesquisa realizada no Sudeste do Brasil – São Paulo (SP) (24°28,67"S 47°07,36"W) por Petracco (2008), a média de tamanho encontrada para a população de *H. cinerea* na região foi menor que 30 mm, mais próxima a encontrada no presente trabalho. As diferenças encontradas na média de tamanho

em regiões diferentes do país podem estar relacionadas a diferentes fatores, como: (1) variações na distribuição por tamanho da população, onde organismos maiores habitam regiões mais afastadas da linha da praia; (2) características morfodinâmicas da praia e altura da maré no momento da coleta; (3) comportamento de deslocamento dos indivíduos ao longo da zona de surfe em função para alimentação ou encontro de pares para cópula; e (4) possíveis diferenças no método de coleta utilizado nos diferentes estudos.

Na praia estudada, foi observado que a distribuição dos indivíduos na faixa de entre marés acompanhava o ritmo das marés: uma hora antes do pico da maré baixa, só eram visualizados organismos de tamanhos menores que 30 mm; quando a maré começava a subir, eram visualizados indivíduos com tamanho superior a 40 mm. O método de coleta empregado neste estudo acompanhou este comportamento dos organismos e foi realizado ao longo de 15 meses e manualmente na zona de varrido das ondas, sempre no turno da manhã. Molina *et al.* (2013), no Rio Grande do Norte, realizaram também coleta na zona de varrido, porém em cinco dias consecutivos, com transectos perpendiculares à linha d'água em diferentes distâncias e diferentes turnos (manhã e final da tarde até o anoitecer). Luz (2015), estudando uma população na Bahia, observou um comportamento dos indivíduos completamente diferente, em que eles só surgiam no entre marés quando a maré estava subindo e, mesmo assim, somente indivíduos menores que 30 mm – nesse estudo, as coletas eram manuais nas manchas (agregados) dos indivíduos encontrados em uma extensão de 1 km ao longo de duas praias. Na população estudada por Petracco (2008) em São Paulo, a coleta foi realizada com transectos similares ao de Molina *et al.* (2013), porém em um único dia e único turno. Desta forma, sugiro a elaboração de um protocolo de amostragem para facilitar a comparação dos dados e assim melhor descrição do comportamento da espécie em diferentes habitats. Por ser uma espécie com ampla distribuição ao longo das praias arenosas da costa brasileira, o conhecimento de suas características adaptativas na sua distribuição latitudinal é importante para a conservação e monitoramento de alterações ambientais nas áreas de ocorrência.

A estrutura populacional e distribuição espacial refletem as características adaptativas de uma espécie em respostas às diferentes condições do ambiente. Assim, aspectos relacionados à proporção sexual e à reprodução da população são importantes fatores a serem investigados. Para a população de *H. cinerea* em estudo, a proporção sexual se apresentou em desacordo com o esperado 1:1, como sugerido por Fisher (1930). Houve, significativamente, mais fêmeas do que machos na região, o que, provavelmente, pode estar relacionado a um comportamento em que os machos se encontram distribuídos em diferentes

profundidades na praia. Apesar de não ter sido objetivo deste estudo, é provável que o perfil plano da praia e as suas características morfodinâmicas contribuam para uma distribuição mais dispersa da população e que organismos maiores e os machos ocupem zonas mais afastadas da linha d'água.

Desvios na proporção sexual não são incomuns na natureza. Em outros moluscos, como em bivalves, já foram verificadas proporções sexuais diferentes do esperado, sendo estratégias adaptativas de espécies de bivalves que fazem transmissão espermática (HASSAN; QIN; LI, 2018). Ao analisar a variedade de moluscos e suas histórias de vida, descobertas imprevistas sobre proporção sexual podem acontecer; por isso, novas técnicas para entender a genética que determina o sexo serão grandes aliadas para verificação da razão sexual em moluscos (YUSA, 2007).

Ao longo dos meses de estudo, foi possível observar que a proporção sexual variou em função das fases do ciclo reprodutivo. Nos meses em que houve uma maior taxa de amadurecimento gonadal, foi observado um maior número de machos, já no período de desova houve a permanência de fêmeas na área de coleta. Este fato também pode reforçar a existência de uma distribuição da população em função da profundidade (ou da distância da zona de varrido das ondas), em que os machos em determinados períodos se encontram em diferentes profundidades e aproximam-se de áreas mais rasas quando estão amadurecendo e buscando fêmeas para cópula. Já as fêmeas tendem a se aproximar da praia no período de postura de cápsulas. Para comprovação de tais hipóteses, entretanto, são necessários mais estudos.

Também foi observado na população de *H. cinerea*, da praia da Flecheiras, que as fêmeas são significativamente maiores (tamanho da concha) do que os machos. É comumente encontrado na natureza, em gastrópodes gonocóricos marinhos, fêmeas maiores em tamanho do que machos (NG *et al.*, 2018). Esse fato pode ocorrer devido a própria reprodução, onde já foi observado em outros moluscos, que as fêmeas tendem a ser maiores, e até mesmo mais largas – para comportar os ovos fecundados – e que os machos tendem a escolher fêmeas maiores para fecundar (NG *et al.*, 2018).

