



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

**CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ECOLOGIA E
BIODIVERSIDADE**

**EFEITO DA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO NO TAMANHO DE CORPO DO
CARAMUJO INVASOR *Pomacea canaliculata* (LAMARCK, 1822)
(GASTROPODA, AMPULARIIDAE)**

VINICIUS DA SILVA

Foz do Iguaçu

2023

**EFEITO DA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO NO TAMANHO DE CORPO DO
CARAMUJO INVASOR *Pomacea canaliculata* (LAMARCK, 1822)
(GASTROPODA, AMPULARIIDAE)**

VINICIUS DA SILVA

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado ao Instituto Latino-Americano
de Ciências da Vida e da Natureza da
Universidade Federal da Integração
Latino-Americana, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas - Ecologia e Biodiversidade

Orientador: Prof. Luiz Roberto Ribeiro Faria
Junior

Coorientadora: Prof.^a Elaine Della Giustina
Soares

Foz do Iguaçu

2023

VINICIUS DA SILVA

**EFEITO DA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO NO TAMANHO DE CORPO DO
CARAMUJO INVASOR *Pomacea canaliculata* (LAMARCK, 1822)
(GASTROPODA, AMPULARIIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas – Ecologia e Biodiversidade.

BANCA EXAMINADORA

Coorientadora: Profa. Dra. Elaine Della Giustina Soares

UNILA

Prof. Dr. Pablo Henrique Nunes

UNILA

Dr. Francisco Eriberto de Lima Nascimento

PPGBN-UNILA

Foz do Iguaçu, 19 de junho de 2023.

TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor(a): Vinicius da Silva

Curso: Ciências Biológicas - Ecologia e Biodiversidade

Tipo de Documento

graduação

artigo

especialização

trabalho de conclusão de curso

mestrado

monografia

doutorado

dissertação

tese

CD/DVD – obras audiovisuais

–

Título do trabalho acadêmico:

Nome da orientadora: Luiz Roberto Farias Junior e Elaine Della Giustina Soares

Data da Defesa: 19/06/2023

Licença não-exclusiva de Distribuição

O referido autor(a):

a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detém os direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, o autor autoriza a Biblioteca Latino-Americana – BIUNILA a disponibilizar a obra gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons Licença 3.0 Unported*.

Foz do Iguaçu, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Responsável

DA SILVA, Vinicius. **EFEITO DA TEMPERATURA DE INCUBAÇÃO NO TAMANHO DE CORPO DO CARAMUJO INVASOR *Pomacea canaliculata* (LAMARCK, 1822) (GASTROPODA, AMPULARIIDAE)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas - Ecologia e Biodiversidade). Universidade Federal da Integração Latino- Americana, Foz do Iguaçu, Paraná, 2023.

RESUMO

Pomacea canaliculata é uma espécie de gastrópode de água doce amplamente difundida em várias partes do mundo devido ao comércio do aquarismo. A espécie, no entanto, é classificada como invasora em alguns locais, causando impactos negativos na biodiversidade animal e vegetal, bem como na economia. Além disso, os avanços no aumento da temperatura média do planeta, de acordo com as previsões do painel intergovernamental sobre mudanças climáticas, podem resultar tanto em mudanças fisiológicas em organismos vivos quanto em alterações ecossistêmicas mais drásticas. Foram coletados dados morfométricos para avaliar o impacto que mudanças na temperatura podem causar no tamanho da concha de gastrópodes da espécie *Pomacea canaliculata* durante o desenvolvimento dos ovos. Para isso, foram incubadas 12 massas de ovos do caracol, obtidas por meio de doação junto a aquarofilistas da região. A incubação ocorreu em três cenários distintos de temperatura e, ao final, os caracóis foram fixados, montados em lâminas de microscopia em uma posição específica, e, em seguida, medidos. As medidas morfométricas consideradas foram o comprimento e a largura da concha, considerados bom *proxies* para o tamanho de corpo em caramujos. Análises de variância mostraram um efeito significativo tanto da temperatura quanto da origem dos indivíduos, i.e. as fêmeas das quais eram provenientes, no tamanho dos caramujos, além de uma interação significativa entre as variáveis. Foi possível observar ainda que o efeito da origem do ovo foi maior do que a da temperatura, evidenciando um possível componente importante de plasticidade fenotípica. Observou-se, entretanto, que, em média, os caramujos incubados na maior faixa de temperatura estudada mostraram-se maiores que os demais. A informação se mostra importante em termos de mudanças climáticas globais e expectativas de aumento de temperatura nas próximas décadas.

Palavras-chave: incubar; espécie invasora; medidas morfométricas; efeitos da temperatura

DA SILVA, Vinicius. **EFFECT OF THE INCUBATION TEMPERATURE ON THE BODY SIZE OF THE INVASIVE SNAIL *Pomacea canaliculata* (LAMARCK, 1822) (GASTROPODA, AMPULARIIDAE)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas - Ecologia e Biodiversidade. Universidade Federal da Integração Latino- Americana, Foz do Iguaçu, Paraná, 2023.

ABSTRACT

Pomacea canaliculata is a freshwater snail widely distributed across the globe mainly due to aquarium trade. However, this species is considered as an invasive species in some areas around the globe, causing negative impacts both on animal and plant biodiversity, in addition to economic impacts. The increasing of the average temperature of the planet, according to the predictions of the intergovernmental panel on climate change, may result both in physiological changes in living organisms and also in more drastic ecosystem changes. Morphometric data were collected to evaluate the impact that changes in temperature can have on the shell size of gastropods of the species *Pomacea canaliculata* during egg development. For this, 12 snail egg masses, obtained through donations from aquarists in the region, were incubated. Incubation was carried out under three different temperature scenarios and, after hatching, the snails were fixed, mounted on microscopy slides in a specific position, and then measured. The morphometric measurements considered here were both shell length and width, known as good proxies for body size in snails. Analysis of variance revealed a significant effect of both temperature and origin of individuals, i.e. the females from which they came from, on the size of the snails, in addition to a significant interaction between the variables. It was also possible to observe that the effect of egg origin was greater than that of temperature, evidencing a possible important component of phenotypic plasticity. It was observed, however, that, on average, the snails incubated in the highest temperature range studied were larger than the others. The information proves to be important in terms of global climate change and expectations of temperature increase in the coming decades.

Keywords: incubation; freshwater gastropod; invasive species; morphometric measurements; temperature effects.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ovos frescos de <i>P. canaliculata</i> aderidos ao caule de uma planta.....	15
Figura 2 - Ovos passando pela fase de separação manual.....	16
Figura 3 - Potes acomodando os ovos dentro das BOD's.....	18
Figura 4 - Lâminas de microscopia montadas com os caracóis.....	19
Figura 5 - Lâminas de microscopia montadas com os caracóis.....	19
Figura 6 - Medição da concha de um dos gastrópodes com a ferramenta especificada.....	20
Figura 7 - Box-plot com jitter plot dos logaritmos dos dados de comprimento obtidos das conchas de indivíduos de <i>P. canaliculata</i> incubados nos três regimes de temperatura estudados.....	23
Figura 8 - Box-plot com jitter plot dos logaritmos dos dados de largura obtidos das conchas de indivíduos de <i>P. canaliculata</i> incubados nos três regimes de temperatura estudados.....	24
Figura 9 - Comparação entre a média do logaritmo do comprimento da concha de indivíduos de <i>P. canaliculata</i> incubados em diferentes temperaturas considerando cada uma das massas de ovos estudadas (eixo x). As linhas preta, vermelha e azul representam, respectivamente, os valores de indivíduos incubados a 22,5°C, 25°C e 27,5°C.....	25
Figura 10 - Comparação entre a média do logaritmo da largura da concha de indivíduos de <i>P. canaliculata</i> incubados em diferentes temperaturas considerando cada uma das massas de ovos estudadas (eixo x). As linhas preta, vermelha e azul representam, respectivamente, os valores de indivíduos incubados a 22,5°C, 25°C e 27,5°C.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estatística descritiva (média + desvio-padrão) dos logaritmos dos valores de comprimento de concha obtidos para os indivíduos de cada massa de ovos/fêmea incubados nas três temperaturas avaliadas.....	22
Tabela 2 - Estatística descritiva (média + desvio-padrão) dos logaritmos dos valores de largura de concha obtidos para os indivíduos de cada massa de ovos/fêmea incubados nas três temperaturas avaliadas.....	23
Tabela 3 - Resultados da análise de variância (ANOVA dois parâmetros) para o comprimento das conchas de indivíduos de <i>P. canaliculata</i> incubados em diferentes temperaturas (SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: quadrado médio).....	25
Tabela 4 - Resultados da análise de variância (ANOVA dois parâmetros) para a largura das conchas de indivíduos de <i>P. canaliculata</i> incubados em diferentes temperaturas (SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: quadrado médio).....	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 METODOLOGIA	
2.1 Obtenção e preparação dos ovos.....	
2.3 Perfil de configuração das BOD's.....	
2.3 Incubação dos ovos.....	
2.4 Montagem das lâminas para a tomada da medida dos gastrópodes.....	
2.5 Tomada das medidas no software vinculado ao estereomicroscópio.....	
2.6 Análises realizadas no “Past”.....	
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
3.1 Resultados.....	
3.2 Discussão.....	
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	
5 REFERÊNCIAS	

