

Ana Rita Marques Mendes

O complexo *Myosotella*

‘*myosotis/denticulata*’:

uma perspectiva morfológica, molecular e
ecológica



Universidade dos Açores

Ponta Delgada, 2013

Ana Rita Marques Mendes

O complexo *Myosotella*

***'myosotis/denticulata'*:**

**uma perspectiva morfológica, molecular e
ecológica**

Dissertação apresentada ao Departamento de Biologia,
no âmbito do Mestrado em Biodiversidade e Ecologia Insular
para obtenção do título de Mestre em
Biodiversidade e Ecologia

Orientador: Professor Doutor António M. de Frias Martins

Universidade dos Açores

Ponta Delgada, 2013

Resumo

Myosotella myosotis (Draparnaud, 1801), espécie tipo do género *Myosotella* Monterosato, 1906, é morfologicamente muito variável, tendo sido descritas mais de 40 espécies actualmente incluídas na sua sinonímia. Embora presentemente tido como género monotípico, duas formas há muito têm sido reconhecidas: uma mais comum, robusta e com abertura da concha moderadamente denticulada associada a *M. myosotis* e outra mais delicada, de abertura fortemente denticulada associada a *Myosotella denticulata* (Montagu, 1803). As duas formas são comuns em sapais e entre calhaus rolados acima do supratidal, ainda que a forma denticulada ocorra preferencialmente em habitats perto da maré-alta frequentemente em costas expostas (Martins, 1999). Nos Açores duas espécies similares às formas acima referidas foram descritas por Morelet (1860) da ilha do Pico, mas Martins (1996) considerou-as sinónimos de *Myosotella myosotis*.

Este trabalho, seguindo uma abordagem holística, pretende determinar se haverá fundamento taxonómico para as duas formas *myosotis/denticulata* e, no seguimento, avaliar o estatuto das espécies descritas por Morelet (1860) para o Arquipélago dos Açores. Para tal dividiu-se o trabalho em três secções, abordando-se respectivamente as características morfométricas, ecológicas e moleculares.

O material utilizado proveio de 28 locais, divididos em 7 regiões: Mediterrâneo (Creta), Atlântico Nordeste (Portugal Continental), Macaronésia (Açores, Madeira), Atlântico Sul (África do Sul), Atlântico Noroeste (Bermudas) e Pacífico Norte (Los Angeles). No total foram estudados 247 indivíduos, 186 nas análises morfométricas, 61 no estudo da ecologia e 48 nas análises moleculares.

Não se tendo obtido espécimes do local tipo para as duas formas, pelas características conquiológicas adoptou-se para a forma *denticulata* (originária do sul da Inglaterra) os exemplares de Creta, enquanto para a forma *myosotis* (originária da costa sul de França) foram escolhidos os exemplares de Portugal Continental pela similaridade da concha e pela proximidade com o Mediterrâneo.

As análises morfométricas, ecológicas e moleculares mostraram separação significativa entre os indivíduos de Creta e das restantes regiões consideradas, em particular com Portugal Continental, justificando consideração sobre o seu estatuto específico respectivo. Ainda que para os Açores se tenha verificado uma separação não tão evidente, indícios sugerem que, para além da forma *myosotis*, uma outra entidade taxonómica pode existir, em particular no grupo central. Conclui-se, assim, que se justifica um estudo mais pormenorizado e aprofundado do género *Myosotella* nos Açores, incidindo mormente na anatomia e análise molecular. Os resultados daí advenientes permitirão interpretações biogeográficas mais sólidas, possivelmente obrigando a uma reconsideração da teoria comumente aceite da dispersão antropogénica de *Myosotella myosotis* por todo o mundo.

Abstract

Myosotella myosotis, (Draparnaud, 1801), type species of the genus *Myosotella* Monterosato, 1906, is morphologically very variable and more than 40 species have been described and currently included in its synonymy. Although presently considered a monotypic genus, two forms have long been recognized: one more common and robust, with shell aperture moderately denticulate associated with *M. myosotis* and another more delicate, with aperture strongly denticulate associated with *Myosotella denticulata* (Montagu, 1803). Both forms are common in marshes and among pebbles above the supratidal level, although the denticulate form occurs preferentially in habitats near the high tide often in exposed coasts (Martins, 1999). In the Azores two species similar to both abovementioned forms were described by Morelet (1860) from Pico Island but Martins (1996) considered both synonyms of *M. myosotis*.

This work, following a holistic approach, aims to determine whether there is taxonomic ground for both forms *myosotis* / *denticulata* and, ensuing, to evaluate the status of the species described by Morelet (1860) for the Azores Archipelago. To achieve that, the work was divided into three sections, dealing respectively with the morphometric, ecological and molecular characteristics.

The material used came from 28 sites, divided into 7 regions: Mediterranean (Crete), Northeast Atlantic (Portugal mainland), Macaronesia (Azores, Madeira), South Atlantic (South Africa), Northwest Atlantic (Bermuda) and North Pacific (Los Angeles). A total of 247 individuals were studied, 186 in morphometric analyses, 61 in the ecological study and 48 in molecular analyses.

Not having obtained specimens from the type localities for the two forms, following the conchological characteristics the specimens from Crete were adopted as surrogates of the form *denticulata* (originally from southern England), whereas for the form *myosotis* (originally from the south coast of France) specimens from Portugal mainland were selected, on account of the similarity of the shell and the proximity to the Mediterranean.

