

Ocorrência e caracterização histológica de marsúpios de *Diplodon expansus* (Küster, 1856) (Mollusca, Bivalve, Hyriidae) no rio Piraquara, Paraná, Brasil

Ana Aparecida Nogueira Meyer *

Jéssica Kelly Martin

Edinalva Oliveira

Universidade Positivo
Rua Prof. Pedro Viriato Parigot de Souza, 5300, CEP 81280-330, Curitiba – PR, Brasil

*Autor para correspondência
anameyer@onda.com.br

Submetido em 11/05/2012
Aceito para publicação em 22/10/2012

Resumo

Em bivalves límnicos da família Hyriidae, as brânquias apresentam, além das funções de trocas gasosas e alimentação, importante função no ciclo reprodutivo. As brânquias sofrem modificações, originando uma estrutura especializada, o marsúpio, no qual ocorre o desenvolvimento de larvas denominadas gloquídeos. O objetivo deste estudo foi determinar a ocorrência e as características morfológicas dos marsúpios de *Diplodon expansus*. Foram realizadas seis coletas bimestrais entre maio de 2007 e maio de 2008, no rio Piraquara, com captura de 180 espécimes com tamanho superior a 25mm. O comprimento total das conchas foi medido para determinação das frequências de classes de tamanhos. Com base em características morfológicas pré-determinadas, os marsúpios foram classificados em estágio I e II. Fragmentos teciduais de marsúpios e massa visceral foram submetidos a processamento histológico de rotina e incluídos em parafina. Foram registradas nove classes de comprimento, com intervalo de 3mm, e a classe modal variou de 50 a 53mm. Marsúpios em estágios I e II foram observados em 86% das fêmeas. As observações histológicas indicam que marsúpios são estruturas permanentes em fêmeas maduras e que a população de *D. expansus* possui uma estratégia de reprodução contínua, com picos de liberação de gloquídeos.

Palavras-chave: Brânquias; Histologia; Reprodução

Abstract

Occurrence and histological characterization marsupia of *Diplodon expansus* (Küster, 1856) (Mollusca, Bivalve, Hyriidae) in Piraquara River, Parana, Brazil. In limnic bivalve individuals from the family Hyriidae, the gills have, besides the functions of gas exchange and feeding, an important function in the reproductive cycle. The gills undergo changes, resulting in a specialized structure, the marsupium, where the development of larva named glochidia occurs. This study aimed to determine the occurrence and morphological characteristics of marsupia of *Diplodon expansus*. Six bimonthly samples were carried out between May 2007 and May 2008, in Piraquara River, with capture of 180 specimens larger than 25mm. The total length of the shells was measured to determine the frequencies of size classes. Having predetermined morphological characteristics as a

basis, the marsupia were classified into stage I and II. Tissue fragments of marsupia and visceral mass underwent a routine histological approach and they were embedded in paraffin. Nine length classes were recorded, with a 3mm interval, and the modal class ranged from 50 to 53mm. Marsupia in stages I and II were observed in 86% of females. Histological observations indicate that marsupia are permanent structures in mature females and that the population of *D. expansus* has a continuous reproductive strategy, with peaks of glochidia release.

Key words: Gills; Histology; Reproduction

Introdução

Em bivalves límnicos da família Hyriidae, as brânquias desempenham, além das funções de trocas gasosas e alimentação, importante função no ciclo reprodutivo. As demibrânquias internas sofrem modificações originando uma estrutura especializada, o marsúpio, no qual ocorre o desenvolvimento de larvas denominadas gloquídeos (JONES et al., 1986; VALE et al., 2005).

Simpson (1900) classificou os marsúpios, quanto à posição que ocupam nas demibrânquias, estabelecendo características que possibilitam a identificação de grupos de bivalves límnicos e Lefevre e Curtis (1910) descreveram a estrutura histológica de marsúpios de Unionidae. A morfologia estrutural do marsúpio de *Anodonta cataracta* foi descrita por Tankerley (1996). Schwartz e Dimock (2001) descreveram as trocas nutricionais durante o período de incubação de *Utterbackia imbecillis*. Jones et al. (1986) relacionaram os estágios de desenvolvimento larval em marsúpios e gametogênese para bivalves da família Hyriidae da Austrália e Vale et al. (2005) descreveram gloquídeos e a posição de marsúpios nas demibrânquias de *Castalia ambigua ambigua*.

Segundo Bonetto (1965), o gênero *Diplodon* possui ampla distribuição no continente sul americano, o que contrasta com o pouco conhecimento relacionado com as estruturas envolvidas na reprodução e desenvolvimento larval. Alvarenga e Ricci (1979) realizaram estudo de gloquídeos de *Diplodon besckeanus* Dunker, 1849, Ricci et al. (1990) dos gloquídeos de *Diplodon multistriatus* Lea, 1831, Mansur e Silva (1999) descreveram a morfologia de gloquídeos de cinco espécies de *Diplodon* para o estado do Rio Grande do Sul, Pimpão et al. (2012) analisaram de forma comparativa a morfometria e morfologia das valvas de gloquídeos de

três espécies de *Diplodon* sulamericanos da Amazônia e Avelar e Mendonça (1998) descreveram aspectos da gametogênese de *Diplodon rotundus gratus* Wagner, 1827.

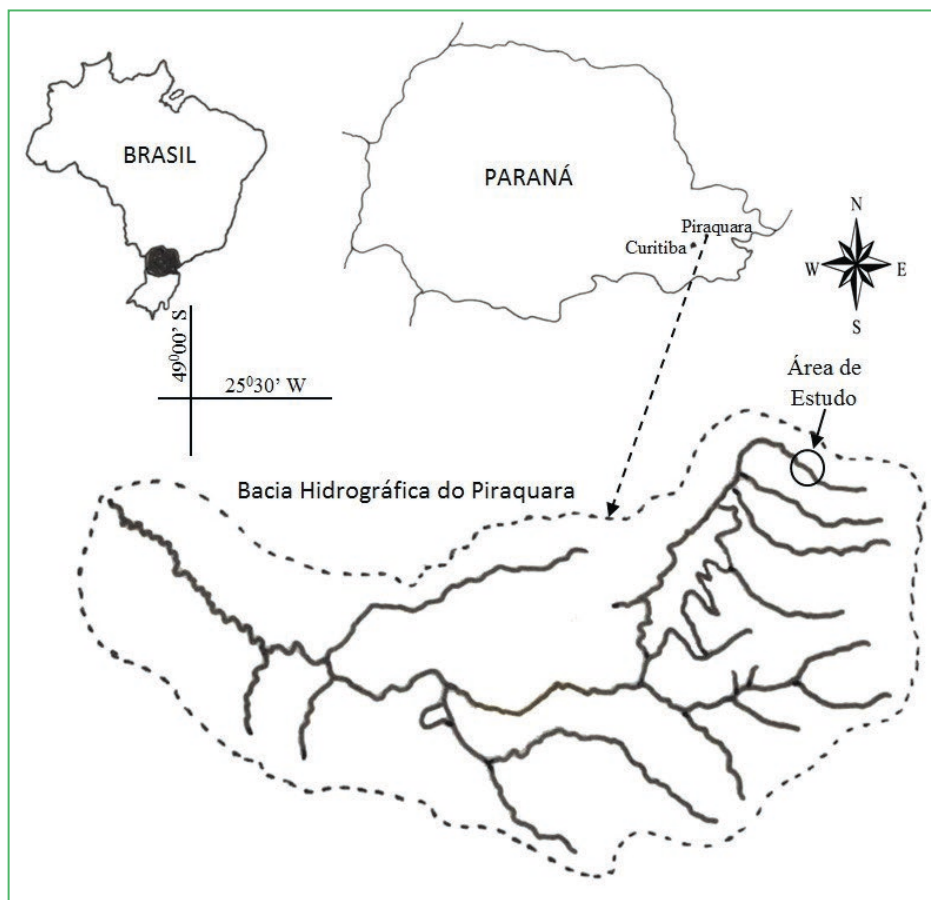
Para o estado do Paraná, Curial e Lange (1974a; 1974b; 1975) analisaram aspectos da gametogênese, hermafroditismo e variações histológicas sazonais das gônadas de *Diplodon delodontus expansus* Küster, 1856 e Meyer et al. (2010) analisaram as classes de tamanho e proporção sexual de *Diplodon expansus* Küster, 1856.

