

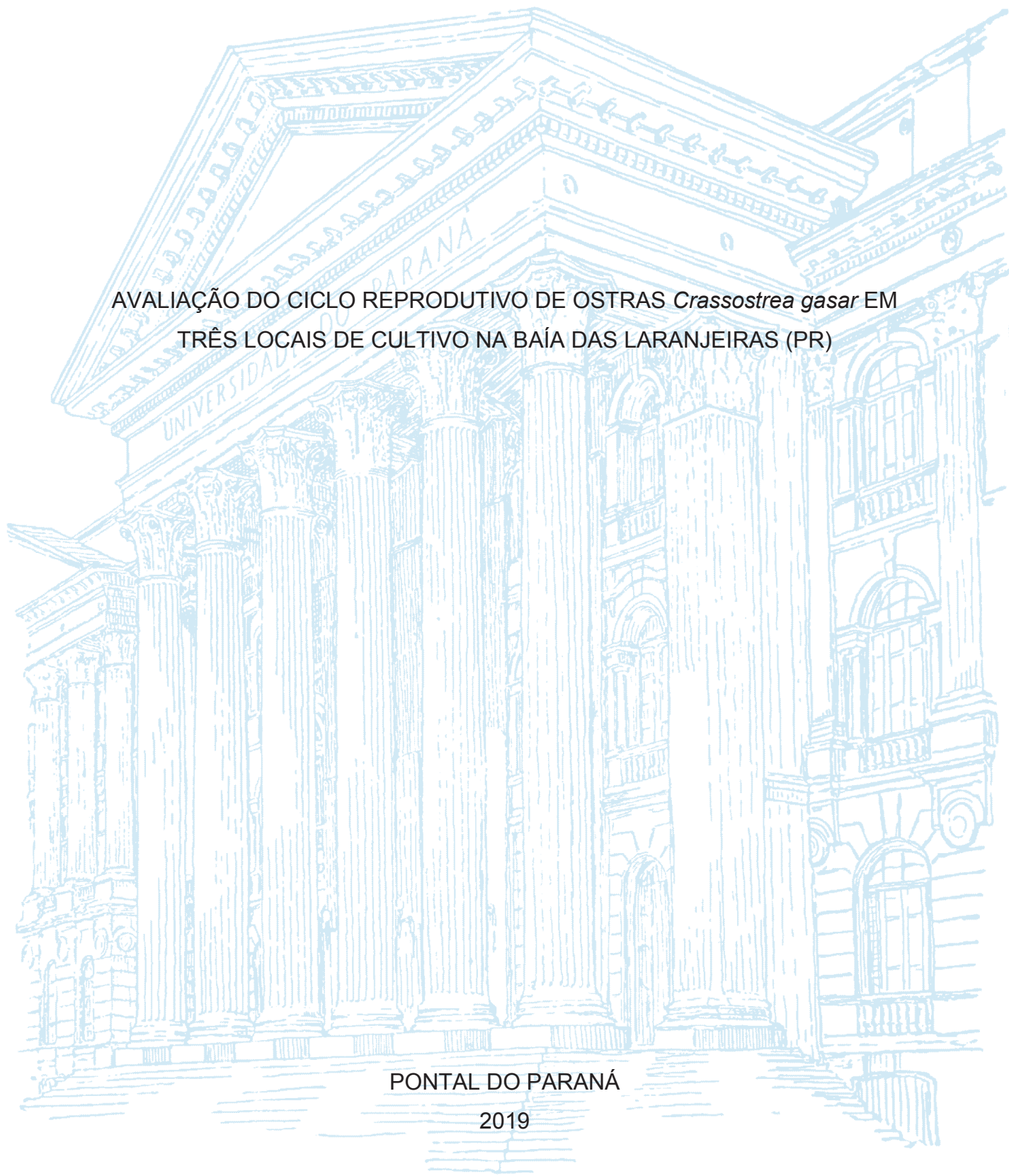
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TAÍS SERPA AFONSO

AVALIAÇÃO DO CICLO REPRODUTIVO DE OSTRAS *Crassostrea gasar* EM
TRÊS LOCAIS DE CULTIVO NA BAÍA DAS LARANJEIRAS (PR)

PONTAL DO PARANÁ

2019



TAÍS SERPA AFONSO

AVALIAÇÃO DO CICLO REPRODUTIVO DE OSTRAS *Crassostrea gasar* EM
TRÊS LOCAIS DE CULTIVO NA BAÍA DAS LARANJEIRAS (PR)

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Sistema Costeiro e Oceânico.
Orientador: Prof. Dr. Franciso José Lagreze-Squella
Coorientador: Prof. Dr. Rodolfo Luis Petersen

PONTAL DO PARANÁ

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE:
UFPR / SiBi - Biblioteca do Centro de Estudos do Mar
Fernanda Pigozzi – CRB 9/1151

Afonso, Taís Serpa
A255a Avaliação do ciclo reprodutivo de ostras *Crassostrea gasar* em três locais de cultivo na Baía das Laranjeiras (PR). / Taís Serpa Afonso. – Pontal do Paraná, 2019.
33 f.: il.; 29 cm.

Orientador: Prof. Dr. Franciso José Lagreze Squella.
Coorientador: Prof. Dr. Rodolfo Luis Petersen.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

1. Ostra nativa. 2. Ostreicultura - extrativismo. I. Título. II. Squella, Francisco José Lagreze. III. Petersen, Rodolfo Luis. IV. Universidade Federal do Paraná.

CDD 639.41



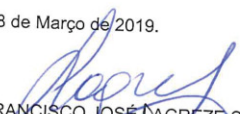
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR REITORIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO SISTEMAS COSTEIROS
E OCEÂNICOS - 40001016054P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SISTEMAS COSTEIROS E OCEÂNICOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **TAÍS SERPA AFONSO**, intitulada: **AVALIAÇÃO DO CICLO REPRODUTIVO DE OSTRAS CRASSOSTREA GASAR EM TRÊS LOCAIS DE CULTIVO NA BAÍA DAS LARANJEIRAS (PR)**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de Mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 28 de Março de 2019.


FRANCISCO JOSÉ LAGREZE SQUELLA
Presidente da Banca Examinadora


LUCIENE CORREA LIMA
Avaliador Externo (UFPR)


MARCOS CAIVANO PEDROSO DE ALBUQUERQUE
Avaliador Externo (UFSC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por toda força e sabedoria e pela intercessão de Nossa Senhora. Aos meus pais e familiares, por todo amor e compreensão na minha ausência em quase todo o período de estudo. Em especial ao Gabriel Alves Chrisostomo por toda dedicação e incentivo, apoio nos momentos difíceis e contribuição nas coletas e análises do trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos (PGSISCO) que foi necessária para a permanência e conclusão do mestrado.