The morphometric, ecological and molecular analyses showed a significant separation between the individuals from Crete and those from the other regions considered, in particular Portugal mainland, thus justifying consideration as to their respective specific status. Even if for the Azores a not so apparent separation has been recorded, a piece of evidence suggests that, besides the form *myosotis*, another taxonomic entity may exist, particularly in the central group. We conclude, therefore, that a larger, detailed and thorough study of the genus *Myosotella* in the Azores is justified, focusing mainly on the anatomical and molecular analyses. The results derived from such research will enable stronger biogeographical interpretations, possibly forcing a reassessment of the commonly accepted theory of anthropogenic dispersal of *Myosotella myosotis* worldwide.

This research was partially supported by a SYNTHESYS Project <http://www.synthesys.info/>, financed by European Community Research Infrastructure Action under the FP7 "Capacities" Program.

Índice

Índice de figuras	X
Índice de tabelas	XII
1. Introdução	2
1.1. Contexto histórico	2
1.2. Sistemática	4
1.3. <i>Myosotella myosotis</i>	8
1.3.1. Morfometria da concha	8
1.3.2. Anatomia	9
1.3.3. Ecologia	11
1.3.4. Distribuição	12
1.4. O género <i>Myosotella</i> nos Açores	12
1.5. Objectivos	13
2. Metodologia	15
2.1. Enquadramento geográfico	15
2.2. Proveniência do material estudado	16
2.3. Morfometria da concha	17
2.4. Estudo ecológico	19
2.5. Análise molecular	21
2.5.1. Extracção	22
2.5.2. Amplificação	22
2.5.3. Sequenciação	22
2.5.4. Análise dos dados	23
3. Resultados	25
3.1. Morfometria da concha	25
3.2. Estudo ecológico	31
3.3. Análise molecular	35
4. Discussão	38
5. Bibliografia	45
6. Anexos	

Índice de figuras

- Figura 1:** *Myosotella myosotis* Draparnaud, (A, U) *Voluta denticulata* Montagu, (B) *Voluta ringens* Turton, (C-D) *Voluta reflexa* Turton, (E) *Carychium personatum* Michaud, (F) *Auricula reflexilabris* Orbigny (G) *Auricula ciliata* Morelet, (H) *Alexia bermudensis* H. & A. Adams, (I) *Auricula bicolor* Morelet, (J) *Auricula vespertina* Morelet, (K) *Alexia micheli* Bourguignat, (L) *Alexia algerica* Bourguignat, (M) *Alexia agerica* var. *quadriplicata* Bourguignat, (N) *Alexia setifer* Cooper, (O) *Alexia setifer* var. *tenuis* Cooper, (P) *Alexia (Auricula) myosotis* var. *hiriarti* Follin & Bérillon, (Q) *Auricula (Alexia) meridionalis* Brazier, (R) *Auricula watsoni* Wollaston, (S) *Auricula watsoni scrobiculata* Wollaston, (T) *Alexia cossoni* Letourneux & Bourguignat, (V) *Alexia terrestris* Letourneux & Bourguignat (W) *Alexia globulus* Bouguignat, (X) *Alexia letourneuxi* Bourguignat, (Y) *Alexia pechaudi* Bourguignat, (Z) *Alexia acuminata* Morelet, (AA) *Alexia pulchella* Morelet, (AB) *Alexia armoricana* Locard, (AC) *Alexia exilis* Locard, (AD) *Alexia parva* Locard, (AE) *Alexia ringicula* Locard, (AF) *Alexia (Kochia) oranica* Pallary, (AG) *Alexia myosotis marylandica* Pilsbry (AH-AI). Escala 1mm (adaptado de Martins, 1996). 6
- Figura 2:** Vista lateral (A) e vista superior (B) da espira e da protoconcha de *Myosotella myosotis* (Draparnaud). Escala 1mm (adaptado de Martins, 1996). 9
- Figura 3:** Dentes radulares de *Myosotella*, Newport River, Carolina do Norte, EUA. A: dentes marginais; B: último dente lateral e primeiro dente marginal; C: Dente central e o primeiro dente lateral (adaptado de Martins, 1999). 10
- Figura 4:** Sistema reprodutor do género *Myosotella*, Carapacho, Graciosa, Açores. A: porção hermafrodita; B: vista externa do pénis; C: morfologia interna do pénis. Escala 1mm. Abreviaturas a: atrium; agl: glândula do albúmen; amgl: glândula mucosa anterior; avd: vaso deferente anterior; br: bolsa; brd: ducto da bolsa; ot: ovotestis; pe: pénis; pep: papila penial; per: músculo retrator do pénis; pil: pilastras peniais; pmgl: glândula mucosa posterior; pr: glândula prostática; spg: sulco espermático; sv: vesícula seminal (adaptado de Martins, 1999). 11
- Figura 5:** Praia de calhau rolado em costa aberta (esquerda) e sapal (direita) (A. M. F. Martins). 11
- Figura 6:** Distribuição de *Myosotella myosotis* no mundo. Pontos amarelos primeiros registos e pontos a azul registos actuais (imagem 2013 NASA). 12
- Figura 7:** Localização do Arquipélago dos Açores. 15
- Figura 8:** Distribuição das regiões consideradas neste estudo. 17
- Figura 9:** Caracteres conquiológicos e morfométricos de *Myosotella sp.* Ca: comprimento da abertura; Cc: comprimento da última volta; Ce: comprimento da espiral; Ct: comprimento total; D: diâmetro; dpa: dente parietal anterior; dpp: dente parietal posterior; dp3: terceiro dente parietal; di1: primeiro dente interior; di2: segundo dente interior; di3: terceiro dente interior; dii1.1: dente intermédio 1.1; dii1.2: dente intermédio 1.2; dii1.3: dente intermédio 1.3; dii0: dente intermédio 0; La: largura da abertura da concha. Escala 1mm. 18
- Figura 10:** Local de estudo ecológico efetuado na Ponta do Alcaide, Terceira, Açores. Linha vermelha indica a orientação do transecto. 21
- Figura 11:** Esquema do complexo génico nuclear de DNA ribossomal, onde estão contidos os espaços internos transcritos (ITS1 e ITS2). As setas indicam a posição dos iniciadores (primers) usados nas reações de PCR e a região amplificada. 21
- Figura 12:** Conchas do género *Myosotella* provenientes das regiões amostradas. A: Mediterrâneo; B: Atlântico Nordeste (Albufeira); C: Atlântico Nordeste (Vimeiro); D: Pacífico; E: Atlântico Sul; F: Atlântico Noroeste; G: Macaronésia (Madeira); H: Macaronésia (Santa Maria, Açores); I: Macaronésia (São Miguel, Açores); J: Macaronésia (Terceira, Açores). Escala 1 mm (A. F. M. Martins). 26
- Figura 13:** Dendrograma agrupando por similaridade as regiões amostradas. 27