As características morfológicas dos tipos celulares germinativos de *H. cinerea* seguem o padrão da gametogênese para gastrópodes marinhos (e.g. ARANDA *et al.*, 2003; AVILA-POVEDA; BAQUEIRO-CÁRDENAS, 2009; ROCHA-BARREIRA, 2002; ROCHA-BARREIRA, 2010). A caracterização histológica é importante na identificação das fases de desenvolvimento das gônadas e, conseqüentemente, determinação do ciclo reprodutivo dos

organismos, auxiliando, entre outros aspectos da biologia, no estudo da dinâmica populacional. A análise histológica é considerada uma das técnicas mais precisas e detalhadas para descrever o ciclo reprodutivo de uma espécie (ELHASNI, 2010). Assim, o ciclo reprodutivo é determinado quando as características anatômicas e histológicas das gônadas são amostradas ao longo de um determinado tempo, considerando também fatores ambientais e aspectos ecológicos da espécie (AVILA-POVEDA; BAQUEIRO-CÁRDENAS, 2009). Com essa caracterização é possível verificar também gônadas parasitadas.

A baixa incidência de indivíduos de *H. cinerea* infectados por trematódeos demonstra uma relação parasita-hospedeiro comum. Em geral, esses parasitos são encontrados na forma de esporocistos e cercárias, preferencialmente na gônada do molusco, causando ruptura das paredes foliculares e destruindo as células germinativas (ROCHA-BARREIRA & ARAÚJO, 2005). É comum encontrar trematódeos parasitos em moluscos (e.g. DEMETRIADES, 2020; GILARDONI *et al.*, 2018; GILARDONI *et al.*, 2019; KHALEEL; ALHAMD, 2021), porém a alta infecção pode ser devido a alterações ambientais que diminuem a qualidade do habitat nas relações parasita-hospedeiro e, conseqüentemente, na saúde dos organismos (DEMETRIADES, 2020). Além disso, o parasitismo pode ser influenciado por fatores de grande escala, como padrões biogeográficos, e fatores de pequena escala, como diversidade ou abundância dos hospedeiros (GILARDONI *et al.*, 2019).

Com a caracterização histomorfológica gonadal da espécie, foi possível verificar quatro fases de desenvolvimento das suas gônadas, sendo elas, gônada parcialmente madura, gônada madura, gônada parcialmente eliminada e gônada eliminada, descartando possíveis períodos de repouso para a população em estudo. Na região semiárida, é comum que as populações de moluscos não apresentem o período de repouso devido, principalmente, as questões meteorológicas, diferente de outras regiões com clima bem definidos (e.g. ALMEIDA; GIMENEZ, 2018; ELHASNI *et al.*, 2010; BARREIRA; ARAÚJO, 2005; ROCHA-BARREIRA, 2002; ROCHA-BARREIRA, 2010).

A população de *H. cinerea* apresentou ciclo reprodutivo contínuo. O amadurecimento gonadal ocorreu predominantemente no período seco, porém houve um pico no início do período chuvoso; já o período de desova se apresentou contínuo, com maiores picos no período chuvoso prolongando-se até o início do período seco seguinte, havendo, portanto, entrada constante de novos indivíduos na população. Este comportamento coincide com o tamanho dos ovócitos, onde os maiores tamanhos são observados no período seco. A região semiárida do Brasil é conhecida por apresentar períodos chuvosos especialmente nos

primeiros meses do ano (janeiro a maio) e períodos secos no segundo semestre do ano (FUNCEME, 2021). Essa condição traz consigo especificidades (aumento de salinidade e fortes ventos, por exemplo) que influenciam a dinâmica populacional de muitas espécies (ROCHA-BARREIRA, *et al.*, 2005; ROCHA-BARREIRA; QUEIROZ, 2019). É comum que espécies de moluscos da região semiárida apresentem ciclo reprodutivo contínuo, podendo estar relacionado as condições ambientais da região em que os fatores externos não afetariam a reprodução em determinadas épocas do ano (ROCHA-BARREIRA, 2002; COLLIN *et al.*, 2017).

Embora a temperatura seja considerada um dos principais fatores ambientais que regulam o processo reprodutivo dos organismos, uma vez que o aumento da temperatura pode induzir e controlar a maturação das gônadas (WEBBER; GIESE, 1969), em regiões onde não existem variações significativas de temperatura, outros fatores ambientais podem atuar na regulação deste processo. Assim, ciclos de reprodução contínua podem ocorrer e podem apresentar picos de desova devido às variações de salinidade, pluviosidade ou disponibilidade de alimento.

