

Manutenção e reprodução de *Anomalocardia brasiliana* em condições laboratoriais

Henrique D. Lavander¹, Sérgio R. da Silva Neto¹, Steves C. Sobral¹,
Priscilla C. M. de Lima¹, Mariana G. do Rêgo¹ & Alfredo O. Gálvez¹

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil. E-mail: henriquelavander@hotmail.com; srsnmt@hotmail.com; steves_@hotmail.com; pri.c.maciell@hotmail.com; mari_rego03@hotmail.com; alfredo_oliv@yahoo.com

RESUMO

O presente estudo analisou as taxas de filtração e a ingestão do bivalve *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Veneridae) e avaliou sua reprodução em laboratório. Os exemplares foram coletados na praia do Mangue Seco, 7°49'39.80"S e 34°50'13.55"O Pernambuco, Brasil. Para avaliar a taxa de filtração e ingestão, foram realizados três experimentos independentes: Experimento 1 - com presença de luz (2 mil Lux) e ausência de luz; Experimento 2 - com três temperaturas distintas 23,5, 27 e 30 °C; Experimento 3 - com salinidades diferentes 20, 25, 30 e 35 g L⁻¹. As "desovas" foram testadas através da manipulação da temperatura com adição de microalgas e gametas no tratamento por indução e sem manipulação das variáveis da água no tratamento por desova espontânea. A espécie apresentou maior atividade de filtração e ingestão na ausência de luz, em temperatura de 27 °C, e na salinidade 30 g L⁻¹. Constatou-se não haver diferença significativa entre a reprodução por indução e espontânea, em relação ao número de espécimes que liberaram seus gametas mas as "desovas" espontâneas apresentaram uma quantidade maior de ovos e larvas. Os resultados obtidos na fisiologia alimentar e na reprodução da espécie, podem contribuir para melhorar a tecnologia de manutenção de reprodutores em laboratório e a produção de sementes desta espécie, visando à maricultura.

Palavras-chave: Bivalve, desova, fisiologia alimentar, Veneridae

Maintenance and reproduction of Anomalocardia brasiliana under laboratory conditions

ABSTRACT

This study examined the filtration and ingestion rates from the Veneridae *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) and evaluated the efficiency of reproduction in laboratory. Specimens were collected on Mangue Seco beach, Pernambuco, Brazil. To evaluate the filtration and ingestion rates, experiments were carried out separately: the presence of light (2000 Lux) and absence of light, with three different temperatures (23.5, 27 and 30 °C), and different salinities (20, 25, 30 and 35 g L⁻¹). Spawning was tested by manipulating temperature with the addition of microalgae and gametes in induction treatment and without manipulating water variables by spontaneous spawning treatment. The most active filtration and ingestion for the species occurred in the absence of light, at temperature of 27 °C, and salinity of 30 g L⁻¹. It was found that there is no significant difference between the spontaneous and induction of spawning, however the spontaneous spawning showed a more significant amount of eggs and larvae. These results may contribute to the technology of maintenance breeding under laboratory conditions and seed production of this species for use in culture.

Key words: Bivalve, spawning, nutritional physiology, Veneridae

Introdução

O molusco tropical *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Veneridae) conhecido, entre outros nomes, por “berbigão” (Araújo, 2001; Boehs et al., 2008; Resgalla & Piovezan, 2009), “vôngole”, “maçunim” ou “chumbinho” (Boehs et al., 2008) ou simplesmente “marisco”, está distribuído desde o Mar do Caribe, em Guadalupe, até a América do Sul no Uruguai, ocorrendo em todo o litoral brasileiro (Rios, 1994). Destaca-se entre os bivalves marinhos do Brasil por se tratar de uma das espécies mais exploradas comercialmente pela pesca artesanal, apresentando ainda grande potencial para a maricultura (Boehs et al., 2010).

Em Pernambuco, *A. brasiliana* é encontrada principalmente no litoral norte, onde sua captura é uma atividade tradicional de grande importância econômica e social visto que diversas famílias dependem de sua extração para comercialização e consumo (El-Deir, et al., 2009).

É osmorreguladora (eurihalina), isto é, capaz de tolerar grandes variações na salinidade do ambiente, e euri térmica, já que suporta uma ampla faixa de variação de temperatura; adapta-se bem às zonas intermareais em sedimentos arenosos de enseadas, baías e estuários (Narchi, 1972; Schaeffer-Novelli, 1976; Cantera, 1991; Boehs et al., 2008).

A. Anomalocardia brasiliana, tal como a maioria dos demais bivalves, alimenta-se filtrando as partículas em suspensão presentes na água (Narchi, 1972). Em uma unidade de tempo o volume de água filtrada, livre de partículas, é denominado taxa de filtração; por sua vez, taxa de ingestão é definida como o número de células de algas ou partículas que um organismo consome por unidade de tempo (Rajesh et al., 2001; Jarnegren & Altin, 2006).

Alguns estudos enfatizam a importância de diversos fatores como temperatura, fotoperíodo, pH e salinidade sobre as taxas fisiológicas dos moluscos bivalves (Rajesh et al., 2001; Jarnegren & Altin, 2006; Loayza-Muro & Letts, 2007; Resgalla & Piovezan, 2009; Raghavan, 2011).

Estudos realizados em condições de laboratório podem fornecer informações importantes sobre a taxa de filtração, em resposta a diversos fatores ambientais; esses resultados podem ser usados para prever o desempenho dos estoques naturais e para verificar quais são as melhores condições para sua manutenção em laboratório (Laing, 2004). Isto pode contribuir para melhorar a tecnologia de reprodução desta espécie em laboratório.