Figura 14: Médias do comprimento total (Ct) e do diâmetro (D) da concha para a costa amostrada (Pc; Portugal continental; Az: Açores; Mad: Madeira; AS: África do Sul; Be: Bermudas; Cr: Creta e LA: Los Angeles) (médias ± erro padrão). Diferenças entre comprimento e largura da concha entre os locais de amostragem encontram-se em cima das colunas, indicando diferenças significativas, ANOVA (teste de Bonferroni, $p < 0,05$).	28
Figura 15: Dendrograma agrupando por similaridade os locais de amostragem no Arquipélago dos Açores.	29
Figura 16: Médias do comprimento total (Ct) e do diâmetro (D) da concha para o Arquipélago dos Açores (SM: São Miguel; St.M: Santa Maria; Terc.: Terceira; SJ: São Jorge; Pico; Gra.:Graciosa; Faial; Corvo e Flores) (médias ± erro padrão). Diferenças entre comprimento e largura da concha entre os locais de amostragem encontram-se em cima das colunas, indicando diferenças significativas, ANOVA (teste de Bonferroni, $p < 0,001$).	30
Figura 17: Perfil topográfico do transecto realizado na Ponta do Alcaide, Terceira.	32
Figura 18: Dendrograma agrupando por similaridade os quadrados do transecto realizado na Ponta do Alcaide, Terceira.	33
Figura 19: Médias do comprimento total (Ct) e do diâmetro (D) da concha ao longo do transecto. Barras dão o erro padrão (EP). Diferenças entre comprimento (Ct) e largura (D) das conchas entre os locais de amostragem encontram-se em cima das colunas, indicando diferenças significativas, ANOVA (teste de Bonferroni, $p < 0,05$).	34
Figura 20: Conchas de <i>Myosotella sp.</i> pertencentes aos quadrados T11 (A), T8 (B) e T1 (C).	35
Figura 21: Árvore filogenética de <i>Myosotella sp.</i> para o gene <i>ITS1</i> com outgroup <i>Ovatella vulcani</i> ; entre parênteses número de indivíduos usados na análise filogenética.	36
Figura 22: Anatomia interna do pénis de <i>Myosotella sp</i> de 5 locais de amostragem, Portugal continental (A), Santa Maria (Açores) (B), Creta (C), Pico (D) e Flores (E) (Açores), da esquerda para a direita respectivamente. Legenda: pep: papila penial (A. M. F. Martins).	41
Figura 23: Anatomia interna do pénis de <i>Myosotella sp</i> ao longo do transecto, Calhau da Pata, Terceira, Açores. A:T1; B: T8; C: T8; D: T11; E: T11. (A, B e D – <i>M. cf myosotis</i> ; C e E- <i>M. cf bicolor</i>) (A. M. F. Martins).	42

Índice de tabelas

Tabela 1: Presença (cinzento) / ausência (branco) de dentes da abertura no global dos locais amostrados: Portugal Continental (Pc), Açores (Az), Madeira (Mad), África do Sul (AS), Bermudas (Be), Creta (Cr) e Los Angeles (LA) (legenda ver figura 9). 27

Tabela 2: Presença (cinzento) / ausência (branco) de dentes da abertura em todas as ilhas do Arquipélago dos Açores. SM: São Miguel; St. M: Santa Maria; Terc.: Terceira; SJ: São Jorge; Gra.: Graciosa. 31

Tabela 3: Presença (cinzento) / ausência (branco) de dentes da abertura ao longo do transecto. 34

Capítulo I

Introdução

1. Introdução

Os elobiídeos halofílicos são moluscos característicos de sapais e litorais pedregosos onde predominam calhaus rolados. Estes gastrópodes pulmonados primitivos vivem predominantemente no supra-litoral e, no caso de *Myosotella myosotis* (Draparnaud, 1801), por vezes em condições de quase terrestrialidade (Martins, 1980; 1996; 2001).

O género *Myosotella*, proposto por Monterosato (1906) para a extremamente variável *M. myosotis*, foi até recentemente considerado como subgénero de *Ovatella bivona*, 1832, mas Martins (1999), através de uma cuidada análise morfológica e anatómica, mostrou as diferenças, entre estes dois grupos, justificando assim a categoria genérica de *Myosotella* dentro da família Ellobiidae.

1.1. Contexto histórico

O primeiro registo de *M. myosotis* surge no “Tableau des Mollusques de la France” de Draparnaud em 1801. O autor pretendia que esta obra fosse apenas uma compilação de todos os moluscos terrestres e fluviais de França; no entanto, considerou esta espécie merecedora de uma maior atenção, pelo que fez uma descrição mais pormenorizada da morfologia externa da mesma (Draparnaud, 1801).