1 Introdução

O filo Mollusca é caracterizado por apresentar organismos com distintas características morfológicas, ecológicas e biológicas, cujos representantes ocupam uma ampla variedade de ambientes e nichos em todo o mundo. Os caracóis, também conhecidos como caramujos, são membros da classe Gastropoda e incluem espécies tanto aquáticas quanto terrestres. Esses moluscos são reconhecidos principalmente por sua concha em espiral, embora, em alguns casos, ela possa estar ausente ou reduzida. Além disso, uma característica sinapomórfica dos caracóis é a torção da concha e da massa visceral durante o desenvolvimento embrionário (Brusca, 2018).

De modo geral, os gastrópodes desempenham papéis ecológicos de extrema importância. Os caracóis aquáticos, por exemplo, estão intimamente ligados à ciclagem de matéria orgânica e, indiretamente, à manutenção dos parâmetros físico-químicos da água (Rossi, 2013). Esses caracóis frequentemente se alimentam de matéria orgânica em decomposição, plantas aquáticas, bem como algas e pequenos organismos presentes no perifíton do ambiente (Brusca, 2018).

A literatura científica vem acumulando informações abrangentes ao longo do tempo sobre diversas espécies de gastrópodes, abordando sua ecologia, morfologia, fisiologia, desenvolvimento, reprodução e outros aspectos (Taylor et al. 1978; Taylor et al. 1990; Underwood, 1979). E, neste contexto, muitos estudos têm levantado preocupações sobre o potencial invasivo de vários representantes desse grupo, ressaltando as possíveis alterações em ecossistemas, tanto aquáticos quanto terrestres, decorrentes da invasão de certos gastrópodes (e.g. Almeida et al. 2018; Alonso et al. 2023; Miyahira et al. 2023). Um exemplo notável desse potencial invasivo é o caramujo gigante africano, *Achatina fulica*, que vem ocupando várias localidades nas Américas e outros lugares do mundo (Graeff, 2007; Rekha et al., 2015; Taylor, 2003; Thiengo et al., 2007;). De forma geral, os gastrópodes invasores possuem uma notável capacidade de adaptação a diversos ambientes, competindo e deslocando espécies nativas e perturbando as estruturas das cadeias tróficas (Madsen, 1998; Miyahira et al. 2023).

É farto o registro do potencial invasivo de caracóis aquáticos, sendo que, em alguns casos, os próprios eventos de invasão já estão amplamente relatados (Alonso & Castro, 2008; Jiang et al., 2022). A espécie *Physa acuta* Draparnaud,

1805, por exemplo, com provável origem na América do Norte (ver Miyahira et al., 2023), se encontra atualmente dispersa por toda a Europa, Ásia, e, mesmo na América do Sul, em lugares anteriormente não observados, como o Lago Titicaca, região conhecida pelo elevado grau de endemismo (Taylor, 2003). Importante ressaltar que um fator muito importante na dispersão dessa e de outras espécies é o comércio de animais aquáticos criados por aquarofilistas, que vem possibilitando a introdução de *P. acuta* em diversos locais ao redor do mundo (p. ex. Duggan, 2010).

Neste contexto, estudos em ecologia, fisiologia e monitoramento das espécies de gastrópodes invasores, visando à mitigação dos impactos negativos que podem causar nas comunidades e ecossistemas, é de essencial importância (e.g. Baroudi et al., 2020; Ponce et al., 2021; Woodell et al., 2021).

Neste trabalho, foi proposto um estudo com a espécie *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), um gastrópode aquático pertencente à família Ampullariidae, amplamente distribuído ao longo dos corpos hídricos da América do Sul (Cowie & Thiengo, 2003; Martín et al., 2001). Assume-se que a espécie seja originalmente distribuída na Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai, ainda que uma definição acurada de sua distribuição geográfica dependa de uma revisão taxonômica extensiva (Cowie & Thiengo 2003). E tal revisão esbarra em um histórico taxonômico bastante complexo, com dificuldade, inclusive, de determinação da localidade-tipo da espécie (Thiengo et al. 1993).

P. canaliculata é um caramujo que passa a maior parte da vida submerso no corpo d'água. No entanto, durante sua estação reprodutiva, necessita sair da água para realizar a postura dos ovos. Esse comportamento é possível devido ao fato de esses animais possuírem tanto respiração branquial quanto respiração pulmonar (Bertholdt, 1991; Estebenet & Cazaniga, 1992; Estebenet & Martín, 2002). *Pomacea canaliculata* é também conhecida pelo seu potencial invasor notável (Salleh et al., 2012; Zhang et al., 2023), como observado no leste e sudeste da Ásia, onde causa danos severos às plantações de arroz ao longo dos canais de água utilizados para o cultivo do grão (Halwart, 1994; Josh, 2005). *Pomacea canaliculata* é, inclusive, um dos poucos moluscos incluídos na lista das 100 piores espécies invasoras do planeta Terra (Lowe et al., 2000), o que leva em conta, também, os efeitos da espécie na diversidade nativa de caramujos nos locais invadidos (e.g. Maldonado & Martín, 2019). Ressalta-se, por fim, a alta plasticidade da espécie, capaz de aclimação e adaptação a diferentes ambientes, onde geralmente é capaz

de estabelecer-se facilmente (Estebenet & Martín, 2002), e sua capacidade notável de recrutamento, considerando que é capaz de gerar prole numerosa em curtos intervalos de tempo (Halwart, 1994).

Em suma, *P. canaliculata* demonstra apresentar características invasoras que a tornam uma ameaça considerável para comunidades de caramujos nativos, ecossistemas aquáticos, e mesmo de certas culturas agrícolas em várias regiões do mundo. Neste contexto, o estudo de aspectos da biologia e fisiologia da espécie se faz importante e essencial tanto para a ampliação do próprio conhecimento básico sobre a espécie (Cotterill et al., 2010), como para implementação de medidas efetivas de controle e monitoramento (p. ex. Matsukura et al. 2009; de Silva et al. 2019; Qin et al., 2020). Portanto, entendemos ser relevante a realização de estudos que avaliem os efeitos da temperatura no tamanho de corpo de indivíduos recém eclodidos.

A temperatura desempenha um papel fundamental no sucesso biológico de diversos seres vivos, atuando como um regulador fisiológico que pode influenciar de várias maneiras e afetar diferentes aspectos da biologia de organismos aquáticos (Pörtner et al., 2008). Além dos efeitos para o próprio organismo, espera-se também que a temperatura influencie mesmo interações como competição e predação (Colvard & Helmuth 2015). A temperatura, em resumo, controla o metabolismo e performance dos indivíduos com efeitos diretos na dinâmica das populações e funcionamento dos ecossistemas (Angilletta, 2013). O desenvolvimento embrionário é um dos processos em que a temperatura pode exercer influência direta na história de vida de gastrópodes, como em *P. canaliculata*. Em ambientes com temperaturas elevadas, o metabolismo da espécie se acelera, enquanto em ambientes com temperaturas mais baixas, as atividades metabólicas podem diminuir consideravelmente, levando o caramujo a entrar em estado de hibernação e retardar suas atividades fisiológicas e, conseqüentemente, seu desenvolvimento (Estebenet & Martín, 2002).

Estudos tratando dos efeitos da temperatura na distribuição, performance, história de vida e mesmo nas interações entre os organismos tornam-se ainda mais relevantes se considerarmos o cenário presente de mudanças climáticas globais (e.g. Seuront et al. 2018). Mudanças na fenologia e distribuição geográfica de espécies, interrupção de interações bióticas, e câmbios na biodiversidade como um

todo, produtividade e dinâmica dos ecossistemas, vem sendo sistematicamente relatadas como consequência das mudanças climáticas globais (Beaugrand, 2015; Muluneh, 2021; Parmesan, 2006; Pettorelli et al., 2021; Shivanna, 2022.; e.g. Walther et al. 2002.). O Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC 2022), entidade que desempenha um papel fundamental na pesquisa sobre a história climática da Terra, além da criação de projeções futuras dos cenários climáticos com base na produção científica, estima nas suas projeções mais recentes um aumento médio de 1,5 a 2°C na temperatura global até o final do século, com uma alta probabilidade de que um aumento de 1,5°C ocorra até 2050 (IPCC, 2022).