Ao Prof. Dr. Francisco José Lagreze Squella, chefe da pesquisa e coordenador do curso de Engenharia de Aquicultura no Centro de Estudos do Mar (CEM), Prof. Dr. Rodolfo Luis Petersen, coordenador do Laboratório de Biologia Molecular e Melhoramento Organismos Aquáticos (CEM), e a Dra. Simone Suhnel, pelas conversas, tutorias e orientações indispensáveis para o decorrer do estudo.

Ao Projeto Baías financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), com a coordenação do Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana (CEM), por todo o apoio financeiro e ao Dr. André Pereira pela disponibilidade de tempo e auxílio na compra dos materiais de consumo.

Ao Centro de Estudos do Mar por toda a logística de transporte que foi necessário para o cumprimento das atividades de coleta.

A Prof. Dra. Camila Domit (CEM), coordenadora do Projeto de Monitoramento de Praias (PMP), pela disponibilidade do Laboratório de Histologia. A Msc. Mariane Ferrari, analista do PMP, pela explicação e ensinamento de todos os protocolos e utilização dos aparelhos laboratoriais necessários para este estudo.

A Prof. Dra. Luciene Lima (CEM) pelo uso do Laboratório de Sanidade Aquícola em todos os dias de coleta, pelo apoio emocional e todas as palavras de amizade que foram necessárias para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Aos meus companheiros de vida e de trabalho Evelyn Zenira de Araujo, Thaila Assumpção, Isabelle D'Alessandro, Daniele Conceição, Ivan Luiz Gavioli e Aline Zanotti por todas as conversas e cafés, ajuda nas coletas e no Laboratório de Sanidade Aquícola, Laboratório de Histologia e Laboratório de Biologia Molecular e Melhoramento de Organismos Aquáticos, que foram necessários para o desenvolvimento e conclusão de todo o trabalho.

Agradeço também a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste estudo.

RESUMO

A aquicultura compreende o cultivo de organismos aquáticos, considerada uma grande promessa para suprir a demanda de proteína saudável necessária à nutrição regular do ser humano. A sustentabilidade e a resiliência das comunidades ostreicultoras dependem de mecanismos que permitam gerenciar os estoques naturais combinando produção e conservação. Desta forma é fundamental conhecer o ciclo reprodutivo para o sucesso da ostreicultura. Este trabalho avaliou o ciclo reprodutivo de ostras *Crassostrea gasar* oriundas da Baía das Laranjeiras (25 ° 30's; 48 °30'w) tendo sido três pontos amostrais: Ilha Rasa, Medeiros e Ponta Oeste da Ilha do Mel. De novembro de 2017 a outubro de 2018, ostras adultas (n=30) foram coletadas mensalmente, totalizando 360 ostras. Temperatura e salinidade foram registrados *in loco* com CTD na ocasião das coletas. Em laboratório, foi realizada a biometria dos animais e através de análise molecular, as ostras foram identificadas a nível de espécie. A análise histológica do tecido gonadal foi realizada com lâminas coradas em hematoxilina de *Harris* e eosina. A variação da salinidade foi significativa ($p < 0,05$) sendo em Ponta Oeste a média de 28, Medeiros 23 e em Ilha Rasa 21. Não houve diferença significativa na temperatura entre os pontos amostrais sendo a média de 25°C. As ostras foram classificadas da espécie *C. gasar* (100%). A análise histológica revelou fêmeas (57%), machos (20%) e sexo indeterminado (22%). A reprodução de *C. gasar* na latitude do CEP ocorreu de forma intermitente com desova intensa nos meses quentes (média 26,72°C) e no mês de junho quando ocorreu declínio da temperatura da água do mar (20°C). Houve estágio de repouso tanto em machos quanto em fêmeas no inverno e ostras parasitadas por *Bucephalus* sp. (n=25) onde em alguns casos o parasitismo impossibilitou a sexagem. Estudos sobre o ciclo reprodutivo das ostras e sua variação genética são de extrema importância para os cultivos e para a preservação dos estoques naturais. Com os resultados do ciclo reprodutivo em três ambientes diferentes, obtivemos informações que podem auxiliar na exploração racional da espécie na região do CEP, bem como o momento ideal para a reprodução induzida em laboratório para produção de sementes. Foi possível verificar também as melhores épocas (março, abril, maio, outubro e novembro) para inserção dos coletores artificiais (como garrafas pet) na água com o intuito dos ostreicultores utilizarem destas sementes para posterior engorda em cultivo. Com isso, é esperado que o extrativismo no ambiente diminua contribuindo com a resiliência das comunidades de ostras presente nos manguezais do litoral do Paraná.

Palavras-chave: ostras nativas. ostreicultura. estágio sexual. desova. extrativismo.

ABSTRACT

Aquaculture comprises the cultivation of aquatic organisms, considered a great promise to supply the demand for healthy protein necessary for the regular nutrition of the human being. The sustainability and resilience of oyster farming communities depends on mechanisms that allow natural stocks to be managed by combining production and conservation. In this way it is fundamental to know the reproductive cycle for the success of ostreicultura. This work evaluated the reproductive cycle of *Crassostrea gasar* oysters from the Bay of Laranjeiras (25 ° 30 's, 48 ° 30'w) and three sampling points: Ilha Rasa, Medeiros and Ponta Oeste of Honey Island. From November 2017 to October 2018, adult oysters (n = 30) were collected monthly, totaling 360 oysters. Temperature and salinity were recorded on the spot with CTD at the time of collection. In the laboratory, the biometry of the animals was performed and through molecular analysis, the oysters were identified at the species level. Histological analysis of the gonadal tissue was performed with blades stained in Harris haematoxylin and eosin. Salinity variation was significant ($p < 0.05$), with a mean of 28 in Medeiros 23 and in Rasa Island in the West Point. There was no significant difference in temperature between the sampling points, with an average of 25 ° C. Oysters were classified as *C. gasar* (100%). Histological analysis revealed females (57%), males (20%) and undetermined sex (22%). *C. gasar* reproduction in CEP latitude occurred intermittently with intense spawning in the hot months (mean 26.72 ° C) and in June when sea water temperature declined (20 ° C). There was resting period in both males and females in the winter and oysters parasitized by *Bucephalus* sp. (n = 25) where in some cases parasitism prevented sexing. Studies on the reproductive cycle of oysters and their genetic variation are of extreme importance for crops and the preservation of natural stocks. With the results of the reproductive cycle in three different environments, we obtained information that can help in the rational exploration of the species in the CEP region, as well as the ideal moment for induced reproduction in the laboratory for seed production. It was also possible to verify the best seasons (March, April, May, October and November) for the insertion of the artificial collectors (like pet bottles) in the water with the intention of the ostreicultores to use these seeds for later fattening in cultivation. Thus, extractivism in the environment is expected to decrease contributing to the resilience of the oyster communities present in the mangroves of the Paraná coast.