Muitos pesquisadores vêm desenvolvendo métodos para melhorar a produção de sementes de moluscos bivalves através da reprodução em laboratório (Soria et al., 2010). A manipulação da temperatura (De La Roche et al., 2002), administração de microalgas (Farias et al., 1998), aplicação de serotonina (Mouëza et al., 1999), adição de gametas na água, exposição ao ar e água do mar esterilizada com ultravioleta (Da Costa et al., 2010), estão entre os estímulos que podem ser aplicados isoladamente ou em combinação (Velasco et al., 2007).

A importância em se adquirir conhecimento sobre a reprodução de espécies nativas de moluscos bivalves em laboratório, está relacionada com a preocupação em se efetuar

a exploração e o manejo racional desses recursos naturais, além de contribuir para o cultivo sustentável. O presente estudo teve por objetivo avaliar a influência da luz, temperatura e salinidade na taxa de filtração e ingestão de reprodutores e identificar o método mais eficiente para obtenção de gametas de *A. brasiliana* em laboratório.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Maricultura Sustentável, no Departamento de Pesca e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, cujos exemplares de *A. brasiliana* foram coletados na praia de Mangue Seco, litoral norte de Pernambuco (Brasil) nas coordenadas geográficas 07° 50' 22, 6" S e 034° 50' 39,4" W.

Em relação aos experimentos com taxas de filtração e ingestão, foram coletados 190 exemplares entre agosto e novembro de 2011. Para os experimentos de liberação de gametas foram realizadas quatro coletas entre setembro e dezembro de 2011 e duas coletas em setembro e em novembro de 2012, capturando-se 400 mariscos em cada mês, totalizando 2.400 exemplares, os quais foram transportados em sacolas térmicas até o laboratório onde foram submetidos a uma limpeza com escovação e imersão em água doce com solução de hipoclorito a 5 ppm por 20 min. Os indivíduos permaneceram em observação durante 48 h em tanque com água do mar filtrada por luz ultravioleta, aeração constante, salinidade de $28 \pm 0,5$ g L⁻¹ e temperatura de $27 \pm 0,68$ °C.

Todos os 190 exemplares utilizados foram mensurados para os experimentos de taxas de filtração e ingestão e 80 exemplares de cada mês para os experimentos de reprodução considerando-se as medidas de comprimento (máxima dimensão entre a região ântero - posterior), altura (máxima dimensão entre o umbo e a borda da concha) segundo Gosling (2003), com um paquímetro.

Visando avaliar a influência da luz na taxa de filtração e a ingestão de *A. brasiliana* em laboratório, foram testados dois tratamentos com quatro repetições e um controle (sem animais mas com microalgas nas mesmas condições dos tratamentos) para cada tratamento, sendo: Tratamento 1 - com luz (aproximadamente 2 mil Lux) e Tratamento 2- sem luz. O experimento foi conduzido durante sete horas, realizado em cilindros plásticos com volume de 5 L de água marinha contendo cinco mariscos em cada unidade experimental, 40, no total. Na análise estatística a luminosidade foi considerada o primeiro fator e as horas, o segundo. Utilizou-se a microalga *Chaetoceros calcitrans* na concentração inicial de 250 mil células mL⁻¹ na temperatura de 27 °C e salinidade de 28 g L⁻¹.

A influência da salinidade na taxa de filtração e ingestão da *A. brasiliana* foi analisada em quatro tratamentos com três repetições e um controle (sem animais mas com microalgas nas mesmas condições dos tratamentos) para cada tratamento, sendo: Tratamento 1 - salinidade de 20 g L⁻¹; Tratamento 2 - salinidade de 25 g L⁻¹; Tratamento 3 - salinidade de 30 g L⁻¹ e Tratamento 4 - salinidade de 35 g L⁻¹. O experimento foi conduzido durante sete horas, realizado em cilindros plásticos contendo oito mariscos em dois litros de água marinha, totalizando 96 indivíduos. Na análise estatística a salinidade foi

considerada o primeiro fator e as horas, o segundo. Utilizou-se a microalga *Isochrysis galbana* na concentração inicial de 250 mil células mL⁻¹ na temperatura de 27 °C.

Para analisar a influência da temperatura sobre a taxa de filtração e ingestão da *A. brasiliiana* em laboratório, foram utilizados três tratamentos com três repetições e um controle (sem animais mas com microalgas nas mesmas condições dos tratamentos) para cada tratamento, sendo que: Tratamento 1 - temperatura de 27 °C; Tratamento 2 - temperatura de 23,5 °C; Tratamento 3 - temperatura de 30 °C. O experimento foi conduzido durante 7 h, realizado em cilindros plásticos contendo seis mariscos com 1,6 L de água marinha cada um, totalizando 54 indivíduos. Na análise estatística a temperatura foi considerada o primeiro fator e as horas, o segundo. Utilizou-se a microalga *C. calcitrans* na concentração inicial de 450 mil células mL⁻¹ e salinidade de 28 g L⁻¹.

Foram retirados 2 mL, a cada hora, de cada unidade experimental para o acompanhamento da concentração algal, realizado na Câmara de Neubauer.

Para a estimativa da taxa de filtração (L h⁻¹ marisco⁻¹) utilizou-se a fórmula: Filtração=(V/n.t).Ln(C₀/C₁), (Nakamura, 2001; Järnegren & Altin 2006; Loayza-Muro & Letts 2007) onde (V) volume de água utilizado; (n) número de indivíduos; (t) tempo do experimento; (C₀) concentração algal inicial; (C₁) e concentração algal no tempo (t).