O presente estudo tem por objetivo analisar a ocorrência sazonal e caracterizar a organização histológica de marsúpios, agregando conhecimentos que permitam ampliar a compreensão do ciclo reprodutivo para *Diplodon expansus* (Küster, 1856) no rio Piraquara, Paraná, Brasil.

Material e Métodos

A área de estudo compreende um trecho do rio Piraquara situado a montante da represa de Piraquara, no município de Piraquara, região metropolitana de Curitiba, Paraná, localizada dentro dos limites da APA do Piraquara, definida pelo Decreto Estadual nº 1754 de 06/05/96. O rio Piraquara origina-se na Serra do Mar, sendo um dos tributários da bacia do rio Iguaçu.

Exemplares de *D. expansus* foram capturados em coletas bimestrais, no período de maio de 2007 a maio de 2008, no rio Piraquara (25°30'985"S e 49°00'480"W) (Figura1), através de mergulho livre. Em cada coleta amostral foram capturados 30 organismos com tamanho de valvas superior a 25mm. As temperaturas do ar e da água foram obtidas através de termômetro de mercúrio e o pH com papel de tornassol.

FIGURA 1: Mapa da localização geográfica da área de estudo. Local de coleta de *Diplodon expansus* (KÜSTER, 1856).

Os exemplares coletados foram acondicionados em tanques de transporte contendo água do local de coleta e aeração constante. Em laboratório, os exemplares foram submetidos a uma pré-abertura mecânica das valvas, e fixados em formol a 10% por 48h. Cada exemplar recebeu identificação numérica e, posteriormente, as partes moles foram conservadas em álcool 70% e as valvas armazenadas, em meio seco, por lotes de coleta. Lotes de material testemunho da população estudada, constituídos de conchas e exemplares com partes moles, foram depositados na Coleção de Mollusca do Museu de História Natural Capão da Imbuia, MHNCI 4774 a 4778.

Para determinação da distribuição por frequência de classe de comprimento, foi obtido o comprimento total da concha (MANSUR et al., 1987) utilizando-se paquímetro de legibilidade 0,05mm.

Todos os exemplares da amostra foram analisados em microscópio estereoscópico, para o registro da ocorrência de marsúpio e classificação utilizando a metodologia adaptada de Avelar e Mendonça (1998). Com base em observações macroscópicas, os marsúpios foram classificados em: Estágio I – marsúpio vazio, com ausência de gloquídios, incluindo os que acabaram de receber ovócitos fertilizados (fase de pré-incubação) ou aqueles que acabaram de eliminar seus gloquídios (fase de pós-incubação); Estágio II – marsúpio com câmaras de incubação, contendo embriões em diversos estágios de desenvolvimento envolvidos por membrana vitelínica, mesmo quando quase totalmente maduros. Marsúpios representativos do estágio I e II foram utilizados para estudo da organização histológica.

A determinação do sexo foi realizada através do exame histológico de secções da região mediana da

massa visceral de todos os indivíduos da amostra, e a proporção sexual analisada através do teste de Qui-quadrado (X^2).

Os fragmentos teciduais das demibrânquias de machos, demibrânquias com marsúpio e massa visceral foram submetidos a processamento histológico, com desidratação, diafanização e inclusão em parafina. Cortes de 5 μ m foram corados com Hematoxilina e Eosina (H.E) para análise da organização tecidual e Alcian Blue pH 0,5 para identificação de células secretoras.

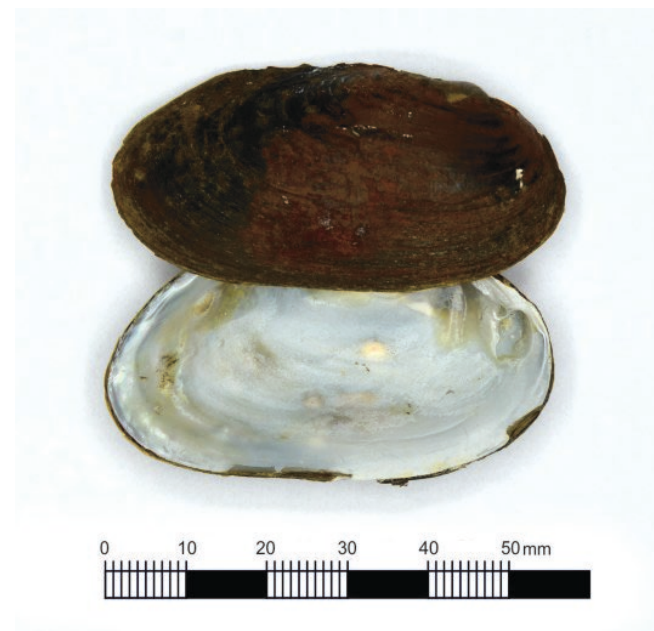
Resultados

O local de coleta, é um trecho do rio Piraquara de água lólicas, com profundidade máxima de 70cm na região central. O substrato é lodoso junto às margens, devido à mistura de silte e acúmulo de matéria orgânica vegetal, provenientes da mata ciliar, enquanto que na região central do leito o rio apresenta substrato arenoso e rochas de diferentes granulometrias. Os dados abióticos relativos às coletas estão sumarizados na Tabela 1.

Nas seis coletas amostrais foram capturados 180 exemplares de *D. expansus* (Figura 2). Na amostra total foram determinadas nove classes de comprimento com intervalo de 3mm, representadas na Figura 3. O tamanho mínimo observado foi de 38mm e o maior 63mm, com a classe modal apresentando indivíduos variando de 50 a 53mm ($n = 50$).

Através de análise histológica foram identificados na amostra ($n = 180$) um total de 108 fêmeas, 64 machos e um hermafrodita. Em sete exemplares, não foi possível a identificação do sexo devido à presença de alterações teciduais na massa gonadal (Figura 4).

