



Indução a desova de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) através de métodos físico-químicos em condições controladas

Physical and chemical induced spawning of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) under controlled conditions

Rafael Anaisce das CHAGAS*, Marko HERRMANN

Instituto Socioambiental e dos Recursos Hídricos, Programa Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais, Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

*Email: rafaelanaisce@hotmail.com

Recebido em 1 de março de 2016

Resumo - O desenvolvimento da ostreicultura no estado do Pará depende da produção e da coleta de sementes no meio ambiente, que não é contínua ao longo do ano, na área estudada. O que torna necessário a indução à desova das ostras em condições laboratoriais. Neste estudo, foram avaliados os seguintes métodos simples e de baixo custo: (1) choques físico-químicos, alterando a temperatura e a salinidade da água, injeção de solução de (2) cloreto de magnésio hexahidratado e (3) de nicotina. Durante um período de nove horas as ostras não responderam a nenhum dos estímulos, apresentando apenas contrações musculares, sem a liberação dos gametas. Esse fato ocorreu, possivelmente, pelas seguintes causas: estresse por fatores externos, a ausência de aeração constante e o período curto do experimento. Vale ressaltar que, foi a primeira vez que se testou os químicos utilizados neste estudo, em tentativas de indução à reprodução de bivalves. Almejando uma eficácia dos métodos utilizados neste estudo, sugere-se (1) uma aeração constante durante todo o experimento para evitar estresse causado pela hipóxia, (2) assegurar que as ostras não estão expostas as vibrações externas, causadas por movimento ao redor dos recipientes e (3) repetir o experimento com um tempo experimental mais longo e (4) em outras épocas do ano quando as gônadas podem estar em fases mais avançadas de maturação.

Palavras-Chave: ostreicultura, reprodução, liberação dos gametas.

Abstract - The development of oyster culture in the state of Pará depends on the production of seeds and their collection in the natural environment, which does not occur continuously throughout the year in the area of this study. Thus, it is required to induce spawning of oysters in laboratory conditions. In this study, was evaluated by the following simple and economical methods: (1) Physical and chemical shocks, changing the temperature and salinity of the water, injection of (2) magnesium chloride hexahydrate and (3) nicotine solution. Over a period of nine hours oysters not respond to any stimulation, presenting merely muscle contractions, lacking gamete releases. This fact occurred, following causes external stress factors, the absence of constant aeration and the short period of the experiment. It is noteworthy that, it was the first time that there were used these chemicals to induced spawning reproduction of oysters. Craving efficacy of used methods in this study, it is suggested (1) a constant aeration throughout the experiment to prevent stress caused by hypoxia, (2) ensure that oysters are not exposed to external vibrations, produced by movement around the experimental tanks and (3) repeating the experiment with a longer experimental time and (4) in other periods of the year, where gonads may be in more mature phase.

Keywords: oyster farming, breeding, release of gametes.

Trabalho financiado parcialmente pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica-PIBIC/CNPq e pelo Instituto Socioambiental e dos Recursos Hídricos da UFRA.



Introdução

A crise global no setor pesqueiro tem afetado a qualidade de vida das comunidades litorâneas devido à redução dos estoques naturais (Araña, 2000; Lavander et al., 2009). Nesse contexto, a aquicultura surge como uma alternativa factível, pois se apresenta como uma fonte confiável de produto fresco e saudável (Bardach, 1968; Buys, 2007). A malacocultura, com destaque a ostreicultura, por ser um dos ramos da aquicultura menos impactante repercute positivamente na conservação dos ecossistemas, contribuindo direta e indiretamente à geração de emprego e renda às comunidades litorânea (Machado, 2002; Shumway et al., 2003).

Há uma diversidade de ostras com potencial para a aquicultura disponível em regiões tropicais e subtropicais, porém poucas espécies têm sido cultivadas e em apenas alguns países tropicais (Angell, 1986). O principal entrave para o desenvolvimento da ostreicultura é a disponibilidade de suficientes sementes em boa qualidade, pois a captação de sementes de ostras nativas no ambiente natural se dá através do uso de diversos tipos de coletores artificiais, no entanto atende apenas a demanda em nível artesanal (Lavander et al., 2008; Silva et al., 2014). Esses autores sugerem que se faz necessária uma produção de sementes através de reprodutores em condições laboratoriais controladas para suprir a necessidade em escala comercial da atividade.