Desta forma, a estrutura populacional e reprodutiva da espécie *H. cinerea* na região semiárida do Nordeste do Brasil segue um padrão em escala regional. A população se apresenta com características marcantes como uma razão sexual diferente da esperada, com maior quantidade de fêmeas. O ciclo reprodutivo da *H. cinerea* foi considerado contínuo, sendo o amadurecimento gonadal regulado pelo aumento da ocorrência de pluviosidade, tal como já observados em outras populações de outras espécies na região Nordeste do Brasil (e.g. BARREIRA; ARAÚJO, 2005; ROCHA-BARREIRA, 2002). Entretanto, o período de desova é extenso, ocorrendo tanto em meses mais secos quanto nos chuvosos. Esses dados complementam informações para caracterização do grupo, contribuindo para a base de estudos taxonômicos, sistemáticos, ecológicos e reprodutivo dos gastrópodes da família Terebridae, principalmente para região do Atlântico Sul, visto que não há relatos na literatura científica.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, H. K.; GIMÉNEZ, J. Gonad characterization and reproductive seasonality in *Siphonaria lessonii* (Gastropoda: Heterobranchia) from the southwestern Atlantic Ocean. **Invertebrate Biology**, v. 137, n. 3, p. 264-277. 2018.

ANDRADE, L. S.; FRAMESCHI, I. F.; CASTILHO, A. L.; COSTA, R. C.; FRANSOZO, A. Can the pattern of juvenile recruitment and population structure of the speckled swimming

crab *Arenaeus cribrarius* (Decapoda: Brachyura) be determined by geographical variations? **Marine Ecology**, v. 36(4), 950-958. 2015.

ARANDA, D. A.; CÁRDENAS, E. B.; MORALES, I. M.; ZÁRARE, A. Z.; BRULÉ, T. A review of the reproductive patterns of gastropod mollusks from Mexico. **Bulletin of Marine Science**, v. 73, n. 3, p. 629-641. 2003.

AVILA-POVEDA, O. H.; BAQUEIRO-CÁRDENAS, E. R. Reproductive cycle of *Strombus gigas* Linnaeus 1758 (Caenogastropoda: Strombidae) from Archipelago of San Andres, Providencia and Santa Catalina, Colombia. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 53, n. 1, p. 1-12. 2009.

BANDEL, K. Spawning, development and ecology of some higher Neogastropoda from the Caribbean Sea of Colombia (South America). **The Veliger**, v. 19, n. 2, p. 176-193, 1976.

CALLIL, C. T.; MANSUR, M.C. D. Gametogênese e dinâmica da reprodução de *Anodontites trapesialis* (Lamarck) (Unionoidea, Mycetopodidae) no lago Baía do Poço, planície de inundação do rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, p. 825-840. 2007.

CHUNG, E. Y.; KIM, S. Y.; KIM, Y.G. Reproductive ecology of the purple shell, *Rapana venosa* (Gastropoda: Muricidae), with special reference to the reproductive cycle, depositions of egg capsules and hatchings of larvae. **The Korean Journal of Malacology**, v. 9, n. 2, p. 1-15. 1993.

COLLIN, R.; KERR, K.; CONTOLINI, G.; OCHOA I. Reproductive cycles in tropical intertidal gastropods are timed around tidal amplitude cycles. **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 15, p. 5977-5991, 2017.

CORTE, G. N.; YOKOYAMA, L. Q.; TARDELLI, D. T.; CHECON, H. H.; TURRA, A. Spatial patterns of the gastropod *Olivella minuta* reveal the importance of tide-dominated beaches and the subtidal zone for sandy beach populations. **Regional Studies in Marine Science**, v. 39, 101454. 2020.

DEMETRIADES, P. Prevalence of infection with *Pleurogonius malaclemys* Hunter, 1961 (Trematoda: Digenea) in *Tritia obsoleta* (Say, 1822) (Gastropoda: Caenogastropoda: Nassariidae) in relation to environment quality. **Folia Malacologica**, v. 28, n. 3, p. 242-252, 2020.

ELHANSNI, K.; GHORBEL, M.; VASCONCELOS, P.; JARBOUI, O. Reproductive cycle and size at first sexual maturity of *Hexaplex trunculus* (Gastropoda: Muricidae) in the Gulf of

Gabès (southern Tunisia). **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 54, n. 4, p. 213-225. 2010.

FALKNER, I.; BYRNE, M. Skeletal characters for identification of juvenile *Ophiactis resiliens* and *Amphiura constricta* (Echinodermata): Cryptic ophiuroids in coralline turf habitat. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 86, 1199–1207. 2006.

FISHER, R. A. **The Genetical Theory of Natural Selection**. Clarendon Press, London. 1930.

FUNCEME. **Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos**. Disponível em: <http://www.funceme.br/>. Acessado em 23 de maio de 2021.

GIESE, A. C. Comparative physiology: annual reproductive cycles of marine invertebrates. **Annual Review of Physiology**, v. 21, n. 1, p. 547-576. 1959.

GILARDONI, C.; DI GIORGIO, G.; ITUARTE, C.; CREMONTE, F. Atypical lesions and infection sites of larval trematodes in marine gastropods from Argentina. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 130, n. 3, p. 241-246, 2018.

GILARDONI, C.; GIORGIO, G.; BAGNATO, E.; CREMONTE, F. Survey of trematodes in intertidal snails from Patagonia, Argentina: new larval forms and diversity assessment. **Journal of Helminthology**, v. 93, n. 3, p. 342-351, 2019.