O tamanho de corpo aparece, então, como variável chave para estudo no contexto de mudanças climáticas (Naya et al. 2017; Ohlberger, 2013; Sheridan & Bickford, 2011;) dada a sua importância central, há muito reconhecida, para a história de vida, performance, interações entre organismos e dinâmicas ecossistêmicas (Brown et al., 2004; Lika et al., 2019; e.g. Peters, 1983; Schmidt-Nielsen, 1984; Woodward et al., 2005;). Em *Pomacea canaliculata*, o período de desenvolvimento embrionário ocorre externamente ao corpo do caramujo, pois são ovíparos (Hayes & Turner, 1997), o que faz da temperatura de incubação uma variável ainda mais central para o processo. Os ovos são depositados acima da superfície da água onde os caramujos vivem, dependendo da umidade desse ambiente para um desenvolvimento bem-sucedido. A aparência dos ovos varia ao longo do tempo de desenvolvimento, apresentando uma coloração inicial em tons de rosa ou rosa avermelhado, que se tornam gradualmente esbranquiçados conforme o desenvolvimento avança. Essa coloração rosa é atribuída à presença do perivitelo no ovo, que é consumido pelo embrião ao longo do tempo, resultando no desaparecimento da coloração rosa e deixando apenas as cascas esbranquiçadas (Saveanu & Martín, 2014). As massas de ovos de *P. canaliculata* também podem variar em termos de quantidade de ovos, tamanho dos ovos e quantidade de perivitelo em cada ovo, sendo essas variações influenciadas por características biológicas do gastrópode que gera a prole e fortemente afetadas pela disponibilidade de recursos no ambiente em que estão inseridos (Cowie, 2002). Quanto ao período de desenvolvimento embrionário, em *P. canaliculata*, a eclosão dos ovos ocorre entre 10 e 15 dias desde a postura, sendo que o tempo pode variar pelas condições ambientais ao qual estão submetidos (Cowie, 2002).

Ainda que as evidências apontem um padrão geral de diminuição do corpo dos organismos em resposta às mudanças climáticas globais (Deufresne et al., 2009; Naya et al., 2017; Sheridan & Bickford, 2011;), os processos subjacentes a tal padrão não estão claros, da mesma forma que não há um entendimento muito claro se é algo que se aplica para organismos com distintas estratégias e histórias de vida (p. ex. endotérmicos e ectotérmicos) (Ohlberg, 2013). É imperativo então que dados empíricos sobre os efeitos da temperatura na biologia e ecologia das espécies continuem sendo coletados para que testes mais robustos das hipóteses vigentes possam ser realizados (Herrando-Pérez et al. 2023).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo investigar o efeito da temperatura de incubação no tamanho de corpo de indivíduos recém eclodidos de *Pomacea canaliculata* em condições de laboratório.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção e preparação dos ovos de *P. canaliculata*

As massas de ovos dos animais foram obtidas por meio de doações fornecidas por um aquarista da região de Foz do Iguaçu, localizada no estado do Paraná. Para a coleta dos ovos, o fornecedor foi orientado a entrar em contato assim que identificasse o surgimento de novas massas de ovos no ambiente onde as fêmeas adultas estavam presentes. Em todas as manhãs, o fornecedor realizava inspeções no local e, quando as massas de ovos eram encontradas, ele as entregava ao autor do estudo. As massas de ovos eram então submetidas a uma análise visual para determinar quais eram consideradas frescas, ou seja, com um período de postura recente que pode variar de algumas horas a um dia (Saveanu & Martín, 2014). A análise visual desempenha um papel crucial nesse processo, pois permite identificar características morfológicas distintas dos ovos à medida que seu desenvolvimento avança. Nos ovos considerados frescos, observou-se a presença de uma camada externa com aparência rosada, indicando a presença de perivitelo não absorvido. Além disso, esses ovos apresentavam uma aparência úmida e gelatinosa e não estavam aderidos uns aos outros. Os que não se enquadraram nessas características foram descartados. Conforme o tempo passa e a massa de ovos entra em contato com a atmosfera, a camada externa dos ovos perde umidade, tornando-se seca e rígida, e ocorre a fusão com os demais ovos em contato. Essas

características morfológicas são descritas na literatura (Saveanu & Martín, 2014) e foram utilizadas como critério para considerar uma postura como recente.



Figura 1. Ovos frescos de *P. canaliculata* aderidos ao caule de uma planta.

As massas de ovos foram cuidadosamente separadas e divididas manualmente em três porções iguais, garantindo que cada ovo fosse isolado individualmente sem comprometer sua integridade. No total, foram recebidas 12 massas de ovos, provenientes de fêmeas distintas. As porções fracionadas das massas de ovos foram então acomodadas em placas de isopor e colocadas em potes contendo água da torneira, sem tratamento. Os potes foram selecionados de forma a acomodar os ovos nas placas de isopor, e fornecer uma quantidade adequada de água para todo o período de incubação, levando em consideração a perda de água devido à evaporação. A manutenção de água nos potes é parte importante do processo, visto que, no ambiente natural, as oviposições dependem da umidade do ambiente em que os adultos geradores da prole estão inseridos (Estebenet & Martin, 2002). Cada pote foi devidamente identificado com uma etiqueta contendo o número correspondente à fêmea, a temperatura de incubação específica e as datas de início e término da incubação.

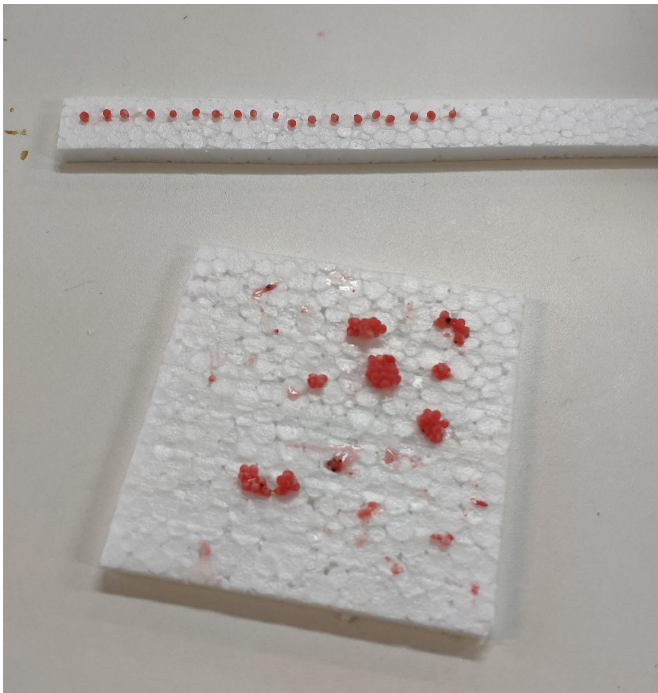


Figura 2: Ovos passando pela fase de separação manual.

2.2 Perfil de configuração das BOD's

Para simular os três cenários climáticos diferentes, foram utilizadas três câmaras de incubação do tipo BOD, cada uma configurada com temperatura e fotoperíodos de interesse. As temperaturas escolhidas para a incubação dos foram 22,5°C, 25°C e 27,5°C, determinadas com base em um levantamento de dados meteorológicos da cidade de Foz do Iguaçu, no estado do Paraná, obtidos na plataforma virtual do INMET, Instituto Nacional de Meteorologia (<https://portal.inmet.gov.br/>) e nas projeções do IPCC (Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas).

A determinação das temperaturas acima considerou as medições dos anos que continham todos os registros diários de temperatura ao longo de todo o ano, a partir de 1963, disponibilizadas pelo INMET. Com os dados coletados, foi calculada uma média anual para cada ano e, a partir desta média, foram propostos alguns cenários de aumento da temperatura média do planeta ao longo das próximas décadas. Como o valor médio de temperatura obtido para a cidade de Foz do Iguaçu foi de 21°C e o IPCC prevê que a temperatura média global exceda o limite de aumento de 1,5°C a 2°C, obtivemos o primeiro cenário, 22,5°C. Para o

segundo e terceiros cenários, utilizados para comparação com o primeiro, foram adicionados 2,5°C ao valor da temperatura crítica inicialmente obtida, resultando em valores de 25°C como cenário intermediário e 27,5°C como cenário extremo.