FIGURA 2: Exemplar de *D. expansus* (Küster, 1856) coletado no rio Piraquara, Paraná, Brasil, no período de maio de 2007 a maio de 2008.



A frequência de machos, fêmeas e hermafroditas por classes de comprimento ($n=180$) está demonstrada na Figura 5. Machos e fêmeas estão presentes em todas as classes de comprimento e o exemplar hermafrodita foi registrado na coleta de julho/07. A análise de X^2 entre machos e fêmeas indica diferença significativa ($p > 0,05$), com fêmeas predominantes nas classes de tamanho acima de 44mm.

Das 108 fêmeas coletadas, 94 apresentaram marsúpios (86%), distribuídas em todas as classes de comprimento e em todas as coletas amostrais. O maior número de fêmeas com marsúpio foi observado nas classes de comprimento de 50 a 53mm (Figura 6).

TABELA 1: Rio Piraquara. Parâmetros abióticos obtidos durante amostragens de *D. expansus*, entre maio de 2007 e maio de 2008.

	2007				2008	
	Maio	Julho	Setembro	Dezembro	Março	Maio
Temperatura ambiente (°C)	22	03	19	27	20	20
Temperatura da água (°C)	11	07	14	18	17	15
pH	6,0	5,0	7,0	5,0	5,0	5,0

FIGURA 3: Distribuição por frequência de classes de comprimento (mm) de espécimes de *D. expansus* (Küster, 1856) coletados no rio Piraquara, Paraná, Brasil, entre maio de 2007 a maio de 2008.

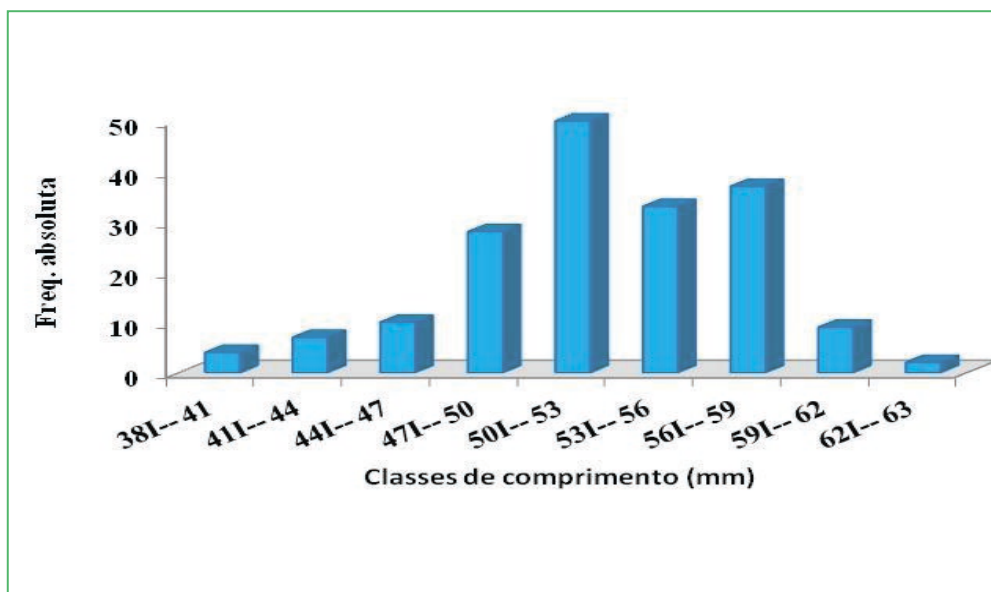
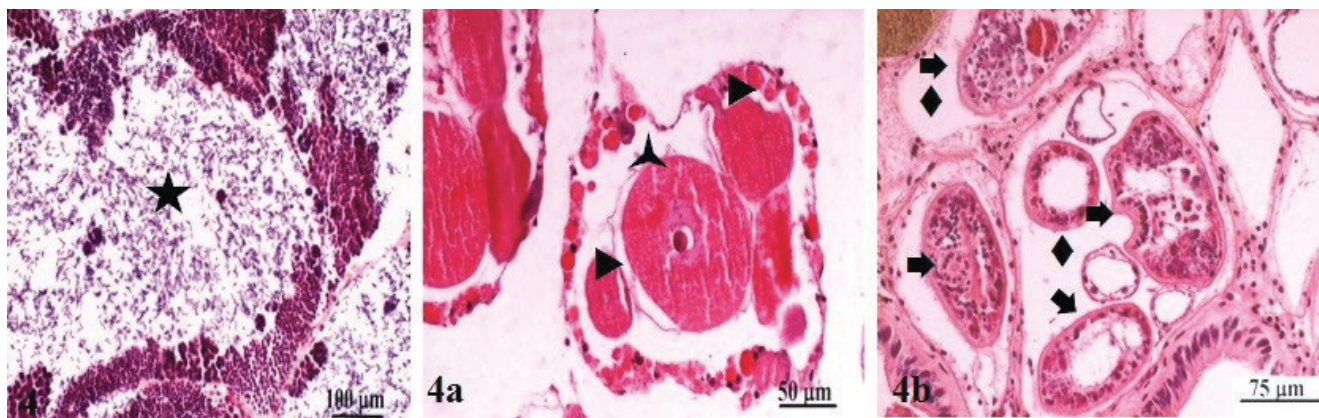


FIGURA 4: Aspecto histológico de gônada masculina e feminina com padrão de normalidade e gônada com alterações histológicas observadas em espécimes de *D. expansus* (Küster, 1856) coletados no rio Piraquara, Paraná, Brasil, entre maio de 2007 e maio de 2008. Folículo gonadal masculino (★); Folículo gonadal feminino (▲) com organização histológica característica, contendo ovócitos (▶) em diferentes estágios de desenvolvimento; Folículo gonadal (◆) com alterações histológicas (➡) que não permitem a identificação do sexo dos espécimes.



Com base nas características macroscópicas pré-determinadas, dos 94 marsúpios analisados, 34% (n = 32) apresentaram estágio I e 66% (n = 62) em estágio II. A porcentagem de marsúpios em estágio I e II nos períodos amostrais está representada na Figura 7. A maior porcentagem de indivíduos com marsúpios em estágio I foi observada em Maio/07, a partir da qual se observa aumento gradativo de marsúpios em estágio II

até outubro/07. A maior porcentagem de marsúpios em estágio II foi observada em março/08.

As brânquias de *D. expansus* são constituídas por duas demibrânquias (Figura 8). Cada demibrânquia é composta por duas lamelas fusionadas, formando quatro grandes superfícies de filtração. Nas lamelas observam-se os filamentos branquiais que apresentam cílios frontais e laterais. As brânquias não-marsupiais possuem

FIGURA 5: Frequência de machos, fêmeas e hermafroditas por classe de comprimento (mm), de espécimes de *D. expansus* (Küster, 1856) coletados no rio Piraquara, Paraná, Brasil, entre maio de 2007 e maio de 2008.