Para a análise da taxa de ingestão (10⁴células h⁻¹ marisco⁻¹) usou-se a seguinte fórmula: Ingestão=(C₁-C₂/n.t).V.60, (Rajesh et al., 2001), sendo (C₁) concentração algal inicial; (C₂) concentração algal no tempo (t); (n) número de indivíduos por repetição; (t) tempo total do experimento e (V) volume de água utilizado.

Para os experimentos de reprodução foi calculado o Rendimento (R) com uma amostra de 40 mariscos de cada coleta e pesadas as partes moles úmidas, separadamente (PPM) e o peso úmido total com a concha (PT) utilizando-se a fórmula: R = (PPM/PT) 100 (Christo, 2006). A proporção sexual foi realizada na mesma amostra, através da raspagem da gônada e observação em microscópio óptico.

Avaliações macroscópicas das gônadas foram realizadas para determinação do estágio de maturação sexual, utilizando-se a mesma amostra de 40 indivíduos, de acordo com a metodologia proposta por Christo (2006) para ostras do gênero *Crassostrea*, que classifica quatro estágios de desenvolvimento gonadal: Vazio (V); Parcialmente vazio (PV) = com a gônada recobrimdo 1/3 da glândula digestiva; Parcialmente cheio (PC) = com a gônada recobrimdo 2/3 da glândula digestiva; Cheio (C) = com a gônada recobrimdo toda a glândula digestiva.

Após as análises macroscópicas das gônadas 48 amostras foram processadas para histologia, procedimento realizado antes e após os processos de maturação e desova. As gônadas foram fixadas em formol a 4% por 48h e posteriormente mantidas em etanol (70%). Os procedimentos histológicos incluíram: desidratações em etanol, diafanização em xilol, inclusão em parafina, cortes em micrótomo manual com espessuras de 7 µm e coloração em hematoxilina de Harris e eosina (HE). Os cortes histológicos das gônadas foram observados em microscópio óptico e fotografados em câmara digital acoplada, para classificação dos estágios gonádicos, de acordo com Araújo (2001).

As variáveis temperatura e salinidade foram controladas durante o período de cada maturação, isto é, mantidas em valores próximos a 26 °C e 28 g L⁻¹, respectivamente. Os mariscos permaneceram em tanques de fibra retangulares com capacidade para 400 L de água marinha, durante o período de sete dias para cada maturação, com manejo diário e troca de água a cada 48 h.

Dois tratamentos foram avaliados a fim de se verificar o melhor método de reprodução em laboratório da espécie, sendo: Tratamento 1 – Indução à “desova” e Tratamento 2 – “Desova” espontânea, ambos com cinco repetições. Em cada tratamento foram utilizados 125 indivíduos em cada um dos seis experimentos de “desova” com 250 reprodutores no total, mantidos em dez unidades experimentais de plástico com capacidade para oito litros de água marinha contendo 25 mariscos cada uma.

No Tratamento 1, utilizou-se um conjunto de estímulos para induzir a “desova”: os reprodutores foram colocados nas unidades experimentais, com água filtrada por luz ultravioleta, na temperatura inicial de 26 °C e salinidade de 28 g L⁻¹ e mantidos, durante 30 min sem alimentação, somente sob o efeito do fluxo contínuo de água na vazão de 16 L h⁻¹. Em seguida, foi adicionada a microalga *C. calcitrans*, na concentração de 300 mil células por mL, durante 30 min. Depois da primeira hora, realizou-se uma troca de água total e se repetiu o ciclo com água esterilizada por luz ultravioleta e adição de microalgas, durante mais uma hora. Na sequência, aumentou-se a temperatura da água para 28 °C e depois de mais uma hora foi realizada uma nova troca de água. No último ciclo adicionaram-se os gametas na água desligando novamente o fluxo de água durante uma hora. O procedimento de adição de gametas foi realizado com 100 mariscos, onde foram retiradas as partes moles (gônadas) para obtenção dos gametas, através da raspagem das gônadas e concentração em um volume conhecido, para ser adicionado nas unidades experimentais do tratamento 1.

No Tratamento 2, com desova espontânea, os indivíduos foram mantidos nas unidades experimentais, nas mesmas condições do estoque reprodutor em maturação, pelo tempo de 24 h e as variáveis físico-químicas da água, como temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido, foram mensuradas com equipamento multiparâmetro.

Durante a “desova”, o número de mariscos desovando foi contabilizado em cada repetição. Após esta etapa, a fecundação foi realizada separadamente em cada tratamento de forma controlada, para posterior comparação. Após a constatação da fecundação, iniciaram-se os procedimentos de filtragem em telas de 90 e 50 µm, para quantificação dos ovos, observando-se o desenvolvimento em microscópio óptico.

Os ovos foram colocados em tanques com 500 L durante 48 h, com vista à observação do desenvolvimento celular e virada para a larva Trocófora e D Véliger. Tal procedimento foi realizado com auxílio de uma câmara de Sedgwick-Rafter e microscópio óptico.

As microalgas foram produzidas no próprio laboratório em diferentes volumes, cujas espécies cultivadas foram: *C. calcitrans*; *I. galbana* e *P. lutheri*. Ofertadas duas vezes ao dia, pelo início da manhã e no final da tarde, na relação de 1:1:1 e concentração celular de 200 mil células por ml.

Os valores da taxa de filtração e ingestão foram analisados utilizando-se o programa Assisat 7.6, e a normalidade foi testada através do Teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade mediante o uso do Teste de Cochran, após o que foi utilizada Análise de Variância Fatorial seguida pelo Teste de Duncan, através do programa STATISTICA 8.0. Os dados obtidos dos experimentos de reprodução foram analisados através do Teste T com o auxílio do programa Assisat 7.6. Para todas as análises foi adotou-se o nível de significância de 95%.