Todas as BODs foram configuradas para o mesmo fotoperíodo, ajustado para 12 horas de iluminação por período de 24 horas, iniciando-se às 7:00 h e encerrando-se às 19:00 h.

2.3 Incubação dos ovos

Os ovos, previamente preparados (etapa 2.1), foram inseridos dentro das BODs. Ao fim da montagem, foram obtidos um total de três amostras por fêmea, sendo cada uma correspondente a um dos cenários hipotéticos (22,5°C, 25°C e 27,5°C), i.e. 36 amostras se considerarmos todas as massas de ovos obtidas para o experimento. Assim, controlamos o fator relacionado à matriz dos ovos, colocando ovos de uma mesma fêmea em cada um dos níveis de tratamento apresentados.

Considerando que os ovos de *P. canaliculata* costumam eclodir entre 10 e 15 dias após a postura (Cowie, 2002), decidimos por deixá-los em incubação nas BODs por um período total de 20 dias. A quantidade de dias de incubação foi decidida de forma a maximizar as chances de que houvesse eclosões de pelo menos alguns dos ovos dessas de cada uma das oviposições.

As BOD's seguiram sendo checadas regularmente ao longo de todo o período de incubação, a fim de que a temperatura e também os níveis de água dentro dos potes fossem controlados.



Figura 3: Potes acomodando os ovos dentro das BOD's.

2.4 Fixação dos gastrópodes e preparação das lâminas para mensuração

Após o período de incubação, cada amostra foi removida de sua respectiva BOD. Em seguida, realizou-se uma inspeção visual nos potes para localizar os pequenos indivíduos que completaram o ciclo de desenvolvimento. Utilizando pinças e pipetas pasteur, os gastrópodes foram cuidadosamente separados e transferidos para tubos do tipo eppendorf contendo álcool 70% para fixação.

Com todas as amostras fixadas, deu-se início ao processo de montagem das lâminas para a realização das medidas. Cada gastrópode foi delicadamente colado com cola branca em uma lâmina usual de microscopia. A montagem das lâminas foi realizada sob estereomicroscópio, visando ao melhor posicionamento possível dos indivíduos tendo em vista a medição das conchas. A posição correta de montagem foi aquela em que o gastrópode permanecesse fixo na lâmina com a direção da espiral da concha voltada para cima, enquanto a face oposta da concha ficava em contato com a lâmina, aderindo à cola. A abertura da concha foi posicionada de forma a não ser visível, visando a garantir a maior perpendicularidade possível da concha em relação à lâmina.

Ao todo, foram montadas 39 lâminas de gastrópodes, correspondendo a cada uma das 39 amostras iniciais (13 massas de ovos x 3 tratamentos de temperatura). Foram selecionados, por conveniência, 20 gastrópodes de cada massa de ovos e de cada tratamento, todos montados em uma mesma lâmina. Ocorreu, entretanto, que o número desejado não tenha sido atingido para os ovos de algumas fêmeas em certas temperaturas.

Após a montagem, as lâminas foram deixadas em repouso para permitir que a cola branca secasse. Ao final do processo, as lâminas foram diagramadas com uma caneta nanquim, seguindo um padrão de orientação da lâmina e numerando cada indivíduo colado.



Figura 4 e 5: Lâminas de microscopia montadas com os caracóis.

2.5 Dados morfométricos

As medidas de tamanho de corpo dos indivíduos foram tomadas das conchas, considerando o histórico e pertinência de tais medidas como preditores do tamanho de moluscos (Eklöf et al. 2017; Eklöf et al. 2017; Kosnik et al., 2006; e.g. Ueta, 1980). Decidimos, então, pela medida do comprimento e da largura da concha (Ueta, 1980) para estimar o tamanho de cada indivíduo estudado.

Todas as medidas foram obtidas em um estereomicroscópio Zeiss Discovery.V12, com lentes Zeiss PlanApo S 1.0x FWD 60 mm, acoplado a uma câmera Zeiss AxioCam 105, no ambiente do software AxioVision SE64. O estereomicroscópio foi configurado com os valores de magnitude em 11.0 x e tamanho de campo em 21.0mm, para todas as medidas. A câmera acoplada foi configurada para um perfil de baixa exposição a fim de acelerar o processamento das fotos. O ajuste de luz foi feito com base na visualização da imagem, buscando sempre ter o contorno do gastrópode o mais nítido possível.

As medidas foram tomadas por meio da ferramenta "*Align Rectangle*", configurada para mostrar o tamanho, em milímetros, da altura e da largura de um retângulo definido pelos maiores limites da concha. Erros de mensuração são ubíquos no contexto dos estudos morfométricos (Arnqvist & Martensson, 1998), mas a magnitude de tais erros pode ser suavizada pelo cálculo da média de medidas repetidas (e.g. Fruciano, 2016). Desta forma, cada concha foi medida três vezes - de forma não sequencial - e a média de tais medidas sendo considerada como o valor de cada atributo em cada indivíduo.

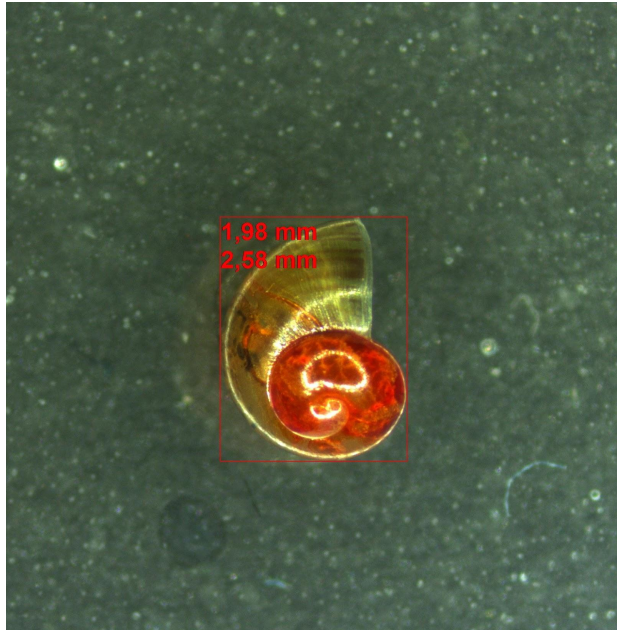


Figura 6: Medição da concha de um dos gastrópodes com a ferramenta especificada.

2.5 Análises estatísticas

Por se tratar de dados morfométricos, as medidas originais foram transformadas em seu logaritmo (e.g. Kerkhoff & Enqvist, 2009). Os dados foram então inspecionados para a detecção de *outliers*, devidamente retirados quando detectados, e tiveram a normalidade avaliada através de análise visual dos gráficos Q-Q, onde desvios severos dos valores preditos poderiam ser identificados. Adicionalmente, utilizamos o coeficiente de correlação entre valores observados e preditos nos gráficos Q-Q como parâmetro para normalidade, sendo que tais valores deveriam ser superiores a 0,95.

Os grupos foram então comparados através de Análise de Variância (ANOVA) de dois parâmetros (temperaturas e fêmeas), com nível de significância definido em 5%. O teste em questão foi escolhido, por permitir analisar separadamente os efeitos de cada fator no tamanho de corpo dos indivíduos, além de permitir que possíveis interações entre os fatores fossem detectadas.

Todas as análises foram realizadas no software Past 4.13 (Hammer 1999-2023), programa de distribuição livre (disponível em <<https://www.nhm.uio.no/english/research/resources/past/>>).

3 RESULTADOS

Após todos os procedimentos de triagem e incubação, os 712 indivíduos de *Pomacea canaliculata* obtidos, 228 incubados a 22,5°C, 239 a 25,0°C e 245 a 27,5°C, foram medidos.

Uma visão geral do conjunto de dados é apresentada nas Tabelas 1 e 2 e abaixo, respectivamente com os dados obtidos para o comprimento e a largura. Como não houve eclosão de nenhum indivíduo da massa de ovos da fêmea 9, incubada a 22,5°C, os dados de tal massa de ovos não foram considerados como um todo, tendo em vista a natureza da análise de variância utilizada. As tabelas trazem as medidas utilizadas nas análises de variância, ou seja, após detecção e retirada de *outliers*.

Os mesmos dados podem ser também visualizados nas tabelas 1 e 2, onde as medidas de tendência central (média), dispersão (desvio-padrão) e amplitudes são apresentados, além dos dados brutos obtidos para cada um dos níveis de tratamento de temperatura, respectivamente para comprimento e largura das conchas.