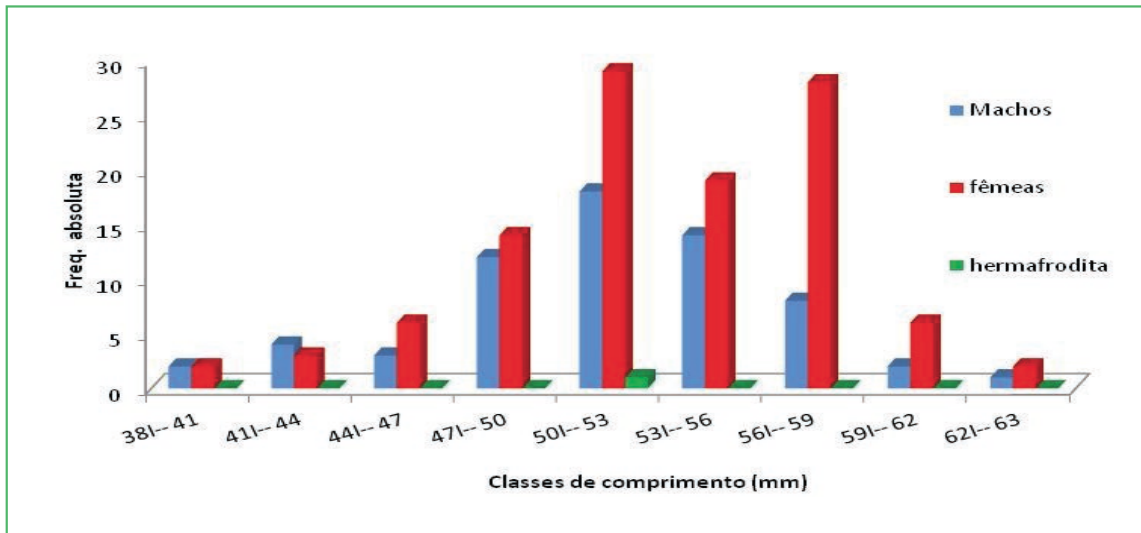
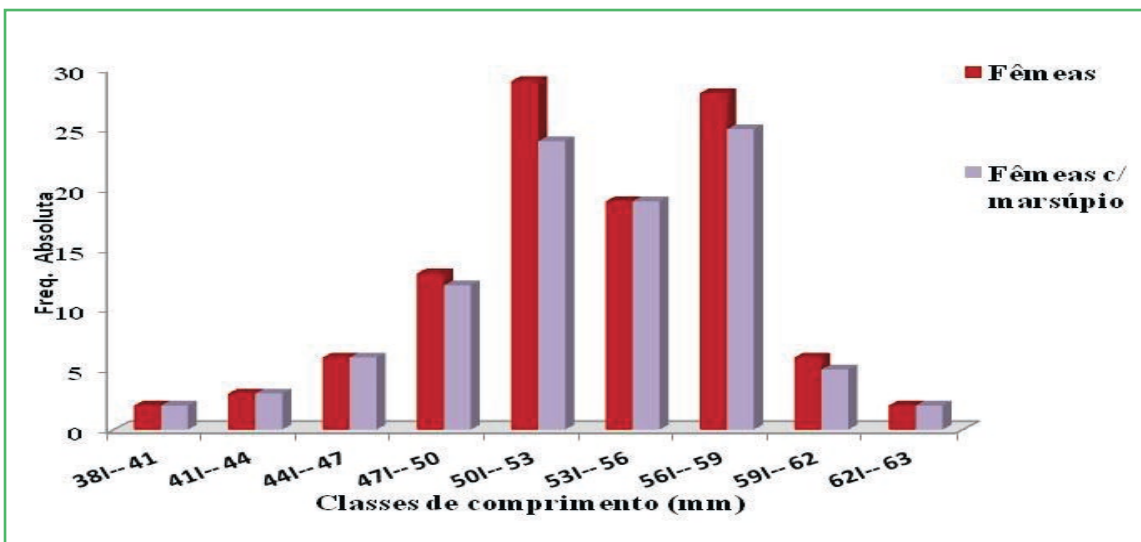


FIGURA 6: Distribuição por frequência de classes de comprimento (mm) de fêmeas com marsúpio de *D. expansus* (Küster, 1856), coletados entre maio de 2007 e maio de 2008, no rio Piraquara, Paraná, Brasil.



septos interlamelares, contínuos com o tecido lamelar, que apresentam espaços vasculares com hemócitos. Os septos lamelares formam os tubos primários de água alinhados verticalmente a cada lamela (Figura 9).

Nos exemplares de *D. expansus* examinados, o marsúpio está localizado na posição mediana das

demibrânquias internas (Figura 8). Em todas as demibrânquias de fêmeas com marsúpios foi observada a formação de septos interlamelares nas porções mais periféricas. Estes são formados a partir de proliferação do epitélio dos filamentos branquiais que se projetam para o interior do tubo de água primário, sofrendo fusão

FIGURA 7: Porcentagem de marsúpios em estágio I e II de *D. expansus* (Küster, 1856), coletados entre maio de 2007 a maio de 2008, no rio Piraquara, Paraná, Brasil.