Auricula [= *Myosotella*] *myosotis* foi incluída na Ordem I, Gastrópodes, que inclui os animais providos de uma cabeça e de um pescoço, retrácteis e que rastejam sobre o ventre, com concha univalve ou nula, Divisão I, presença de dois tentáculos oculados na sua base, Secção II, concha sem opérculo, VIII *Auricula*, animais que apresentam dois tentáculos curtos, cilíndricos, glandiformes em cima, oculados na sua base interno-posterior; focinho proboscídiforme (em forma de tromba), uma concha oblonga, com uma abertura também oblonga, dentada ou plissada (Draparnaud, 1801).

Os indivíduos estudados por Draparnaud apresentavam um comprimento máximo de 12 milímetros e uma largura compreendida entre os 3 e os 5 milímetros. Era um animal escuro, cinza-pálido no ventre e posteriormente, apresentando um manto avermelhado pálido. Possuía tentáculos curtos, cilíndricos, retrácteis, salientes com uma forma bulbosa no topo e opacos. Vistos sob o microscópio, estes pareciam compostos

como articulações. Detinham olhos negros, situados, um pouco atrás, na base interna dos tentáculos, com um “focinho” escuro, avançado em forma de trompa e enrugado na parte superior. A concha de um castanho-amarelado mais ou menos escuro, ligeiramente brilhante, marcado com muitas finas estrias longitudinais era composta por 8 voltas. A última volta era igual ao comprimento de todas as outras, sendo as quatro primeiras muito pequenas e formando um ápice agudo, com uma abertura alargada e arredondada inferiormente. Com uma columela branca, forrada por três dentes, sendo os dois mais baixos muito acentuados e continuando para o interior da concha. O autor observou no lado direito da abertura de alguns indivíduos, um pequeno dente ou calosidade e um peristômio branco, refletido e plano. Estes indivíduos foram encontrados no sul da costa francesa, Mediterrâneo, sobre madeira morta e podre, em locais húmidos (Draparnaud, 1801).

Um outro registo quase contemporâneo de *Myosotella* é a forma denticulada, descrita por Montagu em 1803 como *Voluta denticulata*. Esta possuía uma concha univalve e em espiral, com uma abertura longitudinal estendendo-se quase por todo o comprimento da mesma, sem cauda, com uma columela plissada, sem umbigo e sem lábio interior. A concha detinha um comprimento aproximado de 12,7 milímetros e uma largura que não chegava aos 6,35 milímetros, com sete ou oito voltas, afunilando numa ponta fina, sendo a primeira larga, e as outras gradualmente mais finas, de cor bege-acinzentado semitransparente, escurecendo para uma cor castanha-arroxeadado em direção ao topo. Possuía uma abertura oblonga-oval, entendendo-se por metade do tamanho da concha. O lábio exterior mostrava a evidência de dois ou três tubérculos perto da margem e frequentemente três ou quatro denticulações brancas mais para o interior da abertura. A columela plissada, com duas a quatro, mais comumente três, dobras brancas bastante elevadas, parecidas com dentes mas enrolando em espiral em torno da columela. Esta espécie apresentava alguma variedade no que respeita à denticulação do lábio exterior, apresentando, ora muitos, ora poucos ou até nenhum dente quando juvenil (Montagu, 1803).

Estes indivíduos foram recolhidos em raízes de juncos, num pântano perto de Faversham, Kent no Reino Unido. Inúmeros outros indivíduos foram encontrados nas costas de Plymouth e Dock, alimentando-se de algas na zona de maré alta, na costa sul, Devonshire e Barnstable, bem como a norte em Ilfracomb, perto de Aberavon em Gales e em Southampton.

1.2. Sistemática

Filo Mollusca

Classe Gastropoda

Subclasse Pulmonata

Família Ellobiidae H. & A. Adams *in* Pfeiffer, 1854

Subfamília Pythiinae Odhner, 1925

Género *Myosotella* Monterosato, 1906

Myosotella myosotis (Draparnaud, 1801)

No seu estudo sobre os ellobídeos do Atlântico Oeste, Martins (1996), apoiado por cuidadosa recolha bibliográfica e baseado na morfologia das conchas e anatomia, sinonimizou mais de 40 espécies nominais conhecidas numa única espécie, *M. myosotis*.

Observando apenas a concha (Fig.1) é compreensível este elevado número de sinónimos. Esta pode ser estreita e muito espirada até globulosa, as cores variam entre o amarelo pálido e o vermelho vivo e a morfologia da abertura apresenta uma grande variação no número e posição dos denticulos, quer no lábio parietal (superior), quer no lábio exterior (inferior) (Martins, 1996).

Abaixo pode-se ler a lista de sinónimos, segundo Martins (1996):

Voluta denticulata Montagu, 1803; *Voluta ringens* Turton, 1819; *Voluta reflexa* Turton, 1819; *Auricula veneta* Von Martens, 1824; *Jaminia quinquedens* Brown, 1827; *Auricula tenella* Menke, 1828; *Carychium personatum* Michaud, 1831; *Melampus borealis* Conrad, 1832; *Melampus gracilis* Lowe, 1832; *Auricula reflexilabris* Orbigny, 1837; ? *Auricula sayi* Küster, 1844; *Auricula microstoma* Küster, 1844; *Auricula kutschigiana* Küster, 1844; *Auricula biasoletiana* Küster, 1844; *Auricula myosotis* var. *elongata* Küster, 1844; *Auricula myosotis* var. *adriatica* Küster, 1844; *Auricula ciliata* Morelet, 1845; *Auricula botteriana* Philippi, 1846; *Alexia obsoleta* Pfeiffer, 1854; *Alexia bermudensis* H & A. Adams, 1855; *Melampus turritus* Say MS Binney, 1859; *Auricula bicolor* Morelet, 1860; *Auricula vespertina* Morelet, 1860; *Alexia micheli* Bourguignat, 1864; *Alexia micheli* var. *triplicata* Bourguignat, 1864; *Alexia algerica* Bourguignat,