Tabela 1. Estatística descritiva (média \pm desvio-padrão) dos logaritmos dos valores de comprimento de concha obtidos para os indivíduos de cada massa de ovos/fêmea incubados nas três temperaturas avaliadas.

Fêmea/ Temperatura	22,5°C	25°C	27,5°C
1	0,246 \pm 0,011 (N=9)	0,267 \pm 0,028 (N=14)	0,243 \pm 0,007 (N=13)
2	0,235 \pm 0,006 (N=7)	0,265 \pm 0,022 (N=13)	0,256 \pm 0,011 (N=13)
3	0,372 \pm 0,019 (N=20)	0,357 \pm 0,007 (N=20)	0,389 \pm 0,014 (N=20)
4	0,375 \pm 0,012 (N=20)	0,353 \pm 0,008 (N=20)	0,374 \pm 0,013 (N=20)
5	0,350 \pm 0,018 (N=20)	0,343 \pm 0,008 (N=20)	0,351 \pm 0,025 (N=20)
6	0,436 \pm 0,016 (N=20)	0,415 \pm 0,018 (N=20)	0,444 \pm 0,021 (N=19)
7	0,345 \pm 0,009 (N=20)	0,340 \pm 0,009 (N=20)	0,352 \pm 0,014 (N=20)

8	0,337±0,054 (N=19)	0,332±0,036 (N=17)	0,333±0,041 (N=18)
10	0,329±0,017 (N=20)	0,354±0,010 (N=20)	0,357±0,007 (N=20)
11	0,383±0,010 (N=17)	0,397±0,012 (N=20)	0,405±0,033 (N=17)
12	0,371±0,011 (N=20)	0,385±0,015 (N=14)	0,405±0,015 (N=20)
13	0,341±0,019 (N=11)	0,353±0,012 (N=6)	0,375±0,022 (N=8)

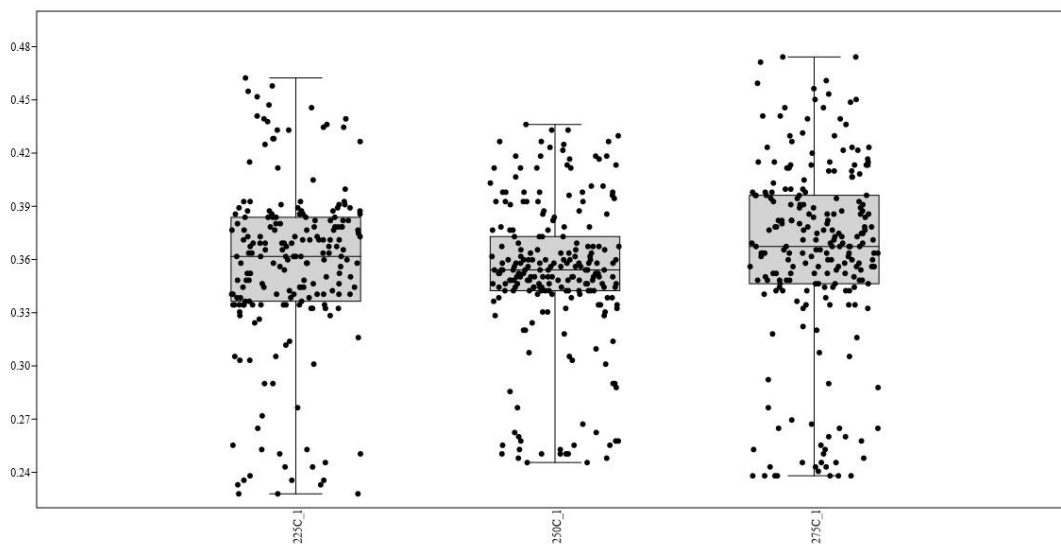


Figura 7. *Box-plot* com *jitter plot* dos logaritmos dos dados de comprimento obtidos das conchas de indivíduos de *P. canaliculata* incubados nos três regimes de temperatura estudados.

Tabela 2. Estatística descritiva (média \pm desvio-padrão) dos logaritmos dos valores de largura de concha obtidos para os indivíduos de cada massa de ovos/fêmea incubados nas três temperaturas avaliadas.

Fêmea/ Temperatura	22,5°C	25°C	27,5°C
1	0,109±0,018 (N=16)	0,126±0,044 (N=15)	0,105±0,049 (N=12)
2	0,085±0,006 (N=4)	0,117±0,025 (N=15)	0,107±0,021 (N=14)
3	0,232±0,021 (N=20)	0,205±0,014 (N=20)	0,251±0,016 (N=20)

4	0,236+0,019 (N=20)	0,201+0,014 (N=20)	0,239+0,022 (N=20)
5	0,212+0,017 (N=20)	0,202+0,006 (N=20)	0,208+0,030 (N=20)
6	0,303+0,011 (N=20)	0,279+0,026 (N=20)	0,314+0,022 (N=20)
7	0,210+0,014 (N=20)	0,193+0,020 (N=20)	0,215+0,017 (N=20)
8	0,200+0,056 (N=19)	0,188+0,041 (N=16)	0,191+0,045 (N=18)
10	0,183+0,025 (N=20)	0,208+0,018 (N=20)	0,223+0,015 (N=20)
11	0,231+0,015 (N=17)	0,252+0,013 (N=20)	0,267+0,042 (N=17)
12	0,229+0,012 (N=20)	0,236+0,019 (N=14)	0,266+0,019 (N=20)
13	0,197+0,027 (N=11)	0,207+0,012 (N=6)	0,232+0,027 (N=8)

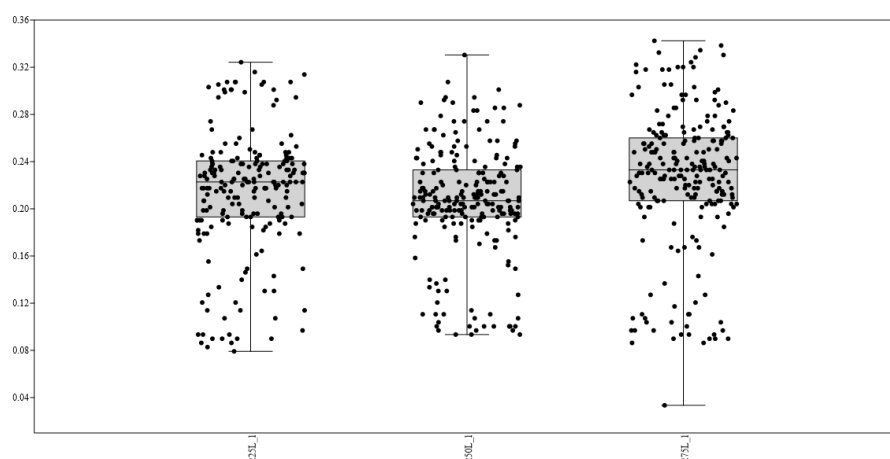


Figura 8. *Box-plot* com *jitter plot* dos logaritmos dos dados de largura obtidos das conchas de indivíduos de *P. canaliculata* incubados nos três regimes de temperatura estudados.

Com relação à estatística inferencial, os resultados das análises de variância (ANOVA de dois fatores) foram muito parecidos no que diz respeito à comparação entre o comprimento e entre a largura das conchas. Resumidamente, há um efeito significativo tanto da temperatura, i.e. as três condições de incubação, quanto da fêmea, i.e. em qual massa de ovos a medida foi tomada. A análise revela ainda haver uma interação significativa entre as variáveis, ou seja, o efeito da temperatura sobre o tamanho do caramujo passa diretamente pela sua origem (a massa de ovos da qual provém) (Tabela 1 para as análises de comprimento e 2 para

as análises de largura). As tabelas mostram ainda que o efeito relacionado à fêmea é mais forte do que aquele relacionado à temperatura, reforçando um possível papel importante da própria variabilidade intraespecífica no tamanho de corpo.

De forma geral, observou-se que, quando incubada a uma temperatura de 27,5°C (tanto para comprimento quanto para largura), a prole apresentou um tamanho maior em relação às outras temperaturas, enquanto a prole incubada a 25°C foi ligeiramente maior que a prole a 22,5°C (Figura 9 e 10 para a comparação, respectivamente, do comprimento e largura de ovos das doze massas de ovos estudadas). Os mesmos gráficos reforçam, entretanto, a variação bastante pronunciada tanto do comprimento quanto da largura em termos da origem da massa de ovos (fator fêmea, eixo x das figuras).