Keywords: native oysters. oyster farming. sexual stage. spawning. extractivism.

Sumário

1.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.	Artigo	12
1.	Introdução	12
2.	Material e métodos	14
2.1	Identificação molecular da espécie de ostras	15
2.2	Histologia.....	16
2.3	Análise Estatística	16
3.	Resultados	16
3.1	Identificação molecular da espécie de ostra.....	16
3.2	Temperatura e salinidade.....	17
3.3	Ciclo reprodutivo	17
4.	Discussão.....	23
5.	Conclusão	26
	Referências	27
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
4.	REFERÊNCIAS	30

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A aquicultura compreende o cultivo de organismos aquáticos que segundo a FAO (2012) é uma grande promessa para suprir as demandas de proteínas saudáveis necessárias no consumo diário do ser humano. A produção mundial da aquicultura em 2016 chegou a 80 milhões de toneladas (FAO, 2018). Deste total, 17,1 milhões de toneladas foi da produção de moluscos bivalves, um aumento de 26% em relação a década passada (Lovatelli et al., 2007), sendo 5 milhões de toneladas da produção de ostras (FAO, 2018). A China destaca-se como a maior produtora e exportadora aquícola mundial onde segundo FAO (2018) chegou a produzir 14.200 milhões de toneladas de moluscos como: mexilhões, ostras e, em menor quantidade, abalone. Outros países que se destacam na produção de moluscos em milhões de tonelada são: Japão (374), República da Coreia (356,9), Chile (307,4), Vietnã (225,4), Espanha (219,5), Tailândia (197,2), Estados Unidos da América (173,7), França (125), Itália (100,3) e Nova Zelândia (96,1) (FAO, 2018).

O cultivo de moluscos bivalves acontece a partir da extração ou captura das formas jovens em ambiente natural ou produção de sementes em laboratório (Absher e Caldeira, 2007; Baldan e Bendhack, 2009; Christo et al., 2015) e são cultivados em pequena escala, própria de comunidades pesqueiras, ou em média e grandes escalas (Absher e Caldeira, 2007). O desenvolvimento sustentável da aquicultura visa contribuir para as condições de pesca e aquicultura para garantir a sustentabilidade econômica, social e ambiental da prática (FAO, 2018) pois, de acordo com Beck et al. (2011) 85% dos bancos naturais de ostras estão extintos.

Na América Latina o Chile destaca-se com a maior produção aquícola de bivalves, com o mexilhão nativo *Mytilus chilensis* e com a vieira peruana *Argopecten purpuratus* (FAO, 2018; Lovatelli et al., 2007). No Peru, a malacocultura está presente em quase todo o país com o cultivo de vieiras *A. purpuratus* e de ostras *Crassostrea gigas* (FAO, 2005), nesta região há um percentual considerável de estoques naturais que de acordo com a FAO (2005) está relacionado com o elevado índice de produtividade marinha.

A produtividade dos sistemas de cultivo brasileiros é principalmente com o mexilhão *Perna perna* e a ostra *Crassostrea gigas* (FAO, 2016, Rupp et al., 2007) e em menor escala as ostras nativas (*Crassostrea gasar* e *Crassostrea rhizophorae*) e a vieira *Nodipecten nodosus*. Em 2016 a produção de ostras do gênero *Crassostrea sp.* chegou a 2.700 toneladas (FAO 2018).

A malacocultura brasileira teve início na década 60 nos estados da Bahia, Rio de Janeiro e São Paulo, porém, a partir de 1990 o estado de Santa Catarina consolidou essa atividade com impacto positivo na renda das comunidades litorâneas (Rupp et al., 2007.). Em 2017, Santa Catarina concentrou 98% da produção do cultivo de ostras, vieiras e mexilhões em todo o Brasil, chegando a 13.699 toneladas (IBGE 2017). De acordo com o IBGE (2017), os estados brasileiros que também mostraram destaque nas estatísticas de produção de moluscos foram: Paraná (77,38 ton.), Rio de Janeiro (75,72 ton.), São Paulo (69,07 ton.), Pará (55,75 ton.), Alagoas (50,45 ton.), Bahia (42,88 ton.), Maranhão (29 ton.) e Sergipe (3,65 ton.).

O desenvolvimento da malacocultura em Santa Catarina alavancou a condução de projetos extensionistas de produção de bivalves também nos estados do Paraná e São Paulo, sobretudo com o envolvimento das comunidades pesqueiras (Absher e Caldeira, 2007). O Complexo Lagunar de Cananéia (São Paulo) e o Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP no Paraná) apresentam grande número de estoques naturais de ostras o que permite o desenvolvimento da ostreicultura através do extrativismo (Galvão et al, 2000).

Dois áreas litorâneas do Paraná com excelente potencial para a ostreicultura são a Baía de Guaratuba e o Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP). Os pescadores artesanais da Baía de Guaratuba praticam a ostreicultura desde 1990. No ano de 2007 foram registrados 14 empreendimentos, os quais utilizam sementes de ostras produzidas em laboratório (Absher e Caldeira, 2007). No CEP, a participação de instituições de ensino e de extensão na ostreicultura teve início em 1994 quando viabilizaram alternativas sustentáveis de renda para a comunidade dos pescadores (Absher e Caldeira, 2007).

De acordo com a EMATER, no estado do Paraná há 5.500 pescadores que utilizam métodos tradicionais com embarcações de pequeno porte. Acredita-se que a produção anual de mexilhões e ostra é de aproximadamente 340 toneladas (EMATER). Segundo Absher e Caldeira (2007), existem pelo menos 80 empreendimentos que praticam a ostreicultura no CEP, acredita-se que a atividade iniciou desde a década de 1990 com produção de *C. rhizophorae* e *C. brasiliana* (= *C. gasar*).

Ostras do gênero *Crassostrea* possuem reprodução externa, em que ovócitos e espermatozoides são liberados na coluna d'água para a fertilização (Quayle e Newkirk, 1989). O tecido gonadal é formado a partir das células germinais dos tecidos conjuntivos que antecedem o coração do animal, aproximadamente 45 dias após a eclosão (Nascimento, 1991). As primeiras células germinativas são bissexuais, no entanto, segundo Nascimento (1991) as ostras *Crassostrea* spp. por serem

preferencialmente protândrica, ocorre uma proliferação da espermatogênese em animais até 20 mm de tamanho. Populações mais velhas onde os animais estão entre 40 a 60 mm de tamanho, há prevalência de fêmeas com isso, Nascimento (1991) sugere que na etapa de crescimento de 2 a 4 cm é quando ocorre a maior taxa de mudança de sexo nestas ostras, os quais podem ser definidos pela influência da salinidade e temperatura do ambiente (Castilho-Westphal et al., 2013; Gomes et al., 2014; Nascimento, 1991). Sühnel et al. (2017) observaram que ostras da espécie *C. gigas* após 15 dias de cultivo, com 10 mm de altura, já apresentavam machos em início de gametogênese.