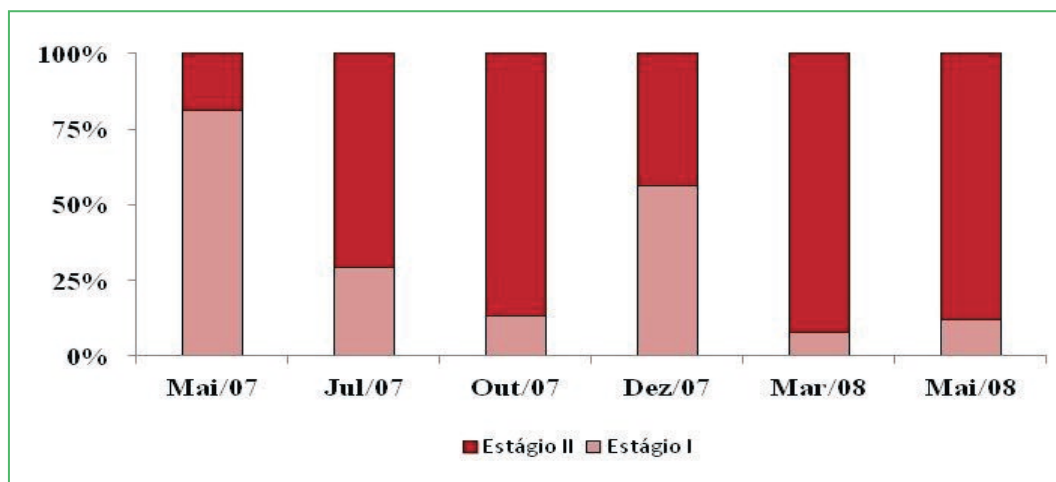
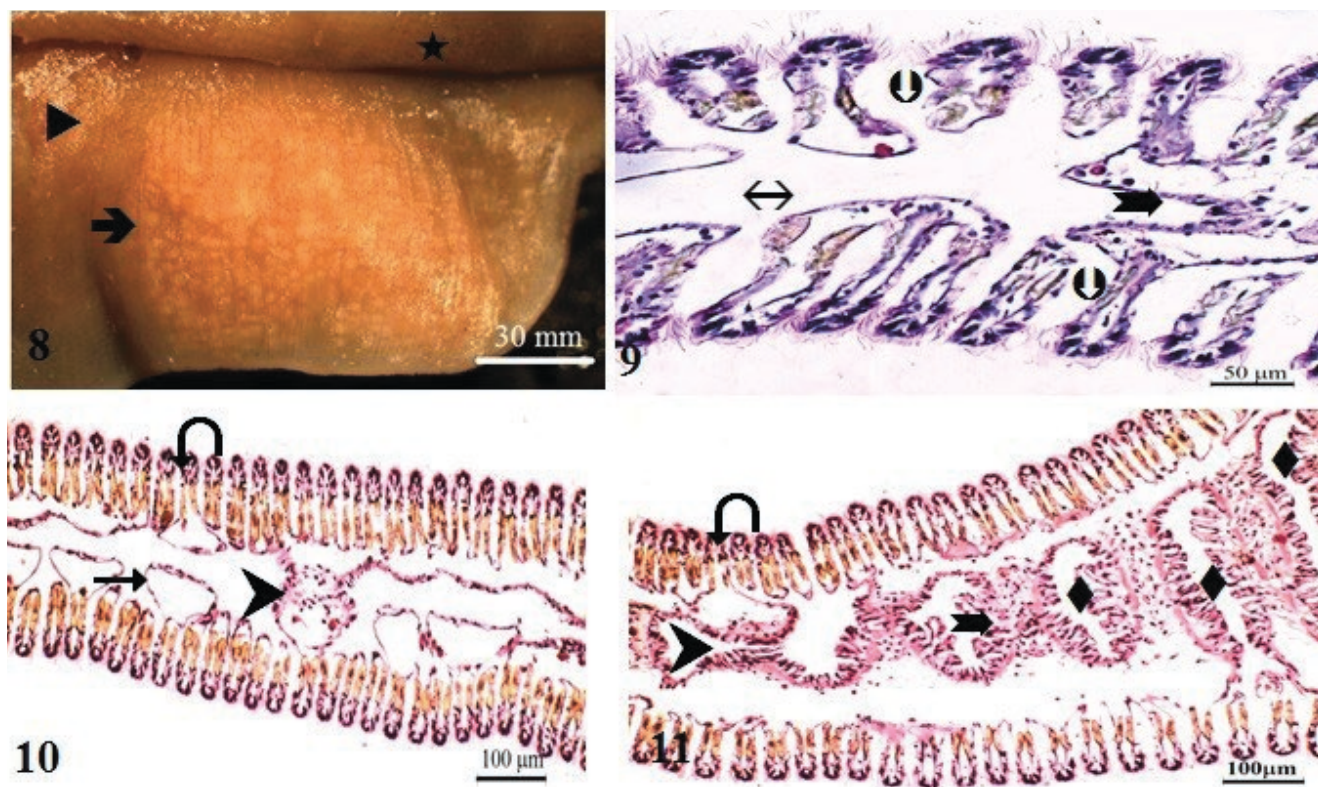


FIGURA 8 a 11: *Diplodon expansus* (Küster, 1856) coletado entre maio de 2007 e maio de 2008, no rio Piraquara, Paraná, Brasil. 8) Aspecto macroscópico das demibrânquias de uma fêmea. 9 a 11) Secção histológica longitudinal da demibrânquia interna. 9) Exemplar macho. 10) Exemplar fêmea. 11) Exemplar fêmea. Demibrânquia externa (★); Demibrânquia interna (▶); Marsúpio (➔); Óstio (⊖); Septo interlamelar (↔); Tubo primário de água (⇔); Filamentos branquiais (⊙); Proliferação tecidual nos septos interlamelares (→); Septos interlamelares em formação (▷); Câmaras de incubação (◆).



e originando os septos interlamelares (Figuras 10 e 11). Nestes septos ocorre formação de tecido de sustentação e proliferação do epitélio de revestimento, com aumento do número de células produtoras de glicoproteínas com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5 (Figura 12). Os espaços formados entre os septos lamelares dão origem as câmaras de incubação e dois tubos secundários de água, os quais são formados por extensões do septo interlamelar. Estes tubos são observados paralelos à superfície da lamela e se comunicam com o meio externo através do óstio (Figura 9). Marsúpios em estágio I apresentam grande quantidade de câmaras de incubação

em formação e câmaras sem a presença de gloquídeos (Figura 11).

Com o crescimento larval, as projeções do epitélio de revestimento sofrem distensão promovendo um aumento do espaço da câmara de incubação. Em marsúpios em estágio II se observam câmaras de incubação centrais com larvas em desenvolvimento, que se encontram ligadas ao epitélio e tubos secundários de água, bem delimitados, podem ser observados.

As gônadas de exemplares com marsúpio em estágio I, sem gloquídeos nas câmaras de incubação (Figura

FIGURA 12 a 15: *Diplodon expansus* (Küster, 1856) coletado entre maio de 2007 e maio de 2008, no rio Piraquara, Paraná, Brasil. 12) Seção histológica de septo interlamelar. 13 a 15) Seção histológica longitudinal da demibrânquia interna de fêmea. Tecido epitelial de revestimento com células secretoras (◄), com reação positiva ao Alcian Blue pH 2,5; (►) Tecido de sustentação; (→) Hemócitos; (◆) Camara de incubação vazia; (◆◆) Camara de incubação com larvas em desenvolvimento; (↔) Septos interlamelares; (◆) com Gloquídeos em desenvolvimento; Detalhe de gloquídeo em desenvolvimento (◆) aderido ao epitélio de revestimento (▼).