1864; *Alexia algerica* var. *quadriplicata* Bourguignat, 1864; *Alexia loweana* Pfeiffer, 1866; *Alexia setifer* Cooper, 1872; *Alexia setifer* var. *tenuis* Cooper, 1872; *Alexia* (*Auricula*) *myosotis* var. *hiriarti* Follin & Bérillon, 1874; *Auricula* (*Alexia*) *meridionalis* Brazier, 1877; *Auricula watsoni* Wollaston, 1878; *Auricula watsoni scrobiculata* Wollaston, 1878; *Auricula bicolor* var. *subarmata* Wollaston, 1878; *Tralia* (*Alexia*) *myosotis* forma *junior* Dall, 1885; *Alexia cossoni* Letourneux & Bourguignat, 1887; *Alexia terrestris* Letourneux & Bourguignat, 1887; *Alexia globulus* Bourguignat in Letourneux & Bourguignat, 1887; *Alexia letourneuxi* Bourguignat in Letourneux & Bourguignat, 1887; *Alexia pechaudi* Bourguignat in Letourneux & Bourguignat, 1887; *Alexia acuminata* Morelet, 1889; *Alexia pulchella* Morelet, 1889; *Alexia armoricana* Locard, 1891; *Alexia exilis* Locard, 1893; *Alexia parva* Locard, 1893; *Alexia ringicula* Locard, 1893; *Alexia* (*Kochia*) *oranica* Pallary, 1900; *Alexia myosotis marylandica* Pilsbry, 1990; *Alexia bidentata* Montagu forma *americana* Kobelt, 1901; *Alexia myosotis* var. *varicosa* Fénaux, 1939; *Alexia subflava* Fénaux, 1939.