O ciclo reprodutivo de bivalves varia em escala espacial e temporal com influência do clima e da região geográfica (Christo, 2006; Lenz e Boehs, 2011). O ciclo pode ser dividido em quatro estágios de desenvolvimento celular, de acordo com o descrito por Sühnel et al. (2010) para vieiras: gametogênese, pré-desova, desova e repouso. No período de repouso das ostras o tecido gonadal apresenta somente o tecido conjuntivo vesicular (Gomes, 2009). No início da vida as ostras são planctônicas até atingirem a fase sésil onde se fixam em substratos (Nascimento 1991). A fase planctônica compreende as etapas denominadas de embrionárias, trocófora, larva D e véliger, a bentônica se inicia com a metamorfose das larvas na etapa pedivéliger e posterior assentamento com a fixação da semente onde perdura no local durante toda a sua vida (Doiron et al., 2008).

As ostras nativas no Brasil, *C. gasar* e *C. rhizophorae*, são conhecidas como ostra do mangue e são usualmente encontradas em zonas intermareal e infralitoral (Amaral e Simone, 2014; Christo e Absher, 2006). Segundo Amaral e Simone (2014), relata a ocorrência da espécie *C. rhizophorae* desde o Pará até Santa Catarina em regiões de manguezais e de *C. gasar* desde Maranhão até Santa Catarina em manguezais e em costões rochosos (Amaral e Simone, 2014). De Melo et al. (2010), também relata a ocorrência de *C. gasar* no estado do Pará.

A pouca disponibilidade de estudos publicados sobre as espécies nativas gera dificuldade no entendimento de dados básicos e zootécnicos na morfologia e crescimento, bem como sobre o ciclo período reprodutivo. Por sua vez, as semelhanças externas destas espécies geram conflitos na sua identificação (Ignacio et al., 2000), o que pode afetar a malacocultura. Desta forma, estudos utilizando identificação molecular das espécies de ostras nativas são necessários. Pesquisas realizadas por Ignacio et al. (2000), De Melo et al. (2010) e Varela et al. (2007) nas ostras da costa do Brasil conseguiram distinguir as duas espécies nativas, *C. gasar* e *C. rhizophorae*.

Crassostrea gasar foi descrita por Adanson em 1757 e considerada sinônimo da *Crassostrea brasiliiana* a partir de deposição de dados genéticos no site “Genbank” por Pie et al. (2006) e Lapègue et al. (2002). Para *C. gasar* é crucial a temperatura da água do mar e a salinidade para o desenvolvimento reprodutivo, crescimento e sobrevivência (Pereira et al., 2001; Quayle, 1981). O cultivo desta espécie tem grande potencial para alavancar a aquicultura paranaense devido ao crescimento satisfatório para a comercialização e adaptação a intempéries (Cavaleiro et al., 2016; Christo, 2006; Legat et al., 2017; Pereira et al., 2003).

O estudo do comportamento reprodutivo de *C. gasar* no estado do Paraná foi feito por meio do índice de condição, onde o peso do animal sugere as condições de gônadas cheias, parcialmente cheias ou vazias (Christo e Absher, 2006), pela distribuição de larvas na coluna d’água (Montanhini-Neto et al., 2013) e análise histológica (Castilho-Westphal et al., 2013). Apesar da ocorrência de intervalos de repouso no ciclo reprodutivo, o período de pré-desova de *C. gasar* no litoral paranaense segundo Castilho-Westphal et al. (2013), Christo e Absher (2006) e Montanhini-Neto et al. (2012) é principalmente no verão.

Apesar das iniciativas de cultivo, a obtenção de ostras para estocar nos sistemas produtivos ainda é feita em grande parte, por extrativismo (Christo et al., 2015). Sendo assim a sustentabilidade e a resiliência das comunidades ostreicultoras dependem de mecanismos que permitam gerenciar os estoques naturais combinando produção e conservação. Desta forma é fundamental conhecer o ciclo reprodutivo para o sucesso da ostreicultura, portanto, este trabalho avaliou o ciclo reprodutivos de ostras *C. gasar* cultivadas em três locais na Baía das Laranjeiras, estuário pertencente ao Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP).

2. ARTIGO

CICLO REPRODUTIVO DE OSTRAS *Crassostrea gasar* CULTIVADAS NA BAÍA DAS LARANJEIRAS (PR)

O artigo será enviado para publicação no periódico Journal of Shellfish Research, tendo sido redigido de acordo com as normas da revista.

Ciclo reprodutivo de ostras *Crassostrea gasar* cultivadas na Baía das Laranjeiras (PR)

Taís Serpa Afonso¹, Evelyn Zenira de Araújo¹, Simone Sühnel, Rodolfo Luis Petersen¹ e Francisco José Lagreze-Squella¹

Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Avenida Rio Grande do Norte, s/n, Balneário Mirassol, Pontal do Paraná 83255000, Brasil.

Resumo: A sustentabilidade e a resiliência das comunidades ostreicultoras dependem de mecanismos que permitam gerenciar os estoques naturais combinando produção e conservação. Desta forma é fundamental conhecer o ciclo reprodutivo para o sucesso da ostreicultura. Neste sentido, este trabalho avaliou o ciclo reprodutivos de ostras *Crassostrea gasar* cultivadas em três locais no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP). Os estudos foram conduzidos na Baía das Laranjeiras (25 ° 30's; 48 °30'w) em três pontos amostrais: Ilha Rasa, Medeiros e Ponta Oeste da Ilha do Mel. De novembro de 2017 a outubro de 2018, ostras adultas (n=30) foram coletadas mensalmente, totalizando 360 ostras. Temperatura e salinidade foram registrados *in loco* com CTD na ocasião das coletas. Em laboratório, foi realizada a biometria dos animais e através de análise molecular, as ostras foram identificadas a nível de espécie. A análise histológica do tecido gonadal foi realizada com lâminas coradas em hematoxilina de Harris e eosina. A variação da salinidade foi significativa ($p < 0,05$) sendo em Ponta Oeste a média de 28, Medeiros 23 e em Ilha Rasa 21. Não houve diferença significativa na temperatura entre os pontos amostrais sendo a média de 25°C. As ostras foram classificadas da espécie *C. gasar* (100%). A análise histológica revelou fêmeas (57%), machos (20%) e sexo indeterminado (22%). A reprodução de *C. gasar* na latitude do CEP ocorreu de forma intermitente com desova intensa nos meses quentes (média 26,72°C) e no mês de junho quando ocorreu declínio da temperatura da água do mar (20°C). Houve estágio de repouso tanto em machos quanto em fêmeas no inverno e ostras parasitadas por *Bucephalus* sp. (n=25) onde em alguns casos o parasitismo impossibilitou a sexagem. Estudos sobre o ciclo reprodutivo das ostras e sua variação genética são de extrema importância para os cultivos e para a preservação dos estoques naturais. Com os resultados do ciclo reprodutivo em três ambientes diferentes, obtivemos informações que podem auxiliar na exploração racional da espécie na região do CEP, bem como o momento ideal para a reprodução induzida em laboratório para produção de sementes. Foi possível verificar também as melhores épocas para inserção dos coletores artificiais na água com o intuito dos ostreicultores utilizarem destas sementes para posterior engorda em cultivo. Com isso, é esperado que o extrativismo no ambiente diminua contribuindo com a resiliência das comunidades de ostras presente nos manguezais do litoral do Paraná.