Resultados e Discussão

Os mariscos utilizados nos experimentos de filtração e ingestão apresentaram comprimento médio de $26,35 \pm 1,58$ mm e altura média de $22,43 \pm 1,65$ mm e. As concentrações de *C. calcitrans* e *I. galbana* diminuíram ao longo das 7 h de cada experimento demonstrando que as algas utilizadas foram consumidas pelos mariscos. As maiores concentrações residuais foram observadas no experimento com salinidade de 20 g L^{-1} , no experimento com temperatura de $23,5 \text{ }^\circ\text{C}$, e nos respectivos controles, utilizados neste estudo para acompanhar o desenvolvimento das microalgas (Tabela 1).

De acordo com os dados obtidos houve diferença significativa na taxa de filtração entre os tratamentos, com a presença e ausência de luz, demonstrando que *A. brasiliana* apresenta maior filtração na ausência de luz com valor máximo de $0,272 \text{ L h}^{-1} \text{ marisco}^{-1}$, os valores médios se encontram na Tabela 1. O mesmo foi observado em relação ao tempo de filtração, em que a diferença foi significativa após as três primeiras horas. Porém não ocorreu diferença significativa na interação entre as horas e os tratamentos com e sem luz, para a taxa de filtração.

Ao realizar a análise estatística para a taxa de ingestão com e sem luz, também foram verificadas diferenças significativas demonstrando que a taxa de ingestão foi superior na ausência de luz, com valor máximo de $197,14 \text{ } 10^4 \text{ células h}^{-1} \text{ marisco}^{-1}$ enquanto a ingestão de microalgas também apresentou diferença significativa durante o período de estudo, mas não entre a interação do tempo e os tratamentos.

No experimento com diferentes temperaturas a taxa de filtração foi significativamente diferente na temperatura de $23,5 \text{ }^\circ\text{C}$ em relação às temperaturas de 27 e $30 \text{ }^\circ\text{C}$, que apresentaram resultado semelhante entre si, isto demonstrando haver maior atividade desta espécie em temperaturas mais elevadas, com valor máximo de $0,059 \text{ L h}^{-1} \text{ marisco}^{-1}$, os valores médios estão na Tabela 1. A interação entre as horas e as temperaturas não apresentou diferença significativa. O mesmo resultado foi observado com relação à taxa de ingestão entre as diferentes temperaturas, significativamente superior nas temperaturas de 27 e $30 \text{ }^\circ\text{C}$, em que o valor mais alto foi observado em $30 \text{ }^\circ\text{C}$, com $82,73 \text{ } 10^4 \text{ células h}^{-1} \text{ marisco}^{-1}$. Não se observou diferença significativa na interação das horas com as temperaturas.

No experimento com diferentes salinidades a taxa de filtração foi maior na salinidade de 30 g L^{-1} após as 4 h iniciais, seguida da salinidade de 35 g L^{-1} . A menor taxa de filtração foi registrada na salinidade de 20 g L^{-1} , demonstrando que este fator influenciou significativamente a taxa de filtração. Na salinidade de 25 g L^{-1} também se observou diferença significativa quanto à salinidade 20 g L^{-1} , os valores médios estão na Tabela 1.

Na interação das horas com as salinidades estudadas, constatou-se diferença significativa entre a salinidade de 25 g L^{-1} e as duas últimas horas de experimento, na salinidade 30 g L^{-1} a partir da quarta hora e na salinidade 35 g L^{-1} nas três últimas horas.

A salinidade também afetou a taxa de ingestão, tendo sido maior na salinidade de 30 g L^{-1} seguida da salinidade 35 g L^{-1} , iguais entre si estatisticamente mas diferindo das demais. Na interação das horas com a salinidade a diferença foi significativa entre todas as salinidades a partir das três últimas horas de experimento, sendo que nas salinidades 30 e 35 g L^{-1} a partir da quarta hora e na salinidade 25 g L^{-1} e da quinta hora na salinidade 20 g L^{-1} .

A *Anomalocardia brasiliana* apresentou maior filtração na ausência de luz. Isso pode estar relacionado ao seu hábito bentônico infaunal (Schaeffer-Novelli, 1976). As maiores taxas de filtração foram obtidas em temperaturas mais elevadas (27 e $30 \text{ }^\circ\text{C}$) o que, também, pode ser explicado por se tratar de um

Tabela 1. Concentrações algais e valores médios das taxas de filtração e ingestão de *Anomalocardia brasiliana*