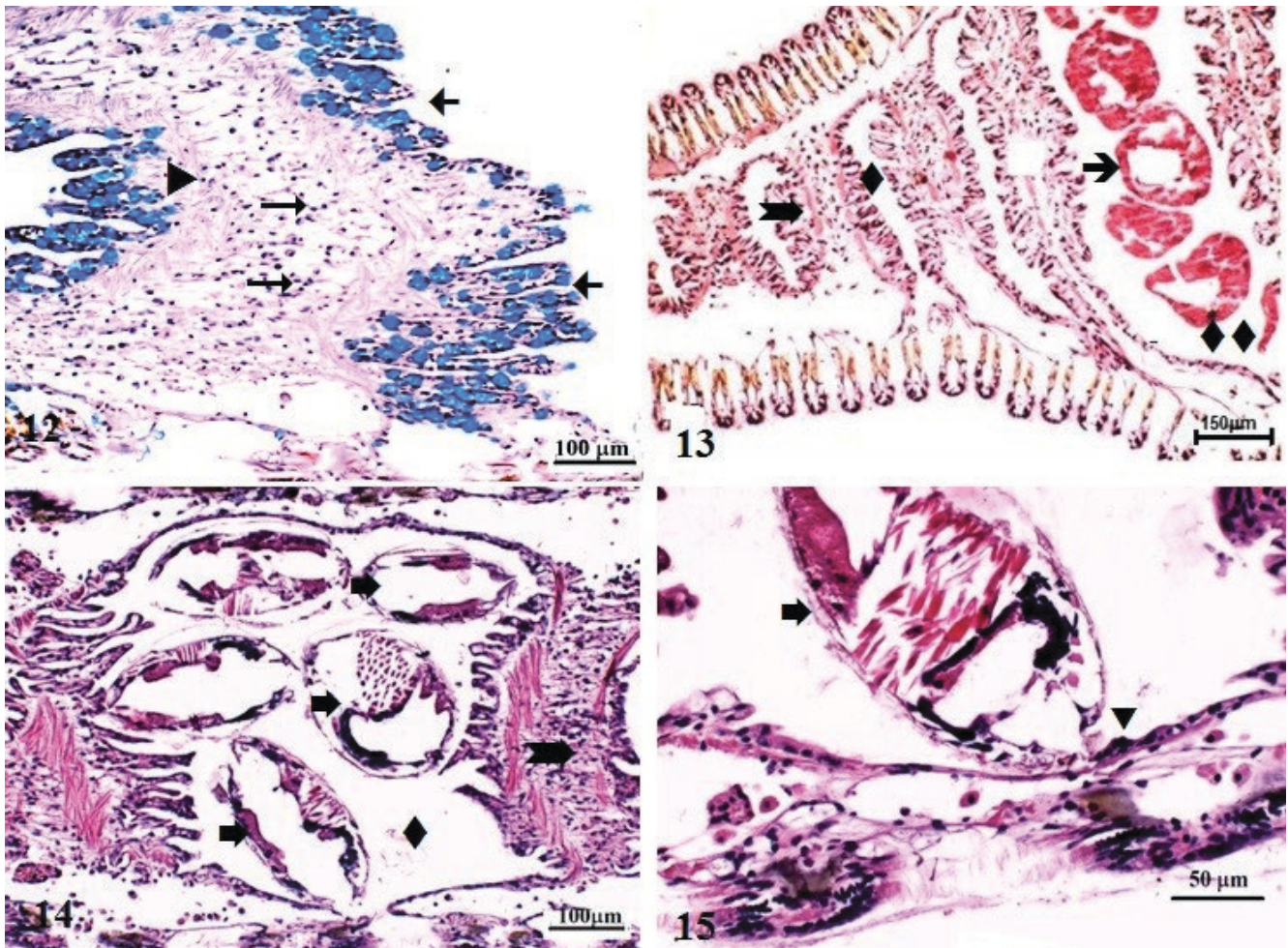
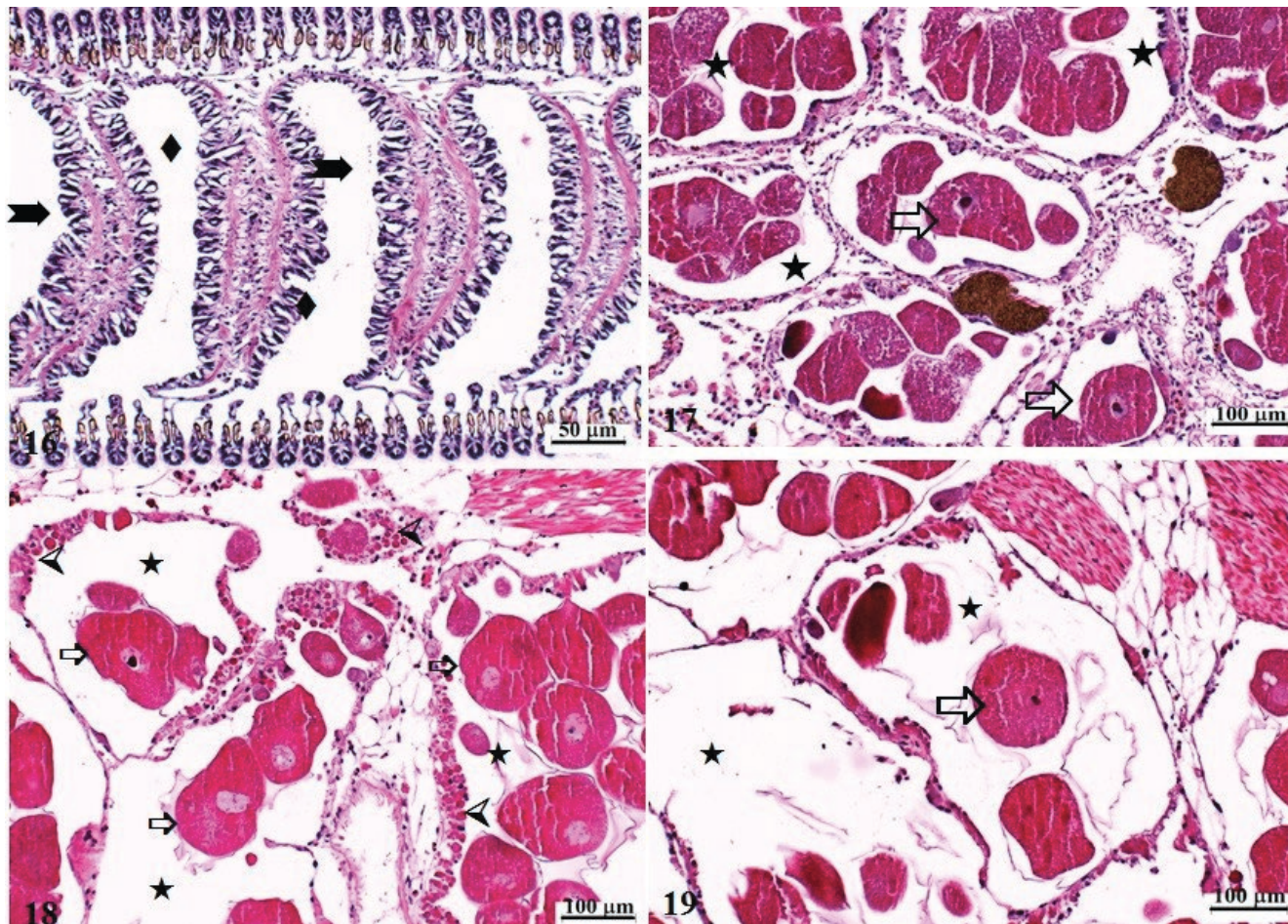


FIGURA 16 a 19: *Diplodon expansus* (Küster, 1856) coletado entre maio de 2007 e maio de 2008, no rio Piraquara, Paraná, Brasil. 16) Seção histológica de marsúpio vazio 17) Seção histológica de gônadas femininas de exemplares com marsúpio em estágio I. 18 e 19) Seção histológica de gônadas femininas de exemplares com marsúpio em estágio II. Camara de incubação (◆); Septos interlamelares (⇨); Folículo gonadal (★) com predomínio de ovócitos maduros (⇨); Folículo gonadal (★) com ovócitos em estágio inicial de desenvolvimento (◁); Ovócitos maduros (⇨); Folículo gonadal distendido (★) com ovócitos maduros na região central (⇨).