Palavras chave: ostra nativa, ostreicultura, estágio sexual.

1.Introdução

Ostras do gênero *Crassostrea* (Sacco, 1897) são importantes para a ostreicultura mundial (Cavaleiro et al., 2006) tanto devido ao valor nutricional da carne quanto pela rentabilidade de sua comercialização (Ajana, 1980). No Brasil as duas espécies nativas *Crassostrea gasar* (= *C. brasiliana*) e *Crassostrea rhizophorae* e a espécie exótica *Crassostrea gigas* são as principais espécies para a aquicultura (Souza Sampaio et al., 2017).

Popularmente conhecidas como ostra do mangue, *C. gasar* e *C. rhizophorae* formam bancos naturais nas regiões intermareal e infralitoral, costões rochosos ou manguezais (Christo e Absher, 2006). Embora represente uma fonte de renda para comunidade litorânea, grande parte do estoque mantido em sistemas produtivos ainda se origina da natureza (Christo et al., 2015). Cerca de 85% dos bancos de naturais de ostras do planeta estão extintos (Beck et al., 2011). A constante extração destes bivalves filtradores do ambiente natural afeta a capacidade do ecossistema em produzir padrões de qualidade de água e habitat para outros organismos (Lotze, 2006).

O comportamento reprodutivo das ostras é analisado através do estudo de seu ciclo, em uma escala de tempo e espaço e em relação a variáveis ambientais como temperatura e salinidade (Castilho-Westphal e Ostrensky, 2017; Montanhini-Neto et al., 2013). A espécie *C. gasar* tem grande potencial para alavancar a aquicultura paranaense devido ao crescimento satisfatório para a comercialização e adaptação a intempéries (Cavaleiro et al., 2016; Legat et al., 2017; Pereira et al., 2003).

Os estágios de desenvolvimento gonádico de *C. gasar* podem receber distintas denominações: gametogênese, pré desova, desova e repouso, descritos também para os bivalves *Anomalocardia brasiliana* e *Nodipecten nodosus* (Lagrece-Squella et al., 2018; Sühnel et al., 2010). As primeiras células germinativas são bissexuais, no entanto, por ser uma espécie protândrica, ocorre uma proliferação da espermatogênese onde segundo Nascimento (1991) na etapa de crescimento de 20 a 40 mm ocorre a maior taxa de mudança de sexo nas ostras, os quais podem ser definidos pela influência da salinidade e temperatura do ambiente (Castilho-Westphal et al., 2013; Gomes et al., 2014; Nascimento, 1991). Sühnel et al. (2017) observaram que ostras da espécie *C. gigas* após 15 dias de cultivo, com 10 mm de altura, já apresentavam machos em início de gametogênese.

Por não apresentarem dimorfismo sexual externo, a histologia vem sendo utilizada como ferramenta de identificação de sexo e estágios reprodutivos em diversos estudos (Castilho-Westphal et al., 2013; Galvão et al., 2000; Gomes et al., 2014; Ferreira et al., 2006; Montanhini-Neto et al., 2013).

A obtenção de ostras no Paraná para estoque nos sistemas produtivos ainda é feita em grande parte, por extrativismo (Christo et al., 2015). A sustentabilidade e a resiliência das comunidades ostreicultoras dependem de mecanismos que permitam gerenciar os estoques naturais combinando produção e conservação. Desta forma é fundamental conhecer o ciclo reprodutivo para o sucesso da ostreicultura. Este trabalho avaliou o ciclo reprodutivo de ostras *C. gasar* cultivadas em três locais na Baía das Laranjeiras, estuário pertencente ao Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP).

2. Material e métodos

Os estudos foram conduzidos no CEP, Baía das Laranjeiras (25 ° 30's; 48 ° 30'w) em três pontos amostrais: Ilha Rasa, Medeiros e Ponta Oeste da Ilha do Mel na Baía (Figura 1). De novembro de 2017 a outubro de 2018, ostras adultas (n=30) foram coletadas mensalmente por ponto amostrado, totalizando em 360 ostras analisadas em cada local. Temperatura e salinidade foram registrados *in loco* com CTD (Condutividade, Temperatura e Profundidade) na ocasião das coletas.

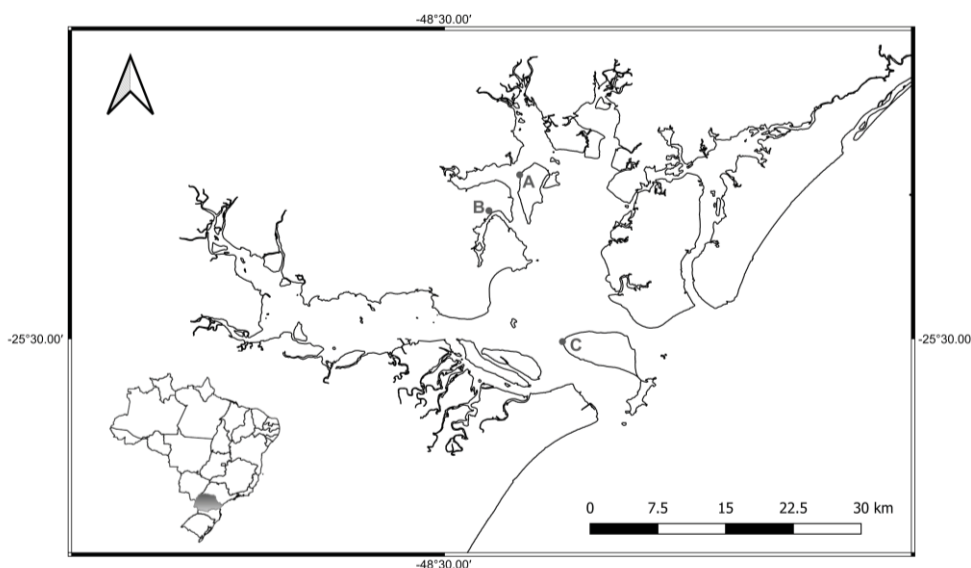


Figura 1: Mapa do Brasil, do estado do Paraná e do Complexo Estuarino de Paranaguá, com destaque para as localidades estudadas: A – Ilha Rasa, B – Medeiros e C – Ponta Oeste.