Tabela 3. Resultados da análise de variância (ANOVA dois parâmetros) para o comprimento das conchas de indivíduos de *P. canaliculata* incubados em diferentes temperaturas (SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: quadrado médio).

	SQ	GL	MQ	F	p
Temperatura	0,014	2	0,0073	17,52	4,08E-08
Fêmea	1,248	11	0,1135	272,1	1,84E-220
Interação	0,051	22	0,0023	5,564	3,32E-14
Resíduo	0,241	579	0,0004		
Total	1,557	614			

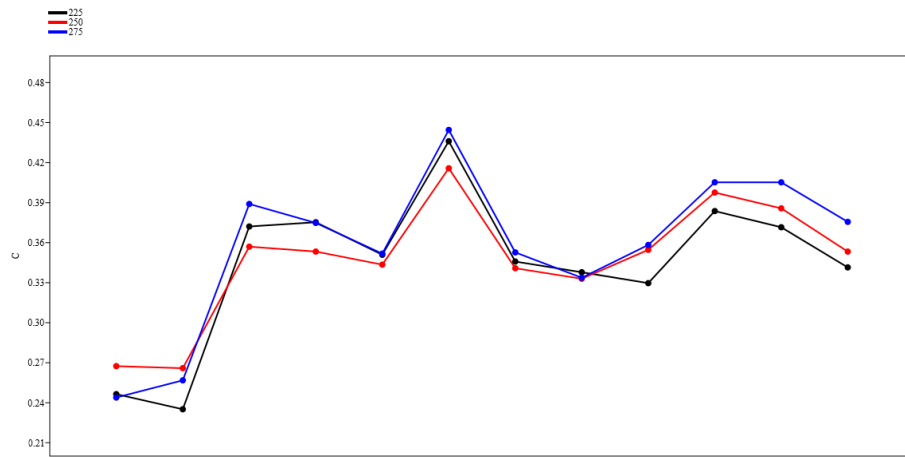


Figura 9. Comparação entre a média do logaritmo do comprimento da concha de indivíduos de *P. canaliculata* incubados em diferentes temperaturas considerando cada uma das massas de ovos estudadas (eixo x). As linhas preta, vermelha e azul representam, respectivamente, os valores de indivíduos incubados a 22,5°C, 25°C e 27,5°C.

Tabela 4: Resultados da análise de variância (ANOVA dois parâmetros) para a largura das conchas de indivíduos de *P. canaliculata* incubados em diferentes temperaturas (SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: quadrado médio).

	SQ	GL	MQ	F	p
Temperatura	0,044	2	0,0223	33,56	1,58E-14
Fêmea	1,4	11	0,1273	192,1	3,52E-186
Interação	0,078	22	0,0035	5,385	1,24E-13
Resíduo	1,903	586	0,0006		
Total	1,938	621			

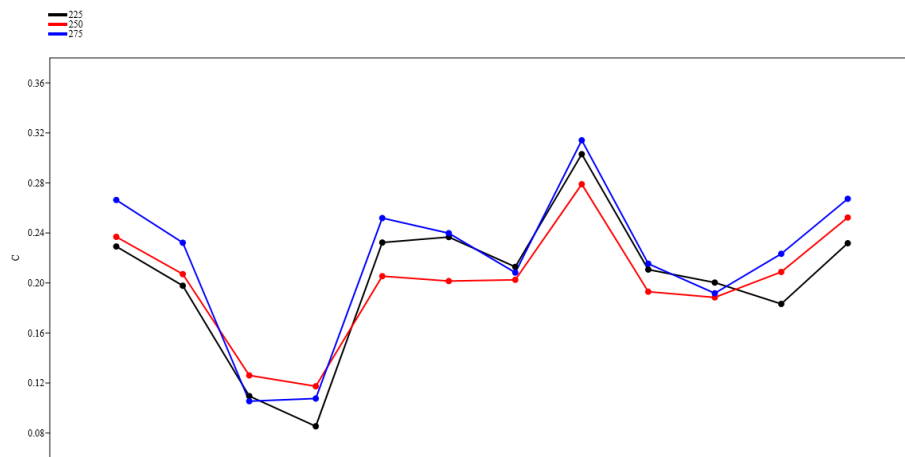


Figura 10. Comparação entre a média do logaritmo da largura da concha de indivíduos de *P. canaliculata* incubados em diferentes temperaturas considerando cada uma das massas de ovos estudadas (eixo x). As linhas preta, vermelha e azul representam, respectivamente, os valores de indivíduos incubados a 22,5°C, 25°C e 27,5°C.

4 DISCUSSÃO

Os resultados mostram que a temperatura possui influência no tamanho final da concha dos caramujos, ainda que essa influência seja pequena, e menor do que o efeito das fêmeas, i.e. da origem direta dos ovos. No tratamento de maior temperatura houve, em média, caramujos maiores do que nos tratamentos de temperatura mais baixas, e, ao mesmo passo, no tratamento intermediário houve, em média, caramujos maiores do que no tratamento com a temperatura mais baixa. Em todos os tratamentos também foi possível observar uma boa amplitude nas médias de tamanho de concha entre indivíduos do mesmo grupo, apareceram caramujos grandes (ao extremo das medições tomadas) e caramujos pequenos (também ao extremo das medições mínimas tomadas), relacionada ao efeito da fêmea. Por fim, chama também a atenção que o número de eclosões seja menor do que a quantidade de ovos preparados para incubação, em quase todos os casos, sendo que nem sempre foi possível obter os 20 indivíduos para medição.

Com base nos levantamentos de dados climáticos e na revisão da literatura sobre *P. canaliculata*, foi possível inferir que essa espécie invasora pode

causar danos adicionais à biodiversidade, dependendo das circunstâncias a que está exposta, ou até se inserir em novos contextos de invasão (de Brito et al. 2016; Lei et al. 2017). Ainda que o padrão geral seja de diminuição do tamanho do corpo dos animais em cenários de aquecimento global (Ohlberg, 2013), observamos aqui que um possível efeito positivo do aumento da temperatura no tamanho de corpo, sugerindo que, em se confirmando as projeções do IPCC (IPCC 2022), e se não forem implementadas medidas de controle, *P. canaliculata* poderá não apenas ter maior sucesso nos ambientes em que já está presente, se tornando um problema ainda mais difícil de ser contornado, mas também encontrar condições propícias para colonizar novos, nos quais a temperatura anteriormente poderia ser um fator limitante, como é para outros organismos (Willis & Hulme, 2002; Andrew et al., 1985).

Esse aumento de sucesso pode ser atribuído ao fato de que animais com um maior tamanho corporal ao final do desenvolvimento embrionário podem deixar de ser presas na cadeia alimentar, devido à sua maior resistência à predação, proporcionada por conchas maiores ou mais rígidas (Palmer & Richard, 1979; Delgado et al., 2022), por exemplo. Esse fator também pode influenciar o sucesso na colonização de novos locais anteriormente não invadidos, pelo mesmo motivo ou até por outros, como a possibilidade do aumento da herbivoria nas fases iniciais do desenvolvimento da prole (Carlsson et al., 2005). Há ainda um efeito do tamanho de corpo na fecundidade/ sucesso reprodutivo dos indivíduos da espécie (Estoy Jr. et al. 2002), principalmente no caso das fêmeas, para quem a fecundidade é proporcional ao tamanho de corpo (Miyahara et al., 1986). O tamanho de corpo tem ainda um efeito direto na própria longevidade dos organismos (Yusa et al. 2006), o que pode aumentar o potencial invasor de indivíduos maiores.

Soma-se aqui um possível efeito da temperatura, enquanto condição, no próprio estabelecimento de *P. canaliculata* em novas áreas, possibilitando a ocorrência de novos eventos de invasão. Vale ressaltar que a dominância das populações de *P. canaliculata* em locais invadidos na China, por exemplo, passa tanto pelo escape da predação quanto por climas mais quentes (Zhang et al., 2023). De forma geral, é possível observar que as mudanças nas condições ambientais por ocasião das mudanças climáticas globais parecem determinantes para o estabelecimento de populações de *P. canaliculata* em novos locais, como observado por Darrigran et al. (2011) na Patagônia argentina.