16), apresentam folículos gonadais com predomínio de ovócito em estágios finais de desenvolvimento folicular (Figura 17). Exemplares com marsúpio em estágio II apresentam gônadas com ovócitos em todos os estágios de desenvolvimento, porém se observa uma grande quantidade de ovócitos em estágio inicial de desenvolvimento folicular na parede dos folículos (Figura 18). Exemplares com marsúpios em estágio I também apresentaram gônadas com folículos dilatados, com ovócitos maduros na região central e a parede dos folículos distendidos apresentam escassos ovócitos em estágio inicial de desenvolvimento (Figura 19).

Discussão

Na amostra da população de *D. expansus* estudada, foi registrada classe modal com espécimes entre 50 a 53mm (n = 50). Estes valores são superiores aos observados por Meyer et al. (2010), que utilizando metodologia semelhante registraram, para a mesma localidade em 2006, classe modal com indivíduos entre 42 e 47mm. A diferença observada pode ser considerada como indicativo de que a população no local apresentou crescimento, que resultou no deslocamento da classe modal.

A proporção sexual de *D. expansus* no rio Piraquara permite demonstrar que esta é tipicamente dióica, e o indivíduo hermafrodita coletado pode ser considerado um evento ocasional, o que está de acordo com o observado para bivalves da família Hyriidae (COE, 1943; CURIAL; LANGE, 1974a; PEREDO; PARADA, 1984; HAGGERTY et al., 1995; BEASLEY et al., 2000; MEYER et al., 2010). A diferenciação sexual em bivalves límnicos, no entanto é bastante complexa, segundo Coe (1943), existe uma grande variedade de formas de diferenciação sexual que variam de espécies estritamente dioicas a hermafroditas funcionais, o que justifica a diferença observada por Avelar e Mendonça (1998), que descreveram *Diplodon rotundus gratus* como hermafrodita funcional.

O maior número de fêmeas observadas na amostra, também foi observado por Curial e Lange (1974a), que afirmam ser esta uma tendência em populações de moluscos dióicos, que se acentua à medida que a idade da população aumenta. No entanto, este resultado difere do observado para *Paxyodon syrmatophorus* Meuschen, 1781 por Beasley et al. (2000), o que permite inferir que existem variações na distribuição da proporção sexual em bivalves da família Hyriidae.

A ocorrência de alterações na organização tecidual da massa gonadal, registrada em baixa frequência na população estudada, não foi relatada para o gênero *Diplodon* em estudos que utilizaram técnicas histológicas para análise da massa gonadal (CURIAL; LANGE, 1975; PEREDO; PARADA, 1984; AVELAR; MENDONÇA, 1998). As alterações indicam semelhança com modificações causadas por parasitos, descritas na literatura como castrações parasitárias (LAFFERTY, 1993). Dentre os diferentes tipos de organismos que podem parasitar o filo Mollusca, os trematódeos causam lesões nas gônadas e redução da fecundidade (GRIZZLE; BRUNNER, 2007). No presente estudo, não foi possível a identificação dos agentes causadores das alterações, que devem ser foco de estudos específicos.

Segundo a classificação de Simpson (1900), *D. expansus* é considerado endobranchiae, com o marsúpio localizado nas demibrânquias internas. Em todos os exemplares da amostra, o marsúpio ocupa a posição mediana, o que está de acordo com o observado para

Diplodon chilensis (PARADA, et al., 1989). Alvarenga e Ricci (1979) observaram variações na posição dos marsúpios para *D. besckeanus* e Vale et al. (2005), ao analisarem diferentes espécies de família Hyriidae para a América do Sul e Austrália, demonstram que a posição dos marsúpios na demibrânquias pode apresentar variações inter e intraespecíficas.

A diferença no número de fêmeas com marsúpio e fêmeas, cuja região da demibrânquia interna não se diferenciou em marsúpios, não foi significativa ($p > 0,05$), podendo ser considerado que todas as fêmeas, com tamanho acima de 38mm, apresentaram marsúpios em diferentes estágios de desenvolvimento, ao longo de todas as coletas amostrais. A avaliação da ocorrência dos estágios de desenvolvimento indica um ciclo contínuo de desenvolvimento larval, com dois picos de desova, o primeiro entre maio e junho e segundo em outubro. Estes dados estão de acordo com o observado por Curial e Lange (1975) para *Diplodon D. expansus* no rio do Cerne, estado do Paraná e Avelar e Mendonça (1998) para *Diplodon rotundus gratus* no rio Pardo, estado de São Paulo e diferem de Jones et al. (1986), que afirmam que o pico de liberação larval ocorre tipicamente nos meses de maior temperatura para Uniãoidade de clima temperado. Segundo Parada et al. (1990), populações de uma mesma espécie podem apresentar diferenças nos ciclos reprodutivos em ambientes e em latitudes diferentes. Essas diferenças podem ser determinadas pelas diferenças físico-químicas dos ambientes, disponibilidade de nutrientes ou por características interespecíficas.

A organização anatômica e histológica das brânquias de *D. expansus* está de acordo com o descrito para Unionidae por Tankersley e Dimock (1992), Tankersley (1998) e Schwartz e Dimock (2001). As múltiplas funções das brânquias de bivalves límnicos estão amplamente discutidas na literatura (LEFEVRE; CURTIS, 1910; TANKERSLEY; DIMOCK, 1992; TANKERSLEY, 1998; SCHWARTZ; DIMOCK, 2001) no entanto, a formação, organização tecidual e características das câmaras de incubação não é descrita para o gênero.

As análises histológicas demonstraram que nas fêmeas em fase reprodutiva ocorre formação contínua

de septos interlamelares nas regiões mais periféricas da demibrânquia interna, o que produz novas câmaras de incubação. Esta formação contínua pode estar intimamente relacionada ao crescimento das brânquias, a partir de órgãos terminais indiferenciados descritos por Neumann e Kappes (2003), para diferentes gêneros de bivalves.

As análises das gônadas femininas dos exemplares, em diferentes estágios de desenvolvimento do marsúpio, demonstraram que mesmo em fêmeas com marsúpios vazios, ocorrem ovócitos em todos os estágios da ovogênese. Este resultado permite afirmar que os marsúpios são formados independentemente do estágio de desenvolvimento dos folículos gonadais.

Em *D. expansus* foi observado que marsúpios em diferentes estágios de desenvolvimento ocorrem em fêmeas ao longo de todo ano, com picos de marsúpios maduros em junho e outubro.

As análises histológicas permitem observar uma formação contínua de câmaras de incubação, o que indica que os marsúpios sejam estruturas permanentes em fêmeas na maturidade sexual.

O conjunto das análises apresentadas permite inferir que a população de *Diplodon expansus* no rio Piraquara apresenta uma estratégia reprodutiva que permite uma reprodução contínua, mas com picos de liberação dos gloquídeos.

Agradecimentos

Ao IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) pela licença de pesquisa na APA do Piraquara. Ao Programa de Iniciação Científica da Universidade Positivo. Ao Dr. Osmar Domaneschi, *In Memoriam*, pela identificação dos exemplares de *D. expansus*.