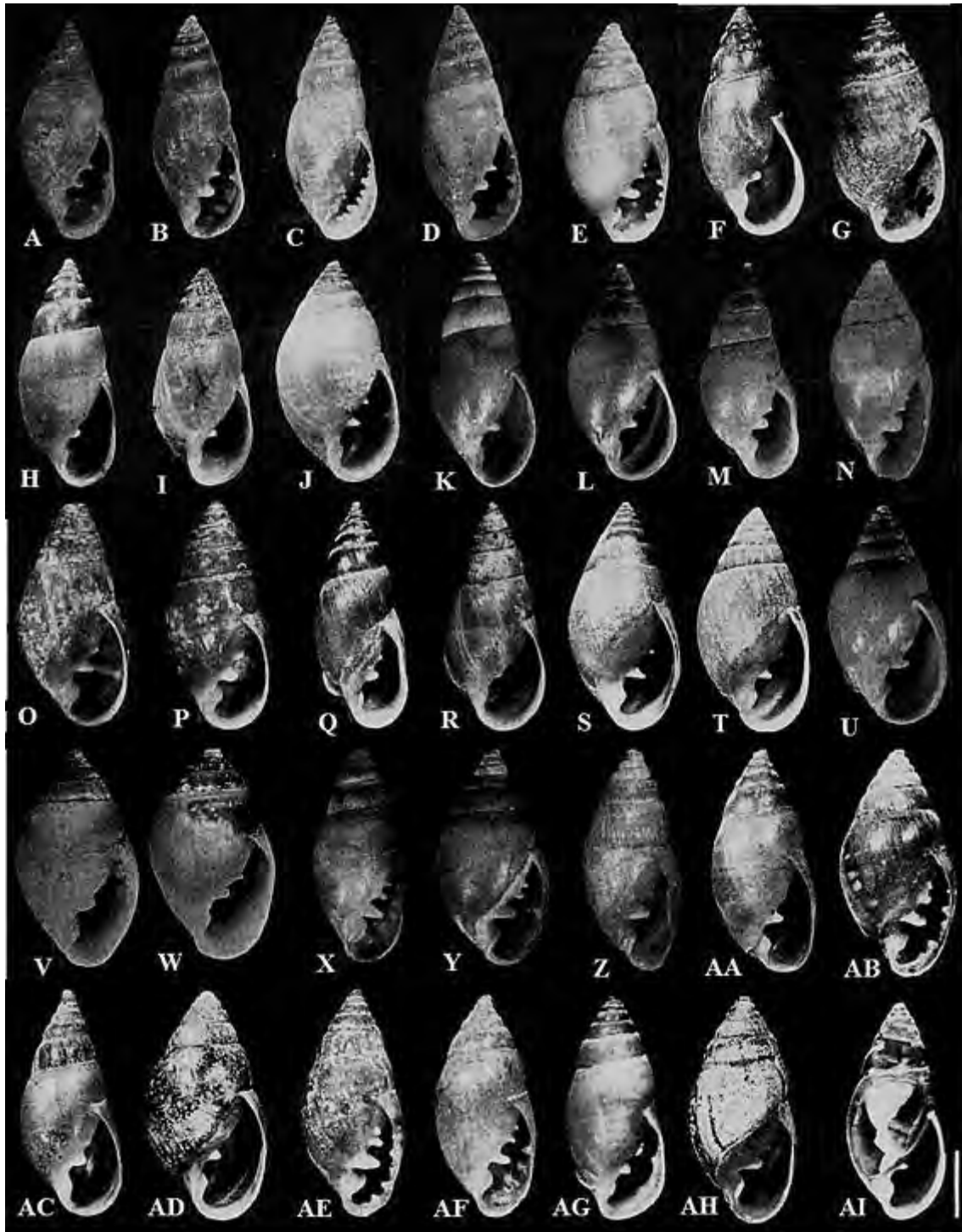


Figura 1: *Myosotella myosotis* Draparnaud, (A, U) *Voluta denticulata* Montagu, (B) *Voluta ringens* Turton, (C-D) *Voluta reflexa* Turton, (E) *Carychium personatum* Michaud, (F) *Auricula reflexilabris* Orbigny (G) *Auricula ciliata* Morelet, (H) *Alexia bermudensis* H. & A. Adams, (I) *Auricula bicolor* Morelet, (J) *Auricula vespertina* Morelet, (K) *Alexia micheli* Bourguignat, (L) *Alexia algerica* Bourguignat, (M) *Alexia agerica* var. *quadriplicata* Bourguignat, (N) *Alexia setifer* Cooper, (O) *Alexia setifer* var. *tenuis* Cooper, (P) *Alexia (Auricula) myosotis* var. *hiriarti* Follin & Bérillon, (Q) *Auricula (Alexia) meridionalis* Brazier, (R) *Auricula watsoni* Wollaston, (S) *Auricula watsoni scrobiculata* Wollaston, (T) *Alexia cossoni* Letourneux & Bourguignat, (V) *Alexia terrestris* Letourneux & Bourguignat (W) *Alexia globulus* Bouguignat, (X) *Alexia letourneuxi* Bourguignat, (Y) *Alexia pechaudi* Bourguignat, (Z) *Alexia acuminata* Morelet, (AA) *Alexia pulchella* Morelet, (AB) *Alexia armoricana* Locard, (AC) *Alexia exilis* Locard, (AD) *Alexia parva* Locard, (AE) *Alexia ringicula* Locard, (AF) *Alexia (Kochia) oranica* Pallary, (AG) *Alexia myosotis marylandica* Pilsbry (AH-AI). Escala 1mm (adaptado de Martins, 1996).

Dentro da reconhecida variabilidade deste género, expressa em extensa sinonímia por Martins (1996), duas formas têm vindo a ser reconhecidas tentativamente como entidades taxonómicas separadas: a típica *M. myosotis*, e uma forma denticulada, *M. denticulata* (Montagu, 1803). A larga variedade conquiológica característica do género *Myosotella* é distinguida nas duas formas dadas para esta espécie e por alguns retidas como taxa distintos: *denticulata* e *myosotis*. Aparentemente ligadas por formas intermédias; características peculiares têm sido reconhecidas. A forma *denticulata* apresenta uma coloração mais pálida quando comparada com a segunda forma. Prefere viver em ambientes com água salgada mais pura do que em água salobra de estuários, é em média mais pequena, apresenta as espirais e uma abertura mais estreita, com uma fila de dentes (5 ou 6) ou pequenas dobras no lábio inferior que podem ser vistos no exterior da concha e em repetidos intervalos, o lábio superior, normalmente, têm pequenos denticulos sendo que o primeiro é mais desenvolvido do que o da forma *myosotis* (Watson, 1943; Martins, 1996).

Embora por vezes numa mesma população existam formas intermédias, as diferenças encontradas podem dever-se ao ambiente onde se encontram. O facto da forma *denticulata* viver em ambientes mais salinos pode levar ao desenvolvimento de várias características específicas, tais como: uma concha menos dilatada e mais enrugada; um manto menos espesso; espirais mais esguias e uma abertura mais estreita. Este ambiente pode levar à produção de excesso de cálcio que é depositado durante a pausa do crescimento sob a forma de dentes dentro do peristómio e encaixando-se nas rugas no bordo do manto, mais do que na forma *myosotis*, que vive em ambientes estuarinos e em comparação apresenta um aumento da pigmentação (Watson, 1943; Fischer, 1978). Martins (1996) observou que a morfologia da concha podia variar de acordo com a temperatura, sendo que em ambientes mais quentes, como as Bermudas e Carolina do Norte a concha era mais larga e mais espessa. Embora estas características possam ser uma indicação de uma diferenciação de espécies, não foi considerado aconselhável separar as duas formas apenas com base na concha, sendo as diferenças consideradas apenas resultado de factores ambientais e, por isso, de pouco valor taxonómico (Watson, 1943; Martins, 1996). Outros caracteres têm também sido considerados, como por exemplo a rádula e a morfologia externa do pénis, no entanto também estes têm sido descartados, dado que as pequenas diferenças encontradas

podem dever-se às dimensões dos indivíduos e a adaptações ambientais (Cesari, 1976; Climo, 1982; Martins, 1996).

Até recentemente apenas estudos conquiológicos, anatômicos e morfológicos foram realizadas para esta espécie. A nível molecular, a espécie *Myosotella myosotis*, foi apenas incluída em dois estudos recentes sobre as relações filogenéticas do grupo de gastrópodes terrestres (Pulmonata) (Dayrat *et al.*, 2011; White *et al.*, 2011), não existindo qualquer trabalho relativo à identificação da espécie a este nível.

1.3. *Myosotella myosotis*

1.3.1. Morfometria da concha

A concha de *M. myosotis* tem aproximadamente 12 milímetros de comprimento, oval-alongada, frágil a um pouco sólida, normalmente de cor amarela pálida a vermelha vivo raramente esbranquiçada. A espira é alta, com até oito voltas, mais ou menos convexas; as primeiras três voltas da teleoconcha possuem linhas em espiral com pequenos furos (Fig. 2- A), ficando com menos à medida que a espira progride; presença de filas de pêlos periostracais, em juvenis, anteriores à espira com pequenos furos. A última volta compreende cerca de 70% do comprimento da concha, lisa excepto pela presença de linhas de crescimento irregularmente espaçadas e esbatidas. A abertura ocupa cerca de 80% do comprimento da última volta, é oval-alongada, anteriormente arredondada; o lábio interior possui um dente columelar pequeno, muito oblíquo e meio torcido, branco; o dente parietal anterior é forte, branco, com uma espessura variável e perpendicular ao eixo da columela; normalmente um, raramente nenhum, às vezes até quatro dentes parietais posteriores que gradualmente ficam mais pequenos posteriormente; o lábio exterior é cortante, habitualmente fracamente reflectido em espécimes mais velhos, normalmente com um, às vezes com até seis tubérculos esbranquiçados. Partição interna das voltas apenas na última volta. Protoconcha, larga, com espiras salientes, com uma volta e meia, deixando uma fenda umbilical no ápice da concha (Fig. 2- B) (Martins, 1996).