Outro aspecto de extrema importância, como evidenciado pelos resultados obtidos, é a plasticidade observada na prole dentro do mesmo grupo analisado. Todos os grupos do estudo apresentaram indivíduos que se desviaram das médias obtidas, tanto em relação a indivíduos com conchas de tamanho maior quanto menor. Isso indica a existência de uma significativa variação fenotípica, a qual pode desempenhar um papel crucial na adaptação da espécie às diferentes condições ambientais. Além disso, essa plasticidade pode ter implicações importantes na seleção dos indivíduos, contribuindo para o sucesso ecológico da espécie em relação ao ambiente (Luo et al., 2022; Tamburi et al., 2018). Mais além de passar por uma possível plasticidade fenotípica intrínseca à espécie, conforme discutido acima, os efeitos observados podem passar também por vieses não considerados no presente estudo. Um dos principais é a própria variação no tamanho de corpo entre machos e fêmeas da espécie (Tamburi et al., 2023), fator não considerado aqui já que os indivíduos medidos não foram sexados. Um eventual desvio na razão sexual relacionada à temperatura e origem dos ovos, então, não poderia ser excluída como fator central na variação observada. Uma outra questão não avaliada, mas de suma importância para o entendimento da biologia e potencial invasivo de *P. canaliculata*, passa pela avaliação do tamanho em indivíduos mais velhos - avaliamos aqui apenas os recentemente eclodidos -, bem como de como as relações alométricas mudam ao longo da ontogenia dos indivíduos.

P. canaliculata é conhecida por causar danos consideráveis aos sistemas de agricultura asiática, devido à sua alta taxa de consumo de matéria vegetal nos corpos aquáticos onde está presente. Essa espécie é capaz de alterar drasticamente a composição da biodiversidade e os componentes físico-químicos do ambiente em que habita. Com seu tamanho corporal médio grande na vida adulta (Qiu et al. 2011) em comparação com outros gastrópodes aquáticos, o caracol tem a capacidade de se alimentar de uma ampla variedade de macrófitas, em termos de tamanho, forma e tipo (Carlsson et al., 2005). Além de causar danos diretos às bases alimentares humanas, *P. canaliculata* pode levar à erradicação das macrófitas em determinadas áreas, quando seus níveis populacionais estão descontrolados, abrindo espaço para a proliferação de algas e dificultando o estabelecimento natural de novas macrófitas (Carlsson et al., 2004). Aumentos significativos na temperatura podem amplificar esse impacto, proporcionando maior probabilidade de conclusão do ciclo de vida dos caracóis. É necessário, entretanto, considerar a importância do componente

alométrico envolvido na relação entre tamanho de corpo e a rádula - estrutura mais diretamente relacionada ao consumo das macrófitas - em moluscos (e.g. Krings et al., 2021).

Ressalta-se ainda que *P. canaliculata* é um animal caracterizado como r estrategista, o que quer dizer que possui uma capacidade alta de gerar proles grandes a cada evento de reprodução (Brzeszcz et al. 2016). Tal estratégia aliada à alta plasticidade morfológica que *P. canaliculata* possui, contribui diretamente com o potencial invasor da espécie. A quantidade de ovos eclodidos também foi uma das características que variou por temperatura e por fêmea, devido a diversos fatores que podem influenciar o desenvolvimento embrionário no ovo, como a quantidade de perivitelo investida nele, as condições às quais ele está submetido, como temperatura, umidade e segurança contra predação (Cowie, 2002; Rezende et al., 2002; Tamburi et al., 2011; Terra et al., 1999;).

Os resultados mostram que mesmo ao comparar os indivíduos dentro dos grupos, há uma ampla variação no tamanho da concha. Mais além de passar por uma possível plasticidade fenotípica intrínseca à espécie, conforme discutido acima, é um efeito que pode passar também por vieses não considerados no presente estudo. Um dos principais é a própria variação no tamanho de corpo entre machos e fêmeas da espécie (Tamburi et al., 2023), fator não considerado aqui já que os indivíduos medidos não foram sexados. Um eventual desvio na razão sexual relacionada à temperatura e origem dos ovos, então, não poderia ser excluída como fator central na variação observada.

Pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de estratégias de controle de *P. canaliculata* requerem conhecimento ecológico relevante - por exemplo relação entre temperatura e tamanho de corpo - obtido também em condições de campo (Halwart, 1994). E aqui aumenta a importância de estudos locais, conforme o realizado aqui, com matrizes vindas de uma região específica da distribuição original da espécie. Há evidência que o tamanho e possibilidade de aclimação dos indivíduos, incluindo relações mais diretas com a temperatura, passa diretamente pela origem geográfica dos indivíduos (Qiu et al.. 2020) o que poderia, inclusive, explicar a razão pela qual a espécie torna-se ou não invasora em alguns locais.

Por fim, o presente estudo teve como propósito contribuir para a compreensão de mecanismos subjacentes à estruturação do tamanho dos indivíduos após a eclosão dos ovos tratando, especificamente, dos efeitos da

temperatura. E, mais além da influência de tal variável, observamos também uma plasticidade fenotípica bastante pronunciada, como esperado conforme literatura corrente. Buscamos, com isso, contribuir tanto com o avanço do conhecimento da biologia da espécie *per se*, mas também enquanto conhecimento necessário para embasamento de implementação de estratégias de manejo eficazes para mitigar os impactos negativos dessa espécie invasora em ecossistemas nativos.

REFERÊNCIAS:

Alonso, A., and P. Castro-Diez. "What explains the invading success of the aquatic mud snail *Potamopyrgus antipodarum* (Hydrobiidae, Mollusca)?" **Hydrobiologia** 614 (2008): 107-116.

Angilletta, M.J. 2013. Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis. **Oxford University Press**, Oxford.

Angilletta, Michael James. "Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis." (2009).

ARNQVIST, Göran; MARTENSSON, T. Measurement error in geometric morphometrics: Beaugrand, Grégory. Marine biodiversity, climatic variability and global change. **Routledge**, 2014.

BRUSCA, R.C.; W. MOORE & S.M. SHUSTER, 2018. **Invertebrados**. 3a edição. Editora Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro. 1010pp. FRANSOZO, A

Brzeszcz, Joanna, et al. "r-strategist versus K-strategist for the application in bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils." **International Biodeterioration & Biodegradation** 106 (2016): 41-52.

Carlsson, Nils OL, and Christer Brönmark. "Size-dependent effects of an invasive herbivorous snail (*Pomacea canaliculata*) on macrophytes and periphyton in Asian wetlands." **Freshwater Biology** 51.4 (2006): 695-704.

Carlsson, Nils OL, and Jean O. Lacoursiere. "Herbivory on aquatic vascular plants by the introduced golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) in Lao PDR." **Biological Invasions** 7 (2005): 233-241.

Carlsson, Nils OL, Christer Brönmark, and Lars-Anders Hansson. "Invading herbivory: the golden apple snail alters ecosystem functioning in Asian wetlands." **Ecology** 85.6 (2004): 1575-1580.

Cotterill, Fenton PD, and Wilhelm Foissner. "A pervasive denigration of natural history misconstrues how biodiversity inventories and taxonomy underpin scientific knowledge." **Biodiversity and Conservation** 19 (2010): 291-303.

Cowie, R.; Thiengo, S. C. «The apple snails of the Americas (Mollusca: Gastropoda: Ampullariidae: Asolene, Felipponea, Marisa, Pomacea, Pomella): a nomenclatural and type catalog.». **Malacologia**. 45 (1). pp. 41–100

Darrigran, Gustavo, C. Damborenea, and Alejandro Tambussi. "*Pomacea canaliculata* (Mollusca, Gastropoda) in Patagonia: potential role of climatic change in its dispersion and settlement." *Brazilian Journal of Biology* 71 (2011): 8-13.

Daufresne M, Lengfellner K, Sommer U. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. **Proc Natl Acad Sci USA**. 2009; 106: 12788–12793.

de Brito, Fabiano Carvalho, and Ravindra C. Joshi. "The golden apple snail *Pomacea canaliculata*: a review on invasion, dispersion and control." **Outlooks on Pest Management** 27.4 (2016): 157-163.

de Silva, Wasana, et al. "Potential spreading risk of an invasive snail species (*Pomacea canaliculata*) in freshwater habitats of Asia." *Current Science* 117.6 (2019): 1071-1078. Delgado, Gabriel A., Robert A. Glazer, and Nicola J. Stewart. "Predator-induced behavioral and morphological plasticity in the tropical marine gastropod *Strombus gigas*." **The Biological Bulletin** 203.1 (2002): 112-120.

DUGGAN, I.C., 2010. The freshwater aquarium trade as a vector for incidental invertebrate fauna. **Biological Invasions**, vol. 12, no. 11, pp. 3757-3770.

Estebenet, Alejandra L., and Pablo R. Martín. "Minireview: *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae): life-history traits and their plasticity." **Biocell** 26 (2002): 83.

Estoy Jr, Gerardo F., et al. "Size and age at first copulation and spawning of the apple snail, *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae)." *Applied Entomology and Zoology* 37.1 (2002): 199-205.