GLOCKNER-FAGETTI, A.; BENÍTEZ-VILLALOBOS, F. Spatio-temporal variation in density and size structure of the endangered sea cucumber *Isostichopus fuscus* in Huatulco National Park, Mexico. **Marine Ecology**, v. 38(1), e12386. 2017.

HASSAN, M. M.; QIN, J. G.; LI, X. Gametogenesis, sex ratio and energy metabolism in *Ostrea angasi*: implications for the reproductive strategy of spermcasting marine bivalves. **Journal of Molluscan Studies**, v. 84, n. 1, p. 38-45. 2018.

HEWITSON, T. D.; WIGG, B.; BECKER, G. J. Tissue preparation for histochemistry: fixation, embedding, and antigen retrieval for light microscopy. In: **Histology Protocols**. Humana Press, Totowa, NJ. p. 3-18. 2010.

HOWARD, D. W.; SMITH, C. S. **Histological techniques for marine bivalve mollusks**. NOAA Technical Memorandum NMFS-F /NEC-25. 97pp. 1983.



KESHAVARZ, M.; JAHROMI, M.S. Effects of primary sex ratio on operational sex ratio in sea urchin, *Echinometra mathaei*. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 49, n. 4, p. 1373-1381. 2017.

KHALEEL, M. I.; ALHAMD, S. S. Histopathological effects of *Parapleurolophocercous cercaria* on the digestive glands of *Melanoides tuberculata*. **Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences**, v. 23, n. 1, p. 13-15. 2021.

KREBS C. J. **Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance**. Pearson, USA. 2014.

LUZ, I. O. **Dinâmica populacional de *Hastula (Impages) cinerea* (Born, 1778) (Mollusca, Gastropoda, Terebridae) em duas praias urbanas (Ilhéus, Bahia)**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Santa Cruz. 2015.

MARCUS, E.; MARCUS, E. On *Hastula cinerea*. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Zoologia**, v. 23: 25–65. 1960.

MARTEL, A.; LARRIVÉE, D. H.; KLEIN K. R.; HIMMELMAN, J. H. Reproductive cycle and seasonal feeding activity of the Neogastropod *Buccinum undatum*. **Marine Biology**, v. 92, n. 2, p. 211-221. 1986.

MOLINA, W. F.; LIMA FILHO, P. A.; DANTAS, V. F. R.; MOTTA NETO, C. C.; BERTOLLO, L. A. C. Morphological differences associated with colour morphs of the auger snail *Hastula cinerea* (Conoidea: Terebridae) from northeast Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**. v. 93, n. 4, p. 1035. 2013.

NARCHI, W. Ciclo anual da gametogênese de *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia). **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, v. 1, n. 1, p. 331-350, 1976.

NG, T. P. T.; ROLAN-ALVAREZ, E.; DAHLEN, S. S.; DAVIES, M. S.; ESTEVEZ, D.; STAFFORD, R.; WILLIAMS, G. A. The causal relationship between sexual selection and sexual size dimorphism in marine gastropods. **Animal Behaviour**, v. 148, p. 53-62, 2019.

PETRACCO, M. **Produção Secundária da macrofauna bentônica da zona entremarés no segmento norte da praia do Uma, litoral sul do estado de São Paulo**. Tese de doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 2008.

PURCELL S. W.; LOVATELLI, A.; VASCONCELLOS, M. Managing Sea Cucumber Fisheries with an Ecosystem Approach. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Rome: 157. 2010.

RAO, M. B. Sex phenomenon and reproductive cycle in the limpet *Cellana radiata* (Born) (Gastropoda: Prosobranchia). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 12, n. 3, p. 263-278. 1973.

ROBERT R.; RELYEA R. **A economia da natureza**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 807p. 2016.

ROCHA-BARREIRA, C. A.; ARAÚJO, M. L. R. Ciclo reprodutivo de *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na praia do canto da barra, fortim, Ceará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 31, n. 1, p. 9-20. 2005.

ROCHA-BARREIRA, C. A. *et al.* Levantamento da macroinfauna bentônica de ambientes inconsolidados do estado do Ceará: faixa entremarés de praias arenosas. **Programa Ecológico e Econômico da Zona Costeira do Estado do Ceará**, 2005.

ROCHA-BARREIRA, C. A. Gonad characterization and reproductive cycle of *Collisella subrugosa* (Orbigny, 1846) (Gastropoda: Acmaeidae) in the Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4B, p. 885-895. 2002.

ROCHA-BARREIRA, C. A. Reproductive cycle of *Olivancillaria vesica auricularia* (LAMARCK, 1810) (Mollusca: Gastropoda: Olividae) in Southern Brazil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 43, n. 2, p. 110-118. 2010.

ROCHA-BARREIRA, C. A.; QUEIROZ, L. S. Morphodynamics and macrofauna communities in 12 sandy beaches of Brazil Northeast: a semiarid tropical study. *In*: MOCHEL F. R. (org.) **Gerenciamento costeiro e gerenciamento portuário 2**. Ponta Grossa, PR: Atena Editora. p. 85 – 106. 2019.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. 2016.