Tratamentos		C.A Inicial $10^4 \text{ células ml}^{-1}$	C.A Final $10^4 \text{ células ml}^{-1}$	Taxa de Filtração $\text{L h}^{-1} \text{ marisco}^{-1}$	Taxa de Ingestão $10^4 \text{ células h}^{-1} \text{ marisco}^{-1}$
Luminosidade	Luz	25	$5,5 \pm 1,2$	$0,085 \pm 0,06$ a	$92,21 \pm 52,13$ a
	Sem Luz	25	$4,5 \pm 1,5$	$0,123 \pm 0,07$ b	$122,6 \pm 51,18$ b
	controle com Luz	25	28,75	-	-
	controle sem Luz	25	22,5	-	-
Temperatura	$23,5 \text{ }^\circ\text{C}$	45	$21,41 \pm 6,86$	$0,011 \pm 0,011$ a	$25,4 \pm 20,54$ a
	$27 \text{ }^\circ\text{C}$	45	$14,5 \pm 4,02$	$0,022 \pm 0,014$ b	$42,97 \pm 21,84$ b
	$30 \text{ }^\circ\text{C}$	45	$13,41 \pm 2,89$	$0,022 \pm 0,017$ b	$41,54 \pm 26,25$ b
	controle $23,5 \text{ }^\circ\text{C}$	45	40	-	-
	controle $27 \text{ }^\circ\text{C}$	45	38	-	-
	controle $30 \text{ }^\circ\text{C}$	45	39	-	-
Salinidade	20 g L^{-1}	25	$18,5 \pm 1,5$	$0,007 \pm 0,005$ a	$10,73 \pm 6,91$ a
	25 g L^{-1}	25	$5,5 \pm 4,5$	$0,026 \pm 0,03$ b	$22,5 \pm 18,31$ b
	30 g L^{-1}	25	$0,75 \pm 0,5$	$0,061 \pm 0,05$ c	$34,71 \pm 22,24$ c
	35 g L^{-1}	25	$1,16 \pm 0,94$	$0,05 \pm 0,046$ c	$32,9 \pm 19,87$ c
	controle 20 g L^{-1}	25	18,25	-	-
	controle 25 g L^{-1}	25	23	-	-
	controle 30 g L^{-1}	25	27	-	-
	controle 35 g L^{-1}	25	27,5	-	-

*C.A concentração algal. Valores médios e desvio padrão. Letras distintas diferem estatisticamente.

bivalve marinho tropical com ampla distribuição latitudinal e ser uma espécie adaptada a variações de temperaturas nos ambientes costeiros (Narchi, 1972; Schaeffer-Novelli, 1976; Cantera, 1991).

Na alimentação de bivalves considera-se que as variações de temperatura e salinidade apresentam maior influência (Resgalla Jr. et al., 2007).

A temperatura média da água do mar na praia do Mangue Seco é de $30,45 \pm 2,32$ °C (Lavander et al., 2011) valores próximos aos encontrados nos locais de coleta do presente estudo.

A espécie apresentou maior filtração nas salinidades 30 e 35 g L⁻¹, já em salinidades menores como 20 g L⁻¹, o marisco praticamente não filtrou. Esses valores também estão de acordo com os dados obtidos nos locais de captura, que encontraram salinidade média de $33,2 \pm 3,11$ g L⁻¹ (Lavander et al., 2011).

Nos resultados obtidos por Costa (2010) em condições de laboratório, *A. brasiliana* suportou variação brusca na salinidade, o marisco não modificou seu comportamento alimentar entre 20 e 30 g L⁻¹ e também não ocasionou sua mortalidade, comprovando a capacidade de regulação osmótica deste animal em ambiente natural.

Segundo Resgalla & Piovezan (2009), *A. brasiliana* apresentou estabilização para a taxa de filtração a partir de 10 mg L⁻¹ de concentração de séston e valores inferiores a este poderiam limitar a energia disponível para o crescimento e reprodução da espécie.

O mexilhão *Perna perna* (Bivalvia, Mytilidae) espécie encontrada em regiões com águas mais frias, principal espécie nativa criada no Brasil, apresentou comportamento diferente em relação *A. brasiliana*, com os menores índices de filtração nos meses mais quentes e taxas significativamente maiores no inverno e na primavera, variando de $1,30 \pm 0,48$ a $0,37 \pm 0,10$ L h⁻¹g⁻¹ (Resgalla Jr. et al., 2007).

A filtração da *Acesta excavata* (Bivalvia: Limidae) variou entre 10 e 53 L h⁻¹, ainda considerada baixa em comparação com outros bivalves, segundo autores, que sugerem que os valores encontrados são consequência das adaptações à baixa disponibilidade de alimentos no fundo do mar e não apenas a adaptações devidas à profundidade (Järnegren & Altin, 2006).

Delgado & Camacho (2007) relataram, estudando *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae), que durante o período de condicionamento em laboratório, para avaliar a influência da temperatura na maturação e na ingestão, a espécie apresentou maior taxa de ingestão em temperaturas consideradas mais elevadas para a espécie (entre 18 e 22 °C). Em temperaturas mais baixas e segundo os mesmos autores, a ingestão diminuiu e, consequentemente, diminuiu também o consumo de energia; assim, o desenvolvimento das gônadas se torna mais lento.

Em diversas espécies de importância econômica, como ostras, vieiras, mariscos e mexilhões, estudou-se a taxa de filtração (Jargensen & Altin, 2006). MacDonald et al. (1996), ao também estudar *Pecten magellanicus* (Bivalvia: Pectinidae) em condições laboratoriais e encontraram valores próximos para a taxa de filtração às do ambiente natural sugerindo que a velocidade de alimentação em condições controladas é real e então se pode usar informações de dietas controladas em laboratório para estudar as taxas fisiológicas desses animais.

Estudos realizados em laboratório podem fornecer informações importantes sobre a taxa de filtração em resposta a diversas variáveis ambientais e esses resultados podem ser usados para se prever através do desempenho dos estoques cultivados em laboratório (Laing, 2004) e contribuir para melhorar a tecnologia visando à produção dessas espécies na maricultura.

As gônadas dos mariscos se apresentaram, antes do período de maturação e desova, bem desenvolvidas, parcialmente cheias em 50,2% das amostras, consideradas cheias ou maduras, recobrimo toda a glândula digestiva em 36,1% e apenas 13,6% estavam parcialmente vazias. A média geral do rendimento foi de 13,2%, peso total 11,5g, peso das partes moles 1,4g, comprimento médio 28,8 mm, altura média 25,2 mm e proporção sexual de 23 machos e 17 fêmeas. Os valores médios mensais estão na Tabela 2.