As ostras utilizadas neste estudo foram compradas de produtores de cada local de coleta, os quais obtêm as sementes ou juvenis da retirada no ambiente natural. Na Ponta Oeste e em Medeiros as ostras eram cultivadas em lanternas fixadas a *long-lines* (densidade: 5 dúzias por andar e profundidade do cultivo aproximadamente 3

metros). Na Ilha Rasa, as ostras eram cultivadas em região intermarel diretamente no sedimento (cultivo no lodo).

Após a obtenção das ostras, estas eram transportadas em caixas térmicas para o laboratório do Centro de Estudos do Mar e realizada a biometria (altura das ostras medida de acordo com Galtsoff (1964) utilizando um paquímetro de precisão 0,02mm. Após a biometria, os animais foram abertos e retirada uma secção transversal das partes moles para histologia, como descrito por Sühnel et al (2016), e um fragmento do tecido muscular para identificação molecular da espécie. As amostras de tecido para histologia foram fixadas em solução de Davidson com ácido acético (5%) e as de tecido muscular armazenadas em álcool absoluto.

2.1 Identificação molecular da espécie de ostras

Para identificação das espécies de ostras utilizadas no estudo do ciclo reprodutivo, foi extraído DNA do tecido músculo adutor com o Kit de extração de DNA Accuprep Genomic DNA extraction Kit (Bioneer) seguindo o protocolo do fabricante. Tecidos das trinta ostras de cada ponto foram macerados e deste pool resultou uma amostra mensal por ponto. A concentração e qualidade do DNA foram estimadas em aparelho espectrofotômetro (Eppendorf).

A amplificação do DNA foi realizada através da técnica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) seguindo o protocolo de Ludwig et al. (2001) com adaptações. As amostras foram processadas com dois primers específicos para *C. rhizophorae* e *C. gasar* (Tabela 1). A reação de PCR teve um volume final de 20 µl onde 2,5U de TaqPlatinum (Invitrogen), 1X de tampão de PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,4 µM de primer e 2µg/µl de DNA e o complemento do volume final com água MiliQ.

Tabela 1: Sequência de primers utilizados para amplificação do segmento de DNA para identificação das espécies de ostras.

<i>Espécie</i>	<i>Primer Forward</i>	<i>Primer Reverse</i>	<i>Gene</i>	<i>Referência</i>
<i>C. rhizophorae</i>	GCCCAGTGCGATATTAAGTC	CGAACAGACCTACTCACT	16S	Ludwig et al. (2011)
<i>C. gasar</i>	CACTGTCTCTTAGTTCTATG	AAGCCCTTTAGTTAATACGAG	16S	

A reação de amplificação foi realizada em termociclador programado para uma desnaturação inicial a 94°C por 4 minutos, 32 ciclos de desnaturação a 94°C por 20 segundos, anelamento a 59°C por 44 segundos, e extensão da fita a 72°C por 30

segundos, seguida de extensão final a 72°C por 1 minuto. Após, a reação foi avaliada em gel de agarose 1% corado com Syber green (condições de corrida: 90V por 50 min.) e visualizados em um transluminador (Locus Biotecnologia L.Pix).

2.2 Histologia

Após fixação em Solução de Davidson, as amostras foram armazenadas em álcool 70% até seu processamento. A inclusão foi realizada em parafina e em seguida cortado a uma espessura de 5 µm em micrótomo com navalhas descartáveis. Os cortes foram colocados em lâminas de vidro, corados com Hematoxilina de Harris e Eosina (Howard et al., 2004) e, após receberem lamínulas, observados ao microscópio de luz (Olympus Optical Co., modelo CX40RF 100) para identificação do sexo e do estágio reprodutivo. Para identificação do estágio reprodutivo foram utilizados critérios definidos por Sühnel et al. (2010) e Lagreze-Squella et al. (2018): gametogênese, pré desova, desova e repouso.

2.3 Análise Estatística

Os dados de parâmetros ambientais foram analisados com o teste de normalidade Shapiro-Wilk e com o teste de homogeneidade das variâncias ANOVA utilizando o sistema estatístico R.

3.Resultados

3.1 Identificação molecular da espécie de ostra

A análise molecular indicou que 100% das ostras neste estudo são da espécie *C. gasar* (Figura 2).

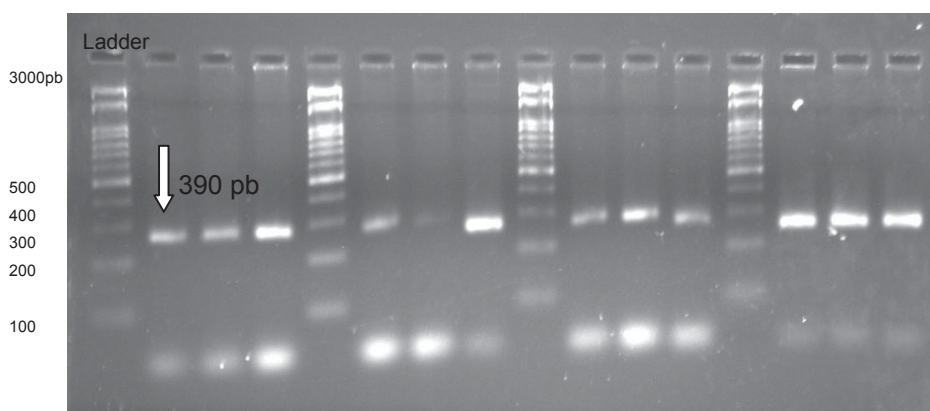


Figura 2: Exemplo de gel de agarose com o DNA amplificado utilizando o primer de *C. gasar*. Bandas de aproximadamente 390 pares de base (pb).