SEIXAS, V. C.; PAIVA, P. C.; RUSSO, C. A. M. Comparative population genetics and demographic history of two polychaete species suggest that coastal lagoon populations evolve under alternate regimes of gene flow. **Marine Biology**, v. 165(11), p. 1-16. 2018.

SHIELL, G. Field observations of juvenile sea cucumbers. **SPC Bêche-de-Mer Information Bulletin**, v. 20, p. 6–11. 2004.

SIMONE, L.R.L. Comparative morphology and systematics of Brazilian Terebridae (Mollusca, Gastropoda, Conoidea), with descriptions of three new species. **Zoosystema**, v. 21, p. 199–248. 1999.

SLATER, M. J.; CARTON, A. G.; JEFFS, A. G. Highly localised distribution patterns of juvenile sea cucumber *Australostichopus mollis*. New Zealand **Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 44, p. 201–216. 2010.

STEARNS, S. C. Life-history tactics: a review of the ideas. **The Quarterly Review of Biology**, v. 51, n. 1, p. 3-47. 1976.

VERMEIJ, G. J. Shell features associated with the sand-burying habit in gastropods. **Journal of Molluscan Studies**, v. 83, n. 2, p. 153-160, 2017.

WANG, X. C.; JOHNSON, M. W.; DAANE, K. M.; YOKOYAMA, V. Y. Larger olive fruit size reduces the efficiency of *Psytalia concolor*, as a parasitoid of the olive fruit fly. **Biological Control**, v. 49, n. 1, p. 45-51. 2009.

WEBBER, H. H.; GIESE, A. C. Reproductive cycle and gametogenesis in the black abalone *Haliotis cracheroidii* (Gastropoda: Prosobranchiata). **Marine Biology**, v. 4, n. 2, p. 152-159. 1969.

WENNER A.M. Sex ratio as a function of size in marine Crustacea. **American Naturalist**, 106, 321–350. 1972.

WEST, S. **Sex allocation**. Princeton University Press. 2009.

WHITE, E. P.; ERNEST, S. K. M.; KERKHOFF, A. J.; ENQUIST, B. J. Relationships between body size and abundance in ecology. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 22, n. 6, p. 323-330. 2007.

WOLFE, K.; BYRNE, M. Population biology and recruitment of a vulnerable sea cucumber, *Stichopus herrmanni*, on a protected reef. **Marine Ecology**, v. 38(1), p. e12397. 2017.

YUSA, Y. Causes of variation in sex ratio and modes of sex determination in the Mollusca—an overview. **American Malacological Bulletin**, v. 23, n. 1, p. 89-98. 2007.

## 10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *H. cinerea* possui uma variação radular. Os indivíduos maiores possuem dentes radulares maiores e com estruturas específicas (morfortipo-3) – ápice com entalhe e serrilhas pontiagudas na região central, diferentemente dos indivíduos menores, que possuem dentes radulares menores sem tais estruturas (morfortipo-1) ou com essas estruturas reduzidas, configurando uma transição entre os dentes (morfortipo-2). É possível que essa variação ocorra devido a diferentes hábitos alimentares e/ou potencial da peçonha, podendo ser comprovado em estudos sobre a morfologia funcional do animal.

A população de *H. cinerea* na praia de Flecheiras é variável com relação ao tamanho dos indivíduos, porém a média de comprimento se concentra em indivíduos menores. A proporção sexual na mesma população foi de maior quantidade de fêmeas do que machos, diferente do padrão encontrado na natureza. Houve também diferença significativa com relação ao tamanho da concha entre os sexos, sendo as fêmeas maiores do que os machos.

O ciclo reprodutivo da espécie seguiu um padrão para a região semiárida do Brasil, com relação a outros moluscos, com ciclo reprodutivo contínuo. Porém, diferente do que encontrado na região, não obedeceu a um padrão de picos de desovas somente no período seco.

Desta forma, os resultados contidos nesta pesquisa contribuem para a base de estudos dos gastrópodes da família Terebridae. Pesquisas como estas são fundamentais para servirem de base para estudos mais holísticos, a exemplo de trabalhos sobre funcionalidades terapêuticas das toxinas dos terebrídeos, visto a proximidade filogenética desta família com a família Conidae.

## APÊNDICE A

### Protocolo histológico:

#### *Inclusão do material em parafina após fixação em Bouin salino*

Álcool 80% por 1 hora;  
Álcool 90% por 1 hora;  
Álcool 96% por 1 hora (primeira passagem);  
Álcool 96% por 1 hora (segunda passagem);  
Álcool 100% P.A. por 1 hora (primeira passagem);  
Álcool 100% P.A. por 1 hora (segunda passagem);  
Xilol P.A. por 20 minutos;  
Parafina a 60°C por 1 hora e 10 minutos (primeiro banho);  
Parafina a 60°C por 1 hora e 20 minutos (segundo banho);  
Inclusão em parafina a 60°C (emblocamento).