A histologia demonstrou que os machos e fêmeas apresentavam gônadas em maturação e maduras, com células germinativas aderidas na parede folicular e gametas maduros soltos no lúmen. Durante o período de maturação os machos apresentavam gônadas maduras e fêmeas em maturação e maduras (Figura 1A e C). Após as “desovas”, machos e fêmeas eliminaram a maior parte dos gametas maduros (Figura 1B e D), com permanência de alguns gametas soltos no lúmen ou em fase pré-vitelogênica, poucas células gaméticas, ainda em fases iniciais da gametogênese e/ou com modificação na morfologia da região gonadal e gametas maduros residuais soltos no lúmen.

Durante a fase de maturação a temperatura média da água foi de $26,36 \pm 0,56$ °C, a salinidade de $27 \pm 0,83$ g L⁻¹, o pH de $8,59 \pm 0,13$ e o oxigênio de $6,34 \pm 0,45$ mg L⁻¹. Já as médias das variáveis durante os experimentos de obtenção de gametas no tratamento por indução indicaram temperatura da água de $26,18 \pm 0,23$ °C, salinidade de $28 \pm 0,83$ g L⁻¹, pH de 8,74, oxigênio de $5,84 \pm 0,65$ mg L⁻¹ no início dos experimentos e, ao final, quando ocorreram as desovas, a temperatura média da água foi de $28,5 \pm 0,23$ °C, a salinidade de $29 \pm 0,16$ g L⁻¹, o pH de 8,52 e o oxigênio de $3,79 \pm 0,51$ mg L⁻¹. Inicialmente, os parâmetros da água no experimento com desova espontânea foram de $26,5 \pm 0,13$ °C para a temperatura média da água, salinidade de $28 \pm$

Tabela 2. Valores médios mensais da *Anomalocardia brasiliana* antes dos procedimentos de maturação e reprodução

Meses	Comprimento (mm)	Altura (mm)	Peso total (g)	Peso das partes moles (g)	Rendimento (%)
set/11	30,52±2,36	26,87±2,12	10,23±2,28	1,77±0,51	17,34±2,28
out/11	30,74±1,93	27,34±2,17	14,97±2,87	1,85±0,44	12,65±3,23
nov/11	28,43±2,48	24,97±1,87	11,39±2,44	1,08±0,40	10,43±2,80
dez/11	28,29±2,13	24,58±1,64	11,06±2,35	1,18±0,34	10,34±2,32
set/12	28,95±1,94	25,32±1,83	11,78±2,47	1,86±0,41	16,46±2,45
nov/12	26,07±1,38	22,15±1,56	9,62±1,44	0,86±0,27	12,16±1,35

*Valores médios e desvio padrão.

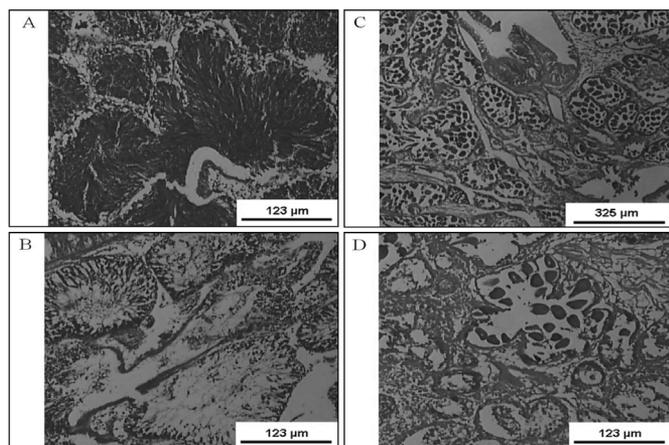


Figura 1. Fotomicrografias do corte transversal das gônadas da *Anomalocardia brasiliana*. (A) Gônada masculina madura, no aumento de 100x; (B) Macho em eliminação de gametas, aumento de 100x; (C) Gônada feminina em fase de gametogênese, no aumento de 40x; (D) Fêmea em eliminação de gametas, no aumento de 100x

0,83 g L⁻¹, pH de 8,74 e oxigênio de 3,62 ± 0,30 mg L⁻¹, variando apenas o oxigênio ao final, em 2,73 ± 0,35 mg L⁻¹.

Nos procedimentos de indução à desova, no Tratamento 1, sempre após a manipulação da temperatura e adição dos gametas na água, ocorria a desova dos reprodutores. Após aplicar estatística, constatou-se não haver diferença significativa entre desova por indução e desova espontânea (Tabela 3). Durante os experimentos para obtenção dos gametas apenas um pequeno número de mariscos desovou, nos dois tratamentos analisados.

Cerca de uma hora após as desovas foi possível observar as células em início de divisão, assim como larvas trocóforas e larvas D-véliger no dia seguinte (Figura 3). Nas seis desovas por indução se obtiveram, em média, 122.750 ± 17.255 ovos e nas desovas espontâneas foram observados 505.200 ± 40.503 ovos. Os ovos apresentaram diâmetro superior a 50 μm além de sobrevivência de 74% na metamorfose para o estágio de larva D véliger, finalizando o estudo com 12 dias de larvicultura.

Durante os experimentos de maturação e após as desovas os estoques dos mariscos quando submetidos à mudança de tanque e, conseqüentemente, a variação na temperatura da água de 26,36 ± 0,56 °C para 29,34 ± 0,43 °C, liberaram seus gametas de forma uniforme e simultânea. Assim, sob estas condições, cerca de 400 reprodutores mantidos juntos em tanques de 400 L de água marinha, produziram, em média, 935.100 ± 149.287 larvas D-véliger.