Referências

- ALVARENGA, L. C. F.; RICCI, C. N. Contribuição ao conhecimento dos gloquídeos do gênero *Diplodon* Spix, 1827: *D. besckeanus* (Dunker, 1849) (Bivalvia; Unionoidea; Hyriidae). **Publicações Avulsas Fundação Zoobotânica Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 4, p. 33-38, 1979.
- AVELAR, W. E. P.; MENDONÇA, S. H. S. T. Aspectos of gametogenesis of *Diplodon rotundus gratus* (Wagner, 1872) (Bivalvia, Hyriidae) in Brazil. **American Malacological Bulletin**, Washington, v. 14, n. 2, p. 157-163, 1998.
- BEASLEY, C. R.; TURY, E.; VALE, W. G.; TAGLIARO, C. H. Reproductive cycle, management and conservation of *Paxyodon symmatophorus* (Bivalvia; Hyriidae) from the Tocantins river, Brazil. **Journal Molluscan Studies**, London, v. 66, p. 393-402, 2000.
- BONETTO, A. A. Las almejas sudamericanas de la tribu Castaliini. **Physis**, Buenos Aires, v. 25, n. 69, p. 187-196, 1965.
- COE, W. R. Sexual differentiation in mollusks. Pelicypods. **Quartely Review of Biology**, Chicago, v. 18, p. 154-164, 1943.
- CURIAL, O.; LANGE, R. R. Hermafroditismo em *Diplodon delodontus expansus*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 17, p. 109-110, 1974a.
- CURIAL, O.; LANGE, R. R. Observações sobre a proporção de sexos em *Diplodon delodontus expansus*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 17, n.2, p.111-112, 1974b.
- CURIAL, O.; LANGE, R. R. Variações histológicas sazonais das gônadas do *Diplodon delodontus expansus* (Küster) (Mollusca, Unionidade). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.18, n. 1, p. 65-67, 1975.
- GRIZZLE, A. M.; BRUNNER, C. J. **Assessment of current information available for detection, sampling, necropsy, and diagnosis of diseased mussels**. 2007. Disponível em: <<http://www.outdooralabama.com/researchmgmt/State%20Wildlife%20Grants/Mussel%20Diseases.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2012.
- HAGGERTY, T. M.; GARNER, J. T.; PATTERSON, G. H.; JONES, L. C. JR. A quantitative assessment of the reproductive biology of *Cyclonaias tuberculata* (Bivalvia: Unionidae). **Canadian Journal of Zoology**, Montreal, v. 73, p. 83-88, 1995.
- JONES, H. A.; SIMPSON, R. D.; HUMPHREY, C. L. The reproductive cycle and glochidia of freshwater mussels (Bivalvia, Hyriidae) of the Macleay River, Northern New South Wales, Australia. **Malacologia**, Philadelphia, v. 27, p. 185-202, 1986.
- LAFFERTY, K. D. Effects of parasitic castration on growth, reproduction and population dynamics of the marine snail *Cerithidea californica*. **Marine Ecology Progress Series**, Oldendorf, v. 96, p. 229-237, 1993.
- LEFEVRE, G.; CURTIS, W. C. The Marsupium of the Unionidae. **Biology Bulletin**, Massachusetts, v. 19, p. 31-34, 1910.
- MANSUR, M. C. D.; SCHULZ, C.; GARCES, L. M. M. P. Moluscos Bivalves de água doce: identificação dos gêneros do sul e leste do Brasil. **Acta Biologica Leopoldensia**, São Leopoldo, v. 9, n. 2, p. 181-202, 1987.
- MANSUR, M. C. D.; SILVA, M. G. O. Description of glochidia of five species of freshwater mussels (Hyriidae: Unionidae) from South America. **Malacologia**, Philadelphia, v. 41, n. 2, p. 475-483, 1999.
- MEYER, A. A. N.; OLIVEIRA, E.; MARTIM, J. Classes de comprimento e proporção sexual em *Diplodon expansus* (Mollusca, Bivalvia, Hyriidae) no rio Piraquara, Paraná, Brasil. **Iheringia, Série Zoológica**, Porto Alegre, v. 100, n. 4, p. 329-335, 2010.
- NEUMANN, D.; KAPPES, H. On the growth of bivalve gills initiated from a lobule-producing budding zone. **Biology Bulletin**, Massachusetts, v. 205, p. 73-82, 2003.

- PARADA, E.; PEREDO, S.; GALLARDO, C. Tácticas reproductivas y dinámica poblacional de *Diplodon chilensis* (Gray, 1828) (Bivalvia; Hyriidae). *Revista Chilena de Historia Natural*, Santiago, v. 63, p. 23-35, 1990.
- PARADA, E.; PEREDO, S.; LARA, G.; ANTONIN, F. Contribución al conocimiento de los Hyriidae chilenos. *Boletín de La Sociedad de Biología, Concepción*, v. 60, p. 173-182, 1989.
- PEREDO, S.; PARADA, E. Gonadal organization and gametogenesis in the fresh-water mussel *Diplodon chilensis chilensis* (Mollusca: Bivalvia). *The Velinger*, California, v. 27, n. 2, p. 126-133, 1984.
- PIMPÃO, M. D.; MANSUR, M. C. D.; BERGONCI, E. A.; BEASLEY, C. R. Comparative morphometry and morphology of glochidial shells of Amazonian Hyriidae (Mollusca: Bivalvia: Unionida). *American Malacological Bulletin*, Maryland, v. 30, n. 1, p. 73-84, 2012.
- RICCI, C. N.; ALVARENGA, L. C. F.; COELHO, C. S. Gloquídios de *Diplodon* Spix, 1827: *D. (D.) multistriatus* (Lea, 1831) (Mollusca, Bivalvia, Hyriidae). *Boletim do Museu Nacional*, Rio de Janeiro, v. 344, p. 1-10, 1990.
- SCHWARTZ, M.; DIMOCK, R. V. JR. Ultrastructural evidence for nutritional exchange between brooding Unionid mussels and their glochidia larvae. *Invertebrate Biology*, California, v. 120, p. 227-236, 2001.
- SIMPSON, C. T. Synopsis of the Naiades, or Pearl freshwater mussels. *Proceedings of the United States National Museum*, Washington, v. 2, n. 1205, p. 501-1275, 1900.
- TANKERSLEY, R. A. Multipurpose gills effect of larval brooding on the feeding physiology of freshwater Unionid mussels. *Invertebrate Biology*, California, v. 115, n. 3, p. 243-255, 1998.
- TANKERSLEY, R. A.; DIMOCK, R. V. JR. Quantitative analysis of the structure and function of the marsupial gills of the freshwater mussels *Anodonta cataracta*. *Biology Bulletin*, Massachusetts, v. 182, p. 145-154, 1992.
- VALE, R. S.; BEASLEY, C. R.; TAGLIARO, C. H.; MANSUR, M. C. The glochidium and marsupium of *Castalia ambigua* Lamarck, 1819, from northern Brazil. *American Malacological Bulletin*, Maryland, n. 20, p. 43-48, 2005.