Diversos autores já testaram metodologias acerca de indução de bivalves marinhos, dentre as metodologias aplicadas, os principais experimentos utilizam a variação de temperatura e salinidade na tentativa de indução de bivalves, dentre eles *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Lavander et al., 2009), *Pteria hirundo* (Linnaeus, 1758) (Albuquerque et al., 2012), *Crassostrea tulipa* (Lamarck, 1819) (Areias, 2012), *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) (Areias, 2012), *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Lavander et al., 2008; Velasco et al., 2010; Silva et al., 2014). Melo et al. (2015) além de utilizar a variação da temperatura em seu experimento de indução de *C. gigas*, utilizou dois métodos químicos, citocalasina-B (CB) e 6-dimetilaminopurina (6-DMAP).

Partindo do exposto, o objetivo deste trabalho é a utilização de métodos físico-químicos simples e econômicos como formas alternativas de indução reprodutiva da ostra-do-mangue *C. rhizophorae*, e deste modo, tornar possível a oferta de sementes de ostras em qualquer período do ano, podendo ampliar os cultivos e abastecer o comércio de moluscos bivalves constantemente.



Material e Métodos

O experimento foi realizado na ostreicultura da Associação de Agricultores, Pecuaristas e Aquicultores (Asapaq) de Santo Antônio de Urindeua, situada às margens do rio Urindeua (0°41'50.39"S, 47°22'12.45"O), município de Salinópolis, estado do Pará, Brasil, em outubro de 2013. Foram coletadas aleatoriamente 48 ostras maduras entre 49 e 97 mm de comprimento total (Nascimento et al., 1980: primeira maturação de gônadas masculinas e femininas com 19 mm e 40 mm, respectivamente) durante a maré-baixa, mensurando a temperatura superficial da água (°C) com termômetro digital e a salinidade com refratômetro. Após a coleta, procedeu-se a limpeza dos bivalves, removendo os organismos incrustantes (*biofouling*) aderidos à superfície das conchas conforme Chagas (2016), sendo posteriormente, efetuadas a morfometria dos indivíduos para sua classificação por tamanho.

Para a execução do experimento, as ostras foram separadas em grupos de oito indivíduos e emersos em seis tanques de 10 L, cada um, contendo água oriunda do rio Urindeua de salinidade de 36 e temperatura de 27,8°C. A liberação dos gametas de *C. rhizophorae* foi estimulada por seis métodos físico-químicos, usando como base os valores das variáveis ambientais (temperatura e salinidade) mensuradas previamente.

Para induzir a desova de *C. rhizophorae* foram implementados os seguintes métodos: (1) elevação e (2) redução da temperatura por 5°C, (3) elevação e (4) redução da salinidade por 5, (5) injeção de solução de cloreto de magnésio hexahidratado ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) 0,5 mmol/L e (6) nicotina ($C_{10}H_{14}N_2$) 0,08 mmol/L, ambas na massa visceral das ostras. As ostras experimentais foram observadas macroscopicamente, durante nove horas interrompidas, para registrar eventos de liberação dos gametas causados pelas induções. A escolha dos dois químicos utilizados deu-se pelo principal objetivo deste trabalho, o de sugerir formas simples e baratas de indução à desova das ostras.

Resultados e Discussão

As ostras não responderam aos estímulos físico-químicos utilizados na indução reprodutiva, apresentando apenas contrações dos músculos, sem a liberação dos gametas. Contudo, a não ocorrência de desovas ocorreu, possivelmente, por vários fatores, tais como, (1) a vibração constante no local do experimento, o que pode ter causado estresse anormal nas ostras, (2) a ausência de aeração constante, o que também, pode ter causado estresse por hipóxia nos bivalves, (3) período muito curto de experimento e (4) alto percentual de indivíduos imaturos no mês de outubro, de acordo com os estágios de maturação anual para ostras do gênero *Crassostrea* encontrada por Paixão et al. (2013) em seu estudo na mesma localidade deste experimento. Vale



ressaltar que, foi a primeira vez que foram testados os químicos utilizados neste estudo em tentativas de indução de bivalves.