#### *Corte histológico*

Preparar o bloco (fixar material no bloco de madeira);  
Ligar e manter a temperatura da água que será colocado às lâminas com os cortes;  
Limpar as lâminas com álcool e depois passa a albumina;  
Começar fazendo corte de 10 µm até aparecer o material;  
Faz o corte de 5 µm e coloca na água quente;  
Espera a fita se abrir e pescar a fita com a lâmina.

#### *Coloração das lâminas histológicas*

Xilol P.A por 5 minutos (primeira passagem);  
Xilol P.A. por 5 minutos (segunda passagem);  
Álcool 100% P.A. por 3 minutos (primeira passagem);  
Álcool 100% P.A. por 3 minutos (segunda passagem);  
Álcool 96% por 3 minutos (primeira passagem);  
Álcool 96% por 3 minutos (segunda passagem);  
Álcool 80% por 3 minutos;  
Álcool 70% por 3 minutos;  
Lavagem em água corrente por 5 minutos;  
Hematoxilina por 10 segundos;  
Lavagem em água corrente por 10 minutos;  
Eosina aquosa por 1 minuto;  
Álcool 70% por 30 segundos;  
Álcool 80% por 30 segundos;  
Álcool 96% por 30 segundos (primeira passagem);  
Álcool 96% por 30 segundos (segunda passagem);  
Álcool 100% P.A. por 30 segundos (primeira passagem);  
Álcool 100% P.A. por 30 segundos (segunda passagem);  
Xilol por 1 minuto (primeira passagem);  
Xilol por 1 minuto (segunda passagem);  
Gota de Entellan para colar a lamínula.

## APÊNDICE B

Resultados do teste *pos hoc* Tukey entre os meses estudados. Valores em negrito indicam diferença estatística significativa ( $p < 0.05$ ).

	diff	lwr	upr	p
Jul.17 - Jun. 17	3.692	-5.208	12.592	0.9855
Ago.17 - Jun.17	0.003	-8.749	8.7553	1
Set.17 - Jun.17	6.0183	-2.805	14.842	0.5699
Out.17 - Jun.17	-0.559	-9.382	8.2651	1
Nov.17 - Jun.17	1.8158	-7.084	10.715	1
Dez.17 - Jun.17	3.9667	-4.857	12.79	0.9704
Jan.18 - Jun.17	1.2576	-7.997	10.512	1
Fev.18 - Jun.17	-0.925	-9.748	7.8991	1
Mar.18 - Jun.17	0.8748	-9.314	11.064	1
Abr.18 - Jun.17	7.8848	-0.8	16.57	0.1228
<b>Mai.18 - Jun.17</b>	<b>9.2297</b>	<b>0.4059</b>	<b>18.053</b>	<b>0.0303</b>
Jun.18 - Jun.17	5.6073	-4.767	15.982	0.8779
Jul.18 - Jun.17	0.7115	-9.308	10.731	1
Ago.18 - Jun.17	-3.321	-14.13	7.4856	0.9993
Ago.17 - Jul.17	-3.689	-12.52	5.1397	0.9845
Set.17 - Jul.17	2.3263	-6.573	11.226	0.9999
Out.17 - Jul.17	-4.251	-13.15	4.6489	0.951
Nov.17 - Jul.17	-1.876	-10.85	7.0984	1
Dez.17 - Jul.17	0.2747	-8.625	9.1742	1
Jan.18 - Jul.17	-2.434	-11.76	6.8923	0.9999
Fev.18 - Jul.17	-4.617	-13.52	4.2829	0.9082
Mar.18 - Jul.17	-2.817	-13.07	7.4373	0.9998
Abr.18 - Jul.17	4.1928	-4.569	12.955	0.9503
Mai.18 - Jul.17	5.5377	-3.362	14.437	0.7179
Jun.18 - Jul.17	1.9153	-8.524	12.354	1
Jul.18 - Jul.17	-2.981	-13.07	7.1061	0.9996
Ago.18 - Jul.17	-7.013	-17.88	3.8555	0.6626
Set.17 - Ago.17	6.0154	-2.737	14.768	0.5565
Out.17 - Ago.17	-0.562	-9.314	8.1907	1
Nov.17 - Ago.17	1.8128	-7.016	10.642	1
Dez.17 - Ago.17	3.9637	-4.789	12.716	0.9684
Jan.18 - Ago.17	1.2546	-7.932	10.441	1
Fev.18 - Ago.17	-0.928	-9.68	7.8247	1
Mar.18 - Ago.17	0.8718	-9.255	10.999	1
Abr. 18 - Ago.17	7.8818	-0.73	16.494	0.115
<b>Mai.18 - Ago.17</b>	<b>9.2267</b>	<b>0.4743</b>	<b>17.979</b>	<b>0.0276</b>
Jun.18 - Ago.17	5.6043	-4.709	15.918	0.8735
Jul.18 - Ago.17	0.7085	-9.248	10.666	1
Ago.18 - Ago.17	-3.324	-14.07	7.4243	0.9993