Figura 2: Vista lateral (A) e vista superior (B) da espira e da protoconcha de *Myosotella myosotis* (Draparnaud). Escala 1mm (adaptado de Martins, 1996).

1.3.2. Anatomia

A *M. myosotis* é um pequeno caracol que apresenta uma coloração acinzentada-branca até amarelado-acastanhado; com um pescoço normalmente pigmentado de escuro; os tentáculos são subcilíndricos, mais escuros que o pescoço; tentáculos rudimentares anteriores estão presentes; o pé não é transversalmente dividido e apresenta uma coloração amarelada; a bainha do manto tem uma coloração acinzentada com pontos negros (Martins, 1996, 2007).

O desenvolvimento larvar é directo, isto é os embriões, já formados, saem da massa de ovos que se encontra agarrada a um objeto duro e emergem como juvenis. A cavidade pulmonar é formada pela modificação da cavidade palial juvenil na altura do nascimento. O opérculo é perdido uma semana após o nascimento e em condições óptimas o indivíduo pode atingir o comprimento e a maturidade total ao fim de quatro meses (Ruthensteiner, 1991).

A rádula é um importante caracter na classificação dos gastrópodes, sendo por isso necessário prestar atenção à sua constituição. Procedendo-se embora à sua descrição, faz-se notar que, face à exiguidade de tempo, à morosidade de preparação e a dificuldades logísticas relacionadas com o microscópio electrónico, este caracter não será abordado neste estudo, relegando-se para uma publicação posterior.

Dentro de cada grupo existe uma fórmula distinta, e no caso do género *Myosotella* esta é: $(20+11+1+11+20) \times 80$, isto é, existe um dente central que é rodeado por 11 dentes laterais e 20 dentes marginais, repetidos em 80 filas de dentes (Fig. 3). A largura da base do dente central é duas vezes a largura dos dentes laterais, com emarginações centrais e a porção anterior dos braços um pouco sinuosa. Apresenta uma coroa

pequena, abatida posteriormente, unicúspide com um mesocone triangular parcialmente arredondado. Possui entre 8 a 13 dentes laterais de base quadrangular, alongados, oblíquos, com uma protuberância lateral arredondada sobre o terceiro dente anterior; têm uma coroa cuneiforme, cerca de metade do comprimento da base, arredondada posteriormente. Entre 17 a 25 dentes marginais, com a base ficando mais reduzida anteriormente e sendo projectada, de forma quadrangular posteriormente; coroa apontando para dentro, bicúspide; endocone mais pequeno que o mesocone (Martins, 1996).

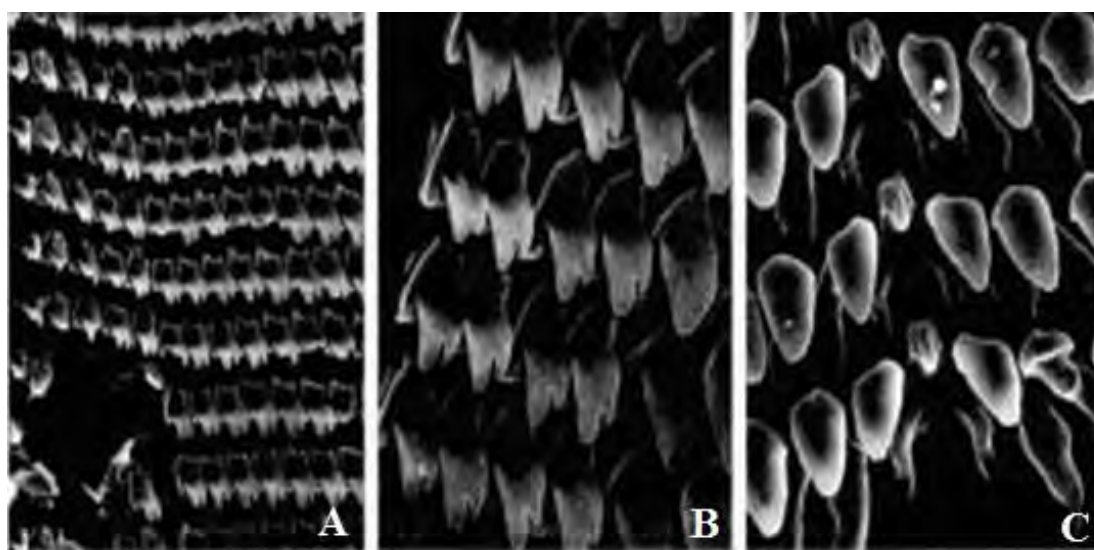


Figura 3: Dentes radulares de *Myosotella*, Newport River, Carolina do Norte, EUA. A: dentes marginais; B: último dente lateral e primeiro dente marginal; C: dente central e primeiro dente lateral (adaptado de Martins, 1999).

O aparelho digestivo apresenta um estômago com uma câmara membranosa anterior, uma moela não muito musculada e um cego gástrico posterior membranoso (Martins, 1996).