3.2 Temperatura e salinidade

A temperatura da água do mar (Figura 3) nos três locais de cultivos não variou significativamente durante o período de estudo, sendo a média em Ilha Rasa de $24 \pm 0,4$ °C, em Medeiros de $25 \pm 0,2$ °C e na Ponta Oeste de $25 \pm 0,2$ °C. Já a salinidade apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os pontos amostrais ao longo do tempo, sendo a média em Ilha Rasa de $21 \pm 0,4$, em Medeiros de $23 \pm 0,3$ e na Ponta Oeste de $28 \pm 0,2$

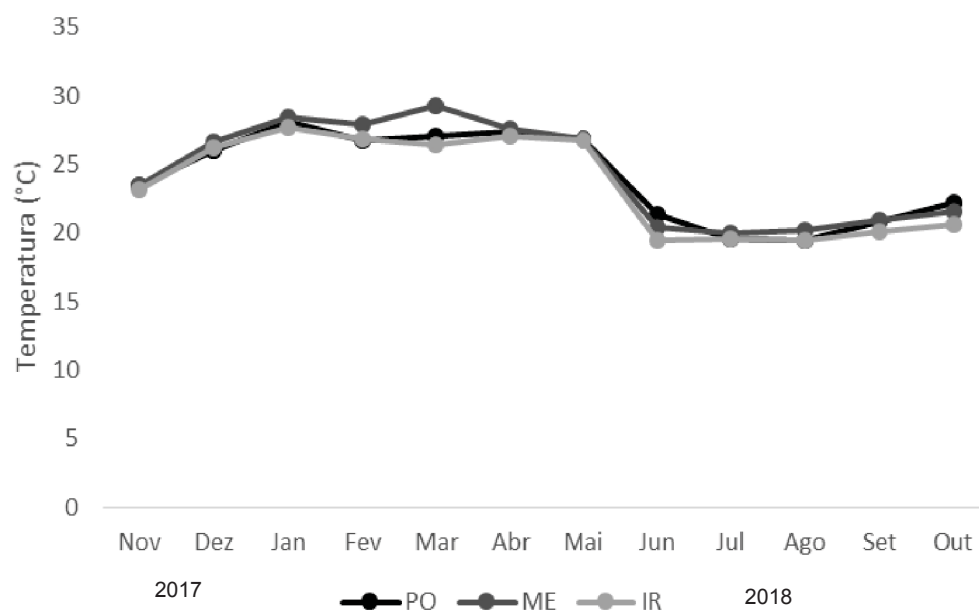


Figura 3: Variação da temperatura nos três pontos de amostragem, Ponta Oeste- PO, Medeiros- ME e Ilha Rasa- IR, ao longo do tempo.

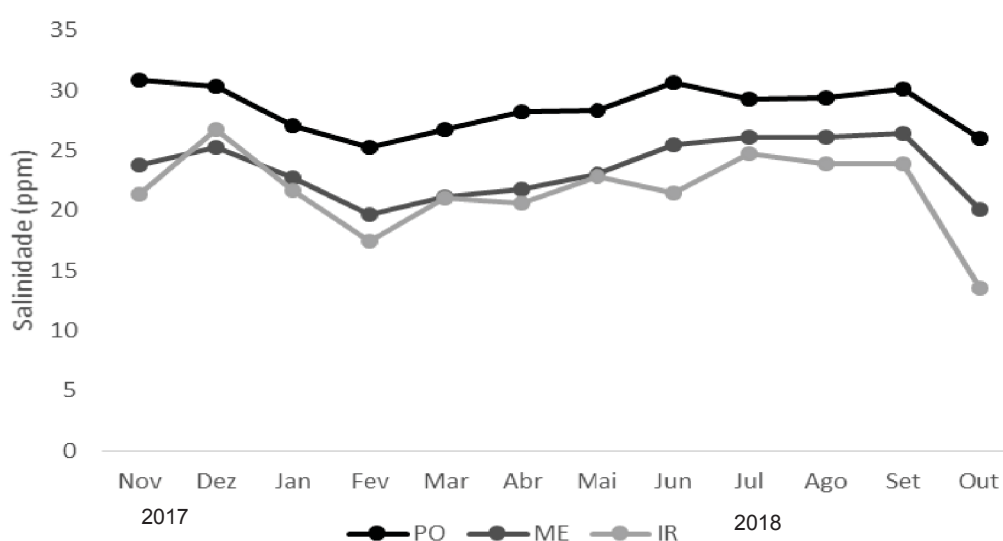


Figura 4: Variação da salinidade nos três pontos de amostragem, Ponta Oeste- PO, Medeiros- ME e Ilha Rasa- IR, ao longo do tempo

3.3 Ciclo reprodutivo

A análise histológica das amostras de *C. gasar* revelou os quatro estágios reprodutivos: gametogênese, maturação, desova e repouso (Figura 5). Em Ponta Oeste, das 348 amostras, a frequência de fêmeas 2,90 para cada macho (2,90F: 1 M). Medeiros a relação foi de 2,39 F: 1M e em Ilha Rasa, 3,26 F: 1 M. Entre as ostras coletadas, a menor altura em Ponta Oeste foi de 70,1 mm e a maior foi de 132,8 mm. Em Medeiros a menor altura foi de 65,5 mm e a maior 124,1 mm já em Ilha Rasa foi 62,3 mm e 111 mm (Tabela 2).

Tabela 2: Valores médios da altura das ostras em milímetros em cada ponto/mês de coleta.

<i>Mês de Coleta</i>	<i>Local de Coleta</i>		
	Ponta Oeste (mm)	Medeiros (mm)	Ilha Rasa (mm)
Nov	87	79,5	94
Dez	72	98,5	101
Jan	84	87	76,5
Fev	99	85	82
Mar	74	78	79,5
Abr	79	79	74
Mai	94,5	95	84
Jun	86	95	83
Jul	83	86	79,5
Ago	95,5	82,5	80
Set	99	87	87
Out	79	90,5	69,06