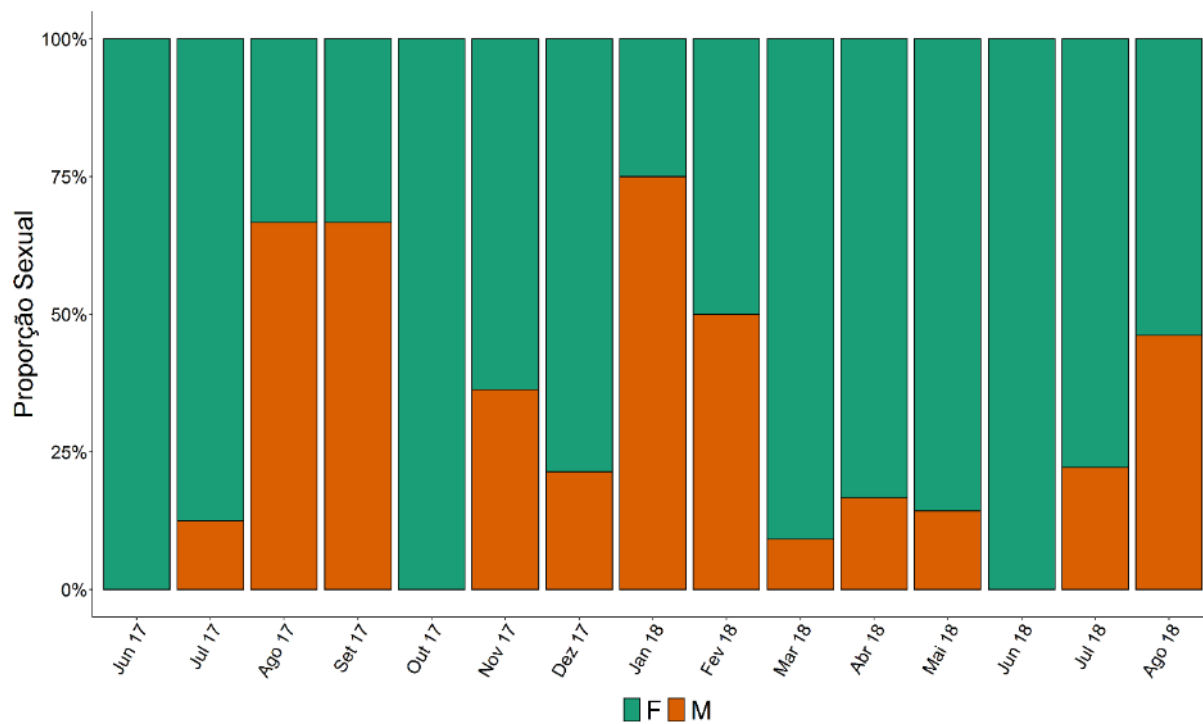
Out.17 - Set.17	-6.577	-15.4	2.2468	0.4113
Nov.17 - Set.17	-4.203	-13.1	4.697	0.9553
Dez.17 - Set.17	-2.052	-10.88	6.7721	1
Jan.18 - Set.17	-4.761	-14.02	4.4937	0.9136
Fev.18 - Set.17	-6.943	-15.77	1.8808	0.3174
Mar.18 - Set.17	-5.144	-15.33	5.0453	0.9248
Abr.18 - Set.17	1.8665	-6.818	10.551	1
Mai.18 - Set.17	3.2113	-5.612	12.035	0.996
Jun.18 - Set.17	-0.411	-10.79	9.9634	1
Jul.18 - Set.17	-5.307	-15.33	4.713	0.8937
Ago.18 - Set.17	-9.34	-20.15	1.4672	0.1786
Nov.17 - Out.17	2.3745	-6.525	11.274	0.9999
Dez.17 - Out.17	4.5253	-4.298	13.349	0.9155
Mar.18 - Out.17	1.8163	-7.438	11.071	1
Fev.18 - Out.17	-0.366	-9.19	8.4578	1
Mar.18 - Out.17	1.4334	-8.755	11.622	1
Abr.18 - Out.17	8.4435	-0.241	17.128	0.0666
<b>Mai.18 - Out.17</b>	<b>9.7883</b>	<b>0.9645</b>	<b>18.612</b>	<b>0.0145</b>
Jun.18 -Out.17	6.166	-4.208	16.54	0.7798
Jul.18 - Out.17	1.2701	-8.75	11.29	1
Ago.18 - Out.17	-2.763	-13.57	8.0442	0.9999
Dez.17-Nov.17	2.1509	-6.749	11.05	1
Mar.18 - Nov.17	-0.558	-9.885	8.7685	1
Fev.18 - Nov.17	-2.74	-11.64	6.1591	0.9993
Mar.18 - Nov.17	-0.941	-11.2	9.3135	1
Abr.18 - Nov.17	6.069	-2.693	14.831	0.5428
Mai.18 - Nov.17	7.4139	-1.486	16.313	0.2283
Jun.18 - Nov.17	3.7915	-6.647	14.23	0.996
Jun.18 - Nov.17	-1.104	-11.19	8.9823	1
Jul.18 - Nov.17	-5.137	-16.01	5.7317	0.955
Mar.18 - Dez.17	-2.709	-11.96	6.5454	0.9996
Fev.18 - Dez.17	-4.891	-13.72	3.9325	0.8557
Mar.18 - Dez.17	-3.092	-13.28	7.097	0.9994
Abr.18 - Dez.17	3.9181	-4.767	12.603	0.9694
Mai.18 - Dez.17	5.263	-3.561	14.087	0.7754
Jun.18 - Dez.17	1.6406	-8.734	12.015	1
Jul.18 - Dez.17	-3.255	-13.28	6.7647	0.9988
Ago.18 - Dez.17	-7.288	-18.09	3.5189	0.5895
Fev.18 - Jan.18	-2.182	-11.44	7.0722	1
Mar.18 - Jan.18	-0.383	-10.95	10.181	1
Abr.18 - Jan.18	6.6272	-2.495	15.749	0.4573
Mai.18 - Jan.18	7.9721	-1.282	17.227	0.1827
Jun.18 - Jan.18	4.3497	-6.393	15.093	0.9885
Jul.18 - Jan.18	-0.546	-10.95	9.855	1