Caers et al. (2002) relataram que na ostra *Crassostrea gigas* a dieta ofertada aos reprodutores e o período de alimentação ou maturação, não alteraram o tamanho dos ovos e larvas D-véliger, a performance larval e o teor nem a distribuição de lipídeos nos ovos. Os autores relataram também que a composição de ácidos graxos presentes nos ovos e larvas foi modificada pela dieta. Neste estudo, o curto período de maturação dos reprodutores pode ter sido insuficiente para aumentar a fecundidade ou ter

melhorado outros aspectos na espécie, e ofertada durante esta fase e que o aumento do período de alimentação dos reprodutores pode aumentar a fecundidade.

No presente estudo, o curto período de maturação dos reprodutores pode ter sido insuficiente para aumentar a fecundidade ou ter melhorado outros aspectos na espécie mas apenas contribuindo para uma maturação final e aclimatação nas condições de laboratório para posteriormente desovar. A maior parte dos espécimes apresentou gônadas maduras ou em fase final de maturação pois foram capturados durante o período de maior frequência de gametogênese e desovas (Lavander et al., 2011).

A manipulação da temperatura é o estímulo mais utilizado na indução à desova de vários bivalves, mas algumas espécies podem não responder a este fator (Da Costa et al., 2010); assim, para a reprodução de novas espécies em laboratório devem ser aplicados diferentes estímulos, a fim de se encontrar o mais eficiente.

O marisco *A. brasiliana* pode desovar em laboratório por diferentes métodos de indução como: aplicação de serotonina, exposição ao ar e água do mar, estresse osmótico, exposição em água doce e marinha esterilizada com ultravioleta (Mouêza et al., 1999). Neste estudo, os melhores resultados foram obtidos por desovas espontâneas, após o período intensivo de alimentação. Já Vilela (2009) após submeter 82 exemplares de *A. brasiliana* ao stress por dessecação, expostos a seco e posteriormente mantidos por 24 h em água a 29 °C, obteve 490 mil larvas-D-véliger.

Os métodos de indução e a reprodução de moluscos bivalves marinhos em laboratório proporcionam um controle maior quando comparados com os métodos de desovas espontâneas, pois possibilitam maior acompanhamento no momento da liberação dos gametas (fertilização), a determinação do número de oócitos fecundados, desenvolvimento embrionário e estágios larvais iniciais. Já as desovas espontâneas não permitem este acompanhamento pois podem ocorrer a qualquer momento dificultando o manejo necessário para este período.

Conclusões

A *Anomalocardia brasiliana* apresentou maior atividade de filtração e ingestão na ausência de luz, em temperatura de 27°C e na salinidade 30g L⁻¹ em experimentos independentes. Constatou-se, também, que não existe diferença significativa entre a desova por indução e a espontânea, mas esta última apresentou uma quantidade mais significativa de ovos e larvas.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo auxílio financeiro na concessão da bolsa de mestrado, ao primeiro autor.

Literatura Citada

Araújo, C.M. Biologia reprodutiva do berbigão *Anomalocardia brasiliana* (Mollusca: Bivalvia, Veneridae) na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubá. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2001. 203p. Tese Doutorado.

Tabela 3. Número total de exemplares de *Anomalocardia brasiliana* que desovaram nos seis experimentos