O aparelho reprodutor (Fig. 4) exhibe um ovotestis com uma fraca coloração, embutido nos lobos da glândula digestiva; tem um ducto hermafrodita longo, dilatado, convoluto; o gonoductopalial é hermafrodítico em todo o seu comprimento; a glândula mucosa anterior e a glândula da próstata cobrem todo o comprimento do espermoviducto; o ducto da bolsa é tão longo como o espermoviducto, esvaziando perto da abertura vaginal; a espermoteca é esférica. O pénis é curto, encorpado; o ducto deferente anterior aderente ao prepúcio e entrando subapicalmente; papila penial espessa, quadrangular a cilíndrica, finamente sulcada longitudinalmente, possuindo na

ponta uma estrutura papilar, por vezes retráctil para o interior de uma larga ranhura transversal. Retrator penial grosso e curto (Martins, 1999).

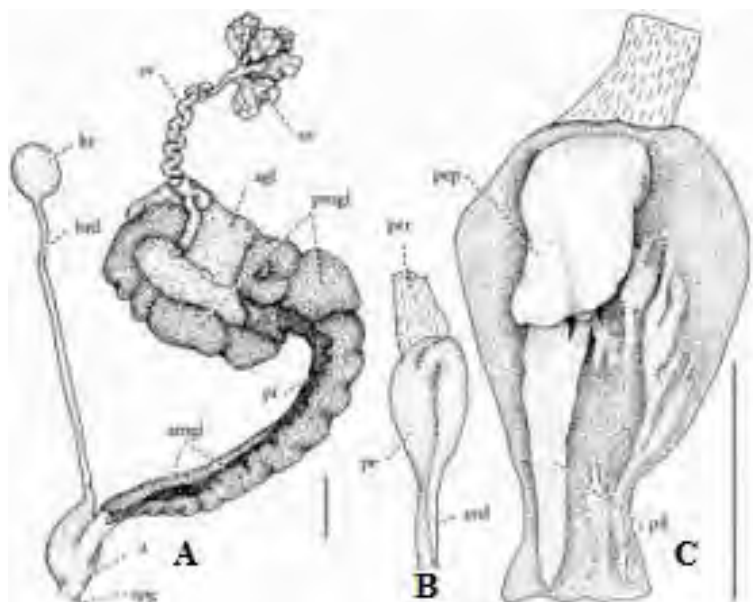


Figura 4: Sistema reprodutor de *Myosotella* sp., Carapacho, Graciosa, Açores. A: porção hermafrodita; B: vista externa do pénis; C: morfologia interna do pénis. Escala 1mm. Abreviaturas: a: atrium; agl: glândula do albúmen; amgl: glândula mucosa anterior; avd: vaso deferente anterior; br: bolsa; brd: ducto da bolsa; ot: ovotestis; pe: pénis; pep: papila penial; per: músculo retrator do pénis; pil: pilastras peniais; pmgl: glândula mucosa posterior; pr: glândula prostática; spg: sulco espermático; sv: vesícula seminal (adaptado de Martins, 1999).

1.3.3. Ecologia

A *M. myosotis* é uma espécie tolerante a variações de salinidade, vive em ambientes estuarinos, entre as raízes de plantas tolerantes à salinidade e debaixo de calhau rolado e detritos desde da zona de maré alta até ao supratidal, em costas abertas (Fig. 5) (Morton, 1955; Martins, 1996).



Figura 5: Praia de calhau rolado em costa aberta (esquerda) e sapal (direita) (A. M. F. Martins).

1.3.4. Distribuição

A *M. myosotis* tem actualmente uma ampla distribuição (Fig. 6). Inicialmente descrita na costa do Sul de França, Mediterrâneo (Draparnaud, 1801) e posteriormente na costa inglesa, Atlântico Nordeste (Montagu, 1803), de onde se julga ser proveniente, é actualmente considerada uma espécie introduzida em outras partes do globo: Atlântico Noroeste (Nova Escócia até à Florida e Bermudas), Pacífico Nordeste (British Columbia até Califórnia), Pacífico Sueste (Peru), Sul da Austrália, Nova Zelândia e África do Sul (Martins,1996; Herbert, 2012).



Figura 6: Distribuição da *Myosotella* no mundo. Pontos amarelos primeiros registos e pontos a azul registos actuais (imagem 2013 NASA)

1.4. O género *Myosotella* nos Açores

A espécie *M. myosotis* foi registada para o Arquipélago dos Açores pela primeira vez por Morelet (1860). Este autor colocou no género *Auricula* três novas espécies que encontrou na sua visita à ilha do Pico, *Auricula vulcani*, *Auricula bicolor* e *Auricula vespertina*. Segundo Martins (1996, 1999), a primeira espécie refere-se, no entanto, ao género *Ovatella*, enquanto as outras foram sinonimizadas com *M. myosotis*.

Morelet (1860) compara a espécie *A. bicolor* a *M. myosotis* e a *A. vespertina* a *M. denticulata*, no entanto na sua análise, Martins (1996) colocou ambas as espécies descritas por Morelet como sinónimos de *M. myosotis*, ressalvando todavia, tal como outros autores (Herbert, 2012), a necessidade de estudos moleculares para uma melhor compreensão da taxonomia destes taxa.

Myosotella, primeiro identificada apenas para a ilha do Pico, foi mais tarde reportada para o Faial (Nobre, 1924), São Miguel, Terceira e São Jorge (Backhuys, 1975) e finalmente em para todo o arquipélago (Cunha *et al*, 2005).

1.5. Objectivos

O objectivo deste trabalho é, mediante uma abordagem morfométrica, molecular e ecológica, mostrar de uma forma holística se as formas *myosotis e denticulata*, consideradas sinónimas por Martins (1996), merecem estatuto taxonómico separado e se as espécies descritas por Morelet (1860) nos Açores podem ser consideradas como entidades taxonómicas diferentes.