Ago.18 - Jan.18	-4.579	-15.74	6.5824	0.9869
Mar.18 - Fev.18	1.7994	-8.389	11.988	1
<b>Abr.18 - Fev.18</b>	<b>8.8095</b>	<b>0.1246</b>	<b>17.494</b>	<b>0.0429</b>
<b>Mai.18 - Fev.18</b>	<b>10.154</b>	<b>1.3305</b>	<b>18.978</b>	<b>0.0086</b>
Jun.18 - Fev.18	6.532	-3.842	16.906	0.7005
Jul.18 - Fev.18	1.6361	-8.384	11.656	1
Ago.18 - Fev.18	-2.397	-13.2	8.4102	1
Abr.18 - Mar.18	7.01	-3.059	17.079	0.5337
Mai.18 - Mar.18	8.3549	-1.834	18.544	0.2517
Jun.18 - Mar.18	4.7325	-6.825	16.29	0.9872
Jul.18 - Mar.18	-0.163	-11.4	11.077	1
Ago.18 - Mar.18	-4.196	-16.14	7.7514	0.9972
Mai.18 - Abr.18	1.3449	-7.34	10.03	1
Jun.18 - Abr.18	-2.278	-12.53	7.979	1
Jul.18 - Abr.18	-7.173	-17.07	2.7244	0.4616
<b>Ago.18 - Abr.18</b>	<b>-11.21</b>	<b>-21.9</b>	<b>-0.512</b>	<b>0.0297</b>
Jun.18 - Mai.18	-3.622	-14	6.7521	0.9974
Jul.18 - Mai.18	-8.518	-18.54	1.5017	0.2
<b>Ago.18 - Mai.18</b>	<b>-12.55</b>	<b>-23.36</b>	<b>-1.744</b>	<b>0.0075</b>
Jul.18 - Jun.18	-4.896	-16.3	6.5133	0.9803
Ago.18 - Jun.18	-8.929	-21.03	3.1775	0.4302
Ago.18 - Jul.18	-4.033	-15.84	7.7709	0.9979

---



## APÊNDICE C



Proporção sexual de uma população de *Hastula cinerea* na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.

### APÊNDICE D

Fases do desenvolvimento gonadal de *Hastula cinerea* observados durante os meses de estudo na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.

<b>Meses</b>	<b>Parcialmente madura</b>	<b>Madura</b>	<b>Parcialmente eliminada</b>	<b>Eliminada</b>	<b>Total</b>
jun_17	1	0	3	4	<b>8</b>
jul_17	2	0	5	4	<b>11</b>
ago_17	0	1	2	5	<b>8</b>
set_17	1	0	3	7	<b>11</b>
out_17	1	3	2	2	<b>8</b>
nov_17	1	5	4	4	<b>14</b>
dez_17	2	4	8	3	<b>17</b>
jan_18	3	6	3	1	<b>13</b>
fev_18	7	3	5	2	<b>17</b>
mar_18	1	1	9	2	<b>13</b>
abr_18	3	1	8	8	<b>20</b>
mai_18	7	2	4	2	<b>15</b>
jun_18	2	1	1	3	<b>7</b>
jul_18	3	0	6	3	<b>12</b>
ago_18	3	2	8	0	<b>13</b>
<b>Total</b>	<b>37</b>	<b>29</b>	<b>71</b>	<b>50</b>	<b>187</b>

## APÊNDICE E

Períodos do ciclo reprodutivo de *Hastula cinerea* observados durante os meses de estudo na praia de Flecheiras, Trairi, Ceará, Brasil.

Meses	Período Amadurecimento	Período Reprodutivo	Total
jun_17	1	7	8
jul_17	2	9	11
ago_17	1	7	8
set_17	1	10	11
out_17	4	4	8
nov_17	6	8	14
dez_17	6	11	17
jan_18	9	4	13
fev_18	10	7	17
mar_18	2	11	13
abr_18	4	16	20
mai_18	9	6	15
jun_18	3	4	7
jul_18	3	9	12
ago_18	5	8	13
<b>Total</b>	<b>66</b>	<b>121</b>	<b>187</b>