Desova	Machos	Fêmeas	Total
Indução	40	18	58
Espontânea	21	10	31
Total	61	28	89

- Boehs, G.; Absher, T.M.; Cruz-Kaled, A.C. Ecologia Populacional de *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) (Bivalvia, Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil. Boletim do Instituto de Pesca, v.34, n.2, p. 259 - 270, 2008. <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/34_2_259-270.pdf>. 12 Dez. 2013.
- Boehs, G.; Villalba, A.; Ceuta, L.O.; Luz, J.R. Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira river (Ilhéus, Bahia, Brazil). Journal of Invertebrate Pathology, v.103, n.1, p.43-47, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2009.10.008>.
- Caers, M.; Utting, S.; Coutteau, P.; Millican, P.; Sorgeloos, P. Impact of the supplementation of a docosaheptaenoic acid-rich emulsion on the reproductive output of oyster broodstock, *Crassostrea gigas*. Marine Biology, v.140, n.6, p.1157-1166. 2002. <http://dx.doi.org/10.1007/s00227-002-0798-5>.
- Cantera, J. Shallow-water venerid clams (Bivalvia: Veneridae) from the pacific coast of Colombia. The Véliger, v.34, n. 1, p.78-84. 1991.
- Christo, S.W. Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897 na Baía de Guaratuba (Paraná – Brasil): um subsídio ao cultivo. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2006. 146p. Tese Doutorado. <http://ri.uepg.br:8080/riuepg/bitstream/handle/123456789/505/TESE_SuseteWambierChristo.pdf?sequence=1>. 12 Dez. 2013.
- Costa, G.B. Avaliação do crescimento do berbigão *Anomalocardia brasiliiana*, (Gmelin, 1791) em condições de laboratório e em cultivo suspenso no ambiente natural. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2010. 40p. Relatório Estágio Supervisionado. <http://projetos.lmm.ufsc.br/data/files/breno_berbigao_TCC_FINAL_2010.pdf>. 12 Dez. 2013.
- Da Costa, F.; Martínez-Patiño, D.; Ojea, J.; Nóvoa, S. Larval rearing and spat production of the razor clam *Ensis siliqua* (Bivalvia: Pharidae). Journal of Shellfish Research, v.29, n.2, p.347-351. 2010. <http://dx.doi.org/10.2983/035.029.0209>.
- De La Roche, J. P., Marín, B., Freitas, L. & Vélez, A. Embryonic development and larval and post-larval growth of the tropical scallop *Nodipecten nodosus* (L. 1758) (Mollusca: Pectinidae). Aquaculture Research, v.33, n. 11, p.819-827. 2002. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00692.x>.
- Delgado, M.; Camacho, A.P. Influence of temperature on gonadal development of *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850) with special reference to ingested food and energy balance. Aquaculture, v.264, n. 1-4, p.398-407. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.009>.
- El-Deir, S.; Neumann-Leitão, S.; Melo, P.A.M.C. Distribution pattern of *Anomalocardia brasiliiana* Gmelin, 1791 (Mollusca, Bivalvia) in a tropical coastal ecosystem. Tropical Oceanography, v.37, n.2, p.89-101, 2009. <http://www.revista.ufpe.br/tropicaloceanography/artigos_completos_resumos_t_d/37_2009_2_eldeir.pdf>. 12 Dez. 2013.
- Fariás, A.; Uriarte, I.; Castilla, J. C. A biochemical study of the larval and postlarval stages of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus*. Aquaculture, v.166, n. 1-2, p.37-47. 1998. <http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00204-X>.
- Gosling, E. Bivalve Molluscs. Biology, ecology and culture. Oxford: Wiley-Blackwell, 2003. 456p.
- Järnegren, J.; Altin, D. Filtration and respiration of the deep living bivalve *Acesta excavate* (Fabricius, 1779) (Bivalvia Limidae). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology v.334, n. 1, p.122-129. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2006.01.014>.
- Laing, I. Filtration of king scallops (*Pecten maximus*). Aquaculture, v.240, n. 1-4, p.369-384. 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.02.002>.
- Lavander, H.D.; Cardoso Jr, L.O.; Oliveira, R.L.; Silva Neto, S.R.; Gálvez, A.O.; Peixoto, S.R.M. Biologia reprodutiva da *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) no litoral norte de Pernambuco, Brasil. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v. 6, n. 2, p.344-350. 2011. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v6i2a1139>.
- Loayza-Muro, R.; Letts, R.E. Responses of the mussel *Anodontites trapesialis* (Unionidae) to environmental stressors: Effect of pH, temperature and metals on filtration rate. Environmental Pollution, v.149, n. 2, p.209-215. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.01.003>.
- MacDonald, B.A.; Ward, J.E.; Bacon, G.S. Feeding activity in the sea scallop *Placopecten magellanicus*: comparison of field and laboratory data. Journal of Shellfish Research, v.15, n. 1, p.503-504, 1996.
- Mouëza, M., Gros, O.; Frenkiel, L. Embryonic, larval and postlarval development of the tropical clam, *Anomalocardia brasiliiana* (Bivalvia, Veneridae). Journal of Molluscan Studies, v.65, n. 1, p.73-88. 1999. <http://dx.doi.org/10.1093/mollus/65.1.73>.
- Nakamura, Y. Filtration rates of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*: dependence on prey items including bacteria and picocyanobacteria. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v.266, n. 2, p.181-192. 2001. <http://dx.doi.org/10.1016/S0022-0981(01)00354-9>.
- Narchi, W. Comparative study of the functional morphology of *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) and *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Bivalvia, Veneridae). Bulletin of Marine Science, v.22, n. 3, p.643-670. 1972. <http://www.ingentaconnect.com/content/umrsmas/bullmar/1972/00000022/00000003/art00006>. 12 Dec. 2013.
- Raghavan, G. Influence of algal cell size on filtration and ingestion rates during different larval stages of the yellow neck clam, *Paphia malabarica* Chemnitz. Aquaculture Nutrition, v.17, n. 3, p.327-331. 2011. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00785.x>.
- Rajesh, K.V.; Mohamed, K.S.; Kripa, V. Influence of algal cell concentration, salinity and body size on the filtration and ingestion rates of cultivable Indian bivalves. Indian Journal of Marine Sciences, v.30, n. 2, p.87-92. 2001.

- Resgalla J. C.; Piovezan, A.C. Fisiologia alimentar do berbigão *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia). *Atlântica*, v.31, n.1, p.69-78, 2009. <<http://dx.doi.org/10.5088/atl.2009.31.1.69>>.
- Resgalla, J. C.; Brasil E.S.; Laitano, K.; Reis Filho, R.W. Physioecology of the mussel *Perna perna* (Mytilidae) in southern Brazil. *Aquaculture*, v.270, n.1-4, p.464-474. 2007. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.019>>.
- Rios, E.C. Seashells of Brazil. Porto Alegre: Editora FURG, 1994. 492p.
- Schaeffer-Novelli, Y. Alguns aspectos ecológicos da população de *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791), na praia do Saco da Ribeira, Ubatuba, São Paulo. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1976. 119p. Tese Doutorado.
- Soria, G., Guillen, J. T., Bueno, R. C. & Shaw, W. Spawning induction, fecundity estimation, and larval culture of *Spondylus calcifer* (Carpenter, 1857) (Bivalvia: Spondylidae). *Journal of Shellfish Research*, v.29, n.1, p.143-149. 2010. <<http://dx.doi.org/10.2983/035.029.0108>>.
- Velasco, L. A., Barros, J., Acosta, E. Spawning induction and early development of the Caribbean scallops *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Aquaculture*, v.266, n. 1-4, p.153-165. 2007. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.015>>.
- Vilela, R.V. Montagem e testes iniciais para elaboração de protocolo para condicionamento e maturação do molusco bivalve *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Berbigão). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2009. 79 p. Relatório Estágio Supervisionado. <http://projetos.lmm.ufsc.br/data/files/TCC_Rafael_Vieira_Vilela_final_13_11_09.pdf>. 12 Dez. 2013.