Aji (2011) comenta que a desova em moluscos bivalves, no meio ambiente, pode ser induzida por diversos fatores ambientais tais como: a temperatura, a salinidade, a luminosidade, as fases lunares, a concentração de oxigênio dissolvido na água, o pH, o movimento das correntes marinhas e outros estímulos físicos e a presença de certos componentes químicos na água. Segundo Helm et al. (2004), indução da desova pode ser estimulada pela presença de esperma na água ou pela combinação dos fatores acima mencionados.

Na literatura disponível sobre indução a desovas de bivalves encontram-se referências acerca de diversos químicos, dentre eles a aplicação de hidróxido de amônia (NH_4OH), de cloreto de potássio (KCl) (Boudry, 2008), citocalasina-B (CB), 6-dimetilaminopurina (6-DMAP) (Melo et al., 2015) peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Areias, 2012) e serotonina ($\text{N}_2\text{OC}_{10}\text{H}_{12}$) (Devauchelle et al., 1998). Todavia, qualquer um dos métodos químicos aplicados por injeção pode ocasionar a morte do animal, quando mal aplicada a injeção, pois esta pode atingir as vísceras ou o coração (Aji, 2011).

Areias (2012) comenta que atualmente o uso de serotonina como indutor químico neurotransmissor na desova de bivalves é o químico mais eficaz, apresentando resultados satisfatórios em ostras do gênero *Crassostrea*, dentre elas *C. gigas* e *C. virginica*. O que inviabiliza a utilização deste químico em indução de ostras é o valor de compra elevado, bem superior aos demais químicos.

Conclusões

O presente estudo contribui para o desenvolvimento de novas técnicas de indução da desova de ostras por cloreto de magnésio hexahidratado e nicotina, verificando a possibilidade de proporcionar uma constância na disponibilidade de sementes durante o ano todo aos ostreicultores. Contudo esta técnica carece ser melhor estudada.

Sugere-se, almejando uma eficácia nas induções pelos métodos utilizados nesse experimento, (1) oxigenar a água, visto que, a hipóxia causa o estresse nas ostras, (2) assegurar que as ostras não estão expostas as vibrações causadas por movimento humano em vigas de madeira, (3) repetir o experimento com um tempo experimental mais longo e (4) em outras épocas do ano onde as gônadas podem estar em estações mais maduras.

Além desses, sugere-se paralelamente, a indução por serotonina, por ser mais eficaz, de modo que seja possível aferir comparações mais precisas sobre os métodos utilizados, porém implicará um custo bem superior. Sugere-se ainda, que devem ser efetuados estudos no sentido de



verificar o eventual efeito dos indutores nas larvas das ostras.

Agradecimentos

Agradecemos ao apoio recebido pela Associação de Agricultores, Pecuáristas e Aquicultores (Asapaq) de Santo Antônio de Urindeua, especialmente ao Sr. Antônio Ciriaco Sobrinho, Miro, Tito e Dona Maria. Nós também estamos muito gratos ao Pró-Reitor de Ensino, Prof. Dr. Marcel Nascimento, da Universidade Federal Rural da Amazônia (Ufra), pelo apoio logístico. Ademais, nossos agradecimentos são expressos pelo apoio durante a execução do experimento, especialmente às discentes Brenda Silva e Ana do Vale.