Firas Baroudi, Josephine Al Alam, Ziad Fajloun, Maurice Millet. Snail as sentinel organism for monitoring the environmental pollution; a review. **Ecological Indicators**, 2020, 113, pp.106240 -. ff10.1016/j.ecolind.2020.106240ff. ffhal-03489654f

FRUCIANO, Carmelo. Measurement error in geometric morphometrics. **Development Genes and Evolution**, v. 226, n. 3, p. 139-158, 2016.

Halwart, Matthias. "The golden apple snail *Pomacea canaliculata* in Asian rice farming systems: present impact and future threat." **International journal of pest management** 40.2 (1994): 199-206.

Halwart, Matthias. "The golden apple snail *Pomacea canaliculata* in Asian rice farming systems: present impact and future threat." **International journal of pest management** 40.2 (1994): 199-206.

Jiang, Xiaoming, et al. "Global economic costs and knowledge gaps of invasive gastropods." **Ecological Indicators** 145 (2022): 109614.

Krings, W., Neumann, C., Neiber, M.T. et al. Radular force performance of stylommatophoran gastropods (Mollusca) with distinct body masses. *Sci Rep* **11**, 10560 (2021).

Laurent Seuront and others, A review of the thermal biology and ecology of molluscs, and of the use of infrared thermography in molluscan research, **Journal of Molluscan Studies**, Volume 84, Issue 3, August 2018, Pages 203–232.

Lei, Juncheng, Lian Chen, and Hong Li. "Using ensemble forecasting to examine how climate change promotes worldwide invasion of the golden apple snail (*Pomacea canaliculata*)." **Environmental Monitoring and Assessment** 189 (2017): 1-11.

Lika, Konstadia, Starrlight Augustine, and Sebastiaan ALM Kooijman. "Body size as emergent property of metabolism." **Journal of Sea Research** 143 (2019): 8-17.

LOWE, Sarah et al. **100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database**. Auckland: Invasive Species Specialist Group, 2000.

Luo, Mingzhu, et al. "Phenotypic plasticity of the invasive apple snail, *Pomacea canaliculata*, in China: a morphological differentiation analysis." **Molluscan Research** 42.2 (2022): 146-157.

Mara A Maldonado , Pablo R Martín, Dealing with a hyper-successful neighbor: effects of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* on exotic and native snails in South America, **Current Zoology**, Volume 65, Issue 3, June 2019, Pages 225–235

Martín, P. R., A. L. Estebenet, and N. J. Cazzaniga. "Factors affecting the distribution of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) along its southernmost natural limit." **Malacologia** 43.1/2 (2001): 13-23.

Matsukura, Keiichiro, et al. "Physiological response to low temperature in the freshwater apple snail, *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae)." **Journal of Experimental Biology** 212.16 (2009): 2558-2563.

Miyahira, I. C., et al. "The introduction of *Physa acuta* (Gastropoda: Physidae) on Ilha Grande, Southeast Brazil, from initial stages to an established population." **Brazilian Journal of Biology** 83 (2021).

Muluneh, M.G. Impact of climate change on biodiversity and food security: a global perspective—a review article. **Agric & Food Secur** 10, 36 (2021).

Ohlberger, Jan. "Climate Warming and Ectotherm Body Size — from Individual Physiology to Community Ecology." **Functional Ecology**, vol. 27, no. 4, 2013, pp. 991–1001. JSTOR, <http://www.jstor.org/stable/23481006>. Accessed 14 June 2023.

Palmer, A. Richard. "Fish predation and the evolution of gastropod shell sculpture: experimental and geographic evidence." **Evolution** (1979): 697-713.

Parnesan, C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, 37: 637–669.

Peters, P. "Ecological Implication of Body Size. Cambridge, Mass.: **Harvard Univ. Press**. 331 p." (1983).b

Peters, R.H. (1983). The ecological implications of body size. **Cambridge University**

Pettorelli, N., Graham, N. A. J., Seddon, N., Maria da Cunha Bustamante, M., Lowton, M. J., Sutherland, W. J., Koldewey, H. J., Prentice, H. C., & Barlow, J. (2021). Time to integrate global climate change and biodiversity science-policy agendas. **Journal of Applied Ecology**, 58, 2384– 2393.

Ponce, Jake J., Ivan Arismendi, and Austen Thomas. "Using in-situ environmental DNA sampling to detect the invasive New Zealand Mud Snail (*Potamopyrgus antipodarum*) in freshwaters." *PeerJ* 9 (2021): e11835. **Press, Cambridge, UK**.

Qin, Zhong, et al. "Survivorship of geographic *Pomacea canaliculata* populations in responses to cold acclimation." **Ecology and Evolution** 10.8 (2020): 3715-3726.

Qiu, Jian-Wen, et al. "Consumption, survival and growth in the invasive freshwater snail *Pomacea canaliculata*: does food freshness matter?." **Journal of Molluscan Studies** 77.2 (2011): 189-195.

Rezende, Lucas Rodrigo, and Emerson Contreira Mossolin. "Resultados preliminares sobre a fecundidade e a morfologia dos ovos de *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1828)(Mollusca: Gastropoda: Ampullariidae) da “Represa do Clube do Povo”, Catalão/GO."

Salleh, Noor Hasyierah Mohd, et al. "Distribution and management of *Pomacea Canaliculata* in the Northern Region of Malaysia: Mini review." *Apcbee Procedia* 2 (2012): 129-134.

Schmidt-Nielsen, Knut. *Scaling: why is animal size so important?*. **Cambridge university press**, 1984.

Sheridan JA., Bickford D. Shrinking body size as an ecological response to climate change. **Nature Clim Change**. 2011; 1: 401–406.

Shingleton, A. "Allometry: the study of biological scaling." **Nature Education Knowledge** 3.10 (2010): 2.

SHIVANNA, K. R. Climate change and its impact on biodiversity and human welfare. **Proceedings of the Indian National Science Academy**, v. 88, n. 2, p. 160-171, 2022.

Sih, Andrew, et al. "Predation, competition, and prey communities: a review of field experiments." **Annual review of ecology and systematics** 16.1 (1985): 269-311.

Tamburi, Nicolás E., and Pablo R. Martín. "Effects of food availability on reproductive output, offspring quality and reproductive efficiency in the apple snail *Pomacea canaliculata*." **Biological Invasions** 13 (2011): 2351-2360.

Tamburi, Nicolás E., María E. Seuffert, and Pablo R. Martín. "Temperature-induced plasticity in morphology and relative shell weight in the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*." **Journal of Thermal Biology** 74 (2018): 331-336.

TAMBURI, Nicolás E. et al. Sexual dimorphism in shell shape: is *Pomacea canaliculata* an exception or an example among Neotropical apple snails?. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 95, p. e20201519, 2023.

Terra, Nara R., and Alois Schäfer. "Weight gain and reproduction of *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822)(Gastropoda: Ampullariidae)." **Brazilian J Ecol** 3 (1999): 12.

Thiengo, Silvana C., Carlos E. Borda, and J. L. Araújo. "On *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822)(Mollusca; Pilidae: Ampullariidae)." **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 88 (1993): 67-71.

Ueta, Marlene T. "Estudo morfométrico da concha de *Lymnaea columella* SAY, 1817 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata)."

Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.M., Hoegh-Guldberg, O. & Bairlein, F. 2002. Ecological responses to recent climate change. **Nature**, 416: 389–395.

Willis, S. G., and P. E. Hulme. "Does temperature limit the invasion of *Impatiens glandulifera* and *Heracleum mantegazzianum* in the UK?." **Functional Ecology** 16.4 (2002): 530-539.

Woodward, G., Ebenman, B., Emmerson, M., Montoya, J.M., Olesen, J.M., Valido, A., Warren, P.H. (2005). Body size in ecological networks. **TREE**, 20, 402–409.

Yusa, Yoichi, Naoyuki Sugiura, and Takashi Wada. "Predatory potential of freshwater animals on an invasive agricultural pest, the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae), in southern Japan." **Biological Invasions** 8 (2006): 137-147.

Zhang, Chunxia, et al. "Invasiveness of *Pomacea canaliculata*: The Differences in Life History Traits of Snail Populations from Invaded and Native Areas." **Agronomy** 13.5 (2023): 1259.

Zhang, Chunxia, et al. "Invasiveness of *Pomacea canaliculata*: The Differences in Life History Traits of Snail Populations from Invaded and Native Areas." **Agronomy** 13.5 (2023): 1259.

Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, v. 44, n. 1-2, p. 73-96, 1998.