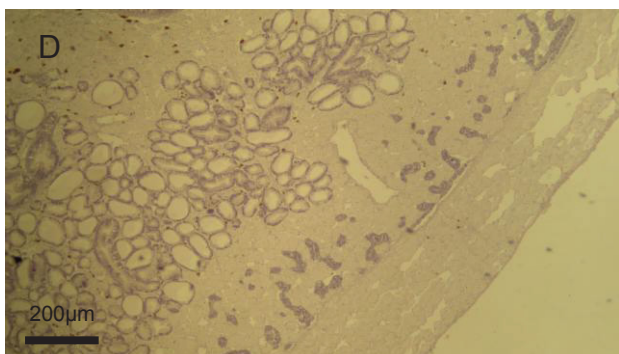
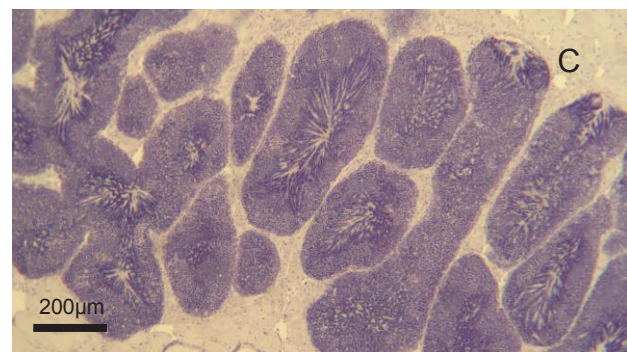
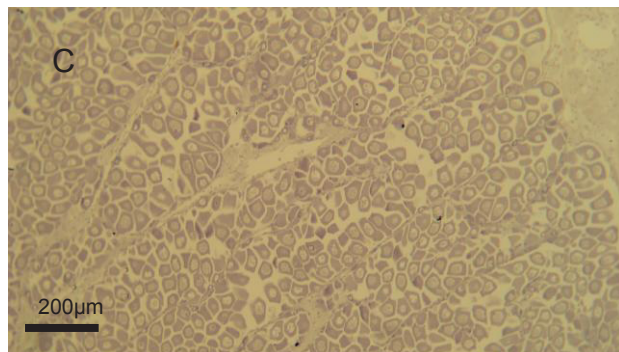
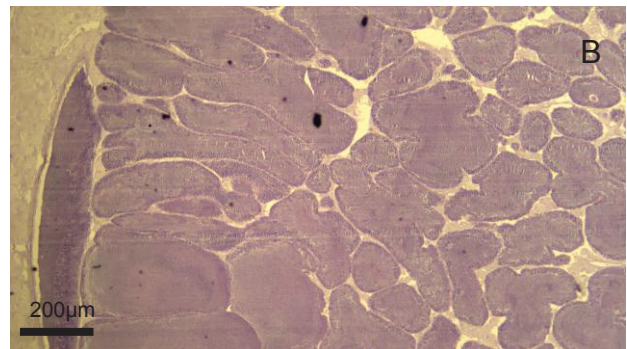
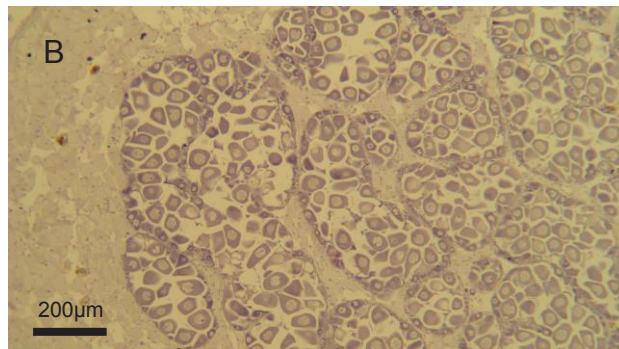
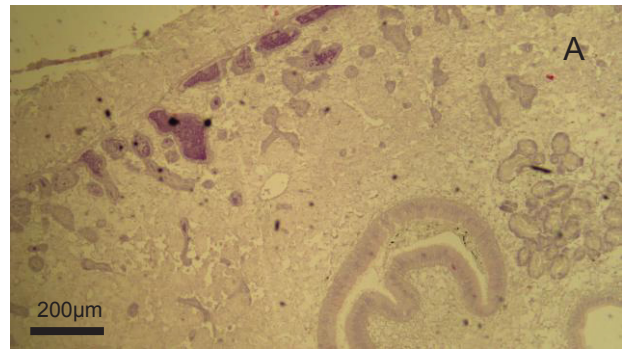
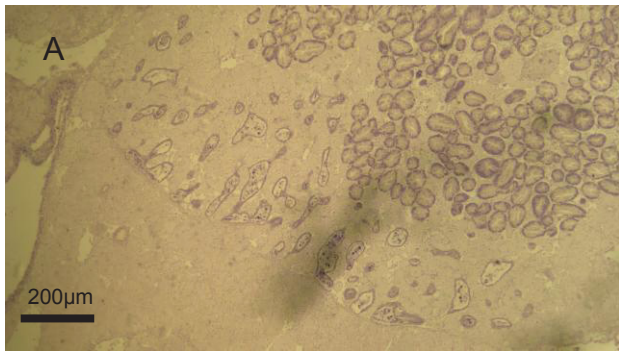


Figura 5: Estágios reprodutivos de *C. gasar* fêmea e macho (coluna esquerda e direita, respectivamente) onde: A – gametogênese, B – pré desova, C – desova e D – repouso.

Na Ponta Oeste, a avaliação do ciclo reprodutivo das fêmeas de *C. gasar*, mostrou 100% dos animais em estágio de pré-desova em novembro, já nos meses seguintes (dezembro, janeiro e fevereiro) houve predomínio da desova, com algumas ostras em pré-desova, gametogênese e repouso (Figura 6). Em março, abril e maio de 2018 os animais retornaram para pré-desova seguida por uma desova de 100% em junho. Em julho 47% das fêmeas desovaram, enquanto 53% entraram no estágio repouso. No mês de agosto 100% de repouso, setembro foi o maior percentual de indivíduos em estágio de gametogênese dando início a mais um ciclo reprodutivo, seguido por pré-desova no mês de outubro. Já os machos, neste mesmo local, nos meses iniciais (novembro, dezembro, janeiro e fevereiro) estavam em pré-desova (mais de 50%) sendo fevereiro o máximo de pré desova (Figura 6). Em março os machos estavam em desova, prosseguindo para pré-desova em abril e maio. Em junho e julho começaram a desovar novamente, seguido por um repouso no mês de agosto e setembro. Foi observado no mês de setembro machos em gametogênese.

Em Medeiros, o ciclo reprodutivo das fêmeas também mostrou uma oscilação de pré-desova e desova nos primeiros quatro meses de amostra, onde: estágio de pré-desova em novembro, desova em dezembro, pré-desova e desova em janeiro seguido por desova em fevereiro (Figura 6). Em março, observou-se, fêmeas em estágio de pré-desova, em repouso e gametogênese. Em abril e maio, a prevalência foi da pré-desova com poucos animais em repouso e gametogênese. Em junho e julho houve desova e repouso dos animais e em agosto e setembro foi observado 100% de gametogênese seguido por de pré-desova em outubro. Os machos deste local também mostraram estágio de pré-desova e desova durante os quatro primeiros meses do ano, sendo os picos da pré-desova em novembro, dezembro e fevereiro e desova em janeiro (Figura 2). Em março houve presença de pré-desova, desova e repouso, enquanto no mês de abril pode ser observado os quatro estágios reprodutivos. Em junho e setembro, os machos estavam em gametogênese e em repouso e em outubro 100% dos machos em estágio de desova.