Referências

- Aji, L.P. (2011). Review: Spawning induction in bivalve. *Jurnal Penelitian Sains*, 142: 1-4.
- Albuquerque, M.C.P., Ferreira, J. F., Salvador, G. C., & Turini, C. (2012). Influência da temperatura e da salinidade na sobrevivência e crescimento de larvas da ostra perliífera *Pteria hirundo*. *Boletim do Instituto de Pesca*, 383: 189-97.
- Angell, C.L. (1986). The Biology and Culture of Tropical Oysters. *Iclarm Studies and Reviews 13. Oysters*. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Araña, L.A.V. (2000). *Modos de apropriação e gestão patrimonial de recursos costeiros: estudo de caso sobre o potencial e os riscos do cultivo de moluscos marinhos na Baía de Florianópolis* [Tese de Doutorado Interdisciplinar em Ciências Humanas]. Florianópolis-SC: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).
- Areias, D.L.L. (2012). *Efeito da salinidade e temperatura no assentamento da ostra Crassostrea gasar (Adanson, 1757) e indução da desova da ostra Crassostrea gigas (Thundberg, 179)* Porto: Universidade de Porto.
- Bardach, J.E. (1968). Aquaculture. *Science*, 1613846: 1098-106.
- Boudry, P. (2008). *Review on breeding and reproduction of european aquaculture species. Pacific oyster (Crassostrea gigas)*. Infremer, France. Acessado em: 19 de fevereiro de 2016. Disponível em: www.aquabreeding.eu.
- Buys, B. (2007). Mar brasileiro é rico em diversidade de espécies, mas os estoques são escassos. *Inovação UNIEMP*, 32: 12-15.
- Chagas, R.A.(2016). *Biofouling no cultivo da ostra-do-mangue Crassostrea rhizophorae (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) em um estuário amazônico* [Monografia em Bacharel em



Engenharia de Pesca]. Belém - PA: Universidade Federal Rural da Amazônia.

Devauchelle, N., Irard, J.P., & Cosson, J. (1998). *Waves characteristics oi oyster, Crassostrea gigas, sperm obtained after hormonally induced spawning in sea water*. Acessado em: 19 de fevereiro de 2016 Disponível em: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00049/16024/13485.pdf>.

Helm, M.M., Bourne, N., & Lovatelli, A. (2004). *Hatchery culture of bivalves. A practical manual*. FAO Fisheries Technical Paper: Rome, FAO.

Lavander, H., Oliveira, R., Rodrigues, S., Amorim, A., Souza, A., Oliveira, L., & Peixoto, S. (2009). Análise de diferentes metodologias para indução a desova do marisco *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) em laboratório. In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão - Jepex (pp. 3). Recife: Anais do IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão - Jepex.

Lavander, H.D., Junior, L.O.C., Oliveira, R.L.M., Santos, L.B.G., Neto, S.R.S., Souza, A.B., & Gálvez, A.O. (2008). Diferentes métodos de indução a reprodução da ostra nativa *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) em laboratório. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 33: 12-14.

Machado, M. (2002). *Maricultura como base produtiva geradora de emprego e renda: estudo de caso para o Distrito de Ribeirão da Ilha, no Município de Florianópolis – SC – Brasil* [Tese Doutorado em Engenharia de Produção]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Melo, E.M.C., Gomes, C.H.A.M., Silva, F.C., Sühnel, S., & Melo, C.M.R.D. (2015). Chemical and physical methods of triploidy induction in *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). *Boletim do Instituto de Pesca*, 414: 889-98.

Nascimento, I.A., Silva, E. M., Ramos, M.I.S., & Santos, A.E. (1980). Desenvolvimento da gônada primária em ostras de mangue *Crassostrea rhizophorae*: idade e tamanho mínimos de maturação sexual. *Ciência e Cultura*, 326: 736-42.

Paixão, L., Ferreira, M.A., Nunes, Z., Fonseca-Sizo, F., & Rocha, R. (2013). Effects of salinity and rainfall on the reproductive biology of the mangrove oyster (*Crassostrea gasar*): Implications for the collection of broodstock oysters. *Aquacultur*, 380: 6-12.

Shumway, S.E., Davis, C., Downey, R., Karney, R., Kraeuter, J., Parsons, J., Wikfors, G. (2003). Shellfish aquaculture in praise of sustainable economies and environments. *World aquaculture*, 34:15-18.

Silva, F.B.A., Chagas, R.A., Vale, A.V.P., & Herrmann, M. (2014). Reprodução induzida da ostra-



do-mangue *Crassostrea rhizophorae* através de alterações físico-química *in vitro*. In: XXX Congresso Brasileiro de Zoologia (p. 824). Porto Alegre - RS: Anais do XXX Congresso Brasileiro de Zoologia.

Velasco, L.A., Vega, D., Acosta, E., & Barros, J. (2010). Reproducción artificial de la ostra del mangle *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828 en el Caribe Colombiano. *Revista Intropica*. 5: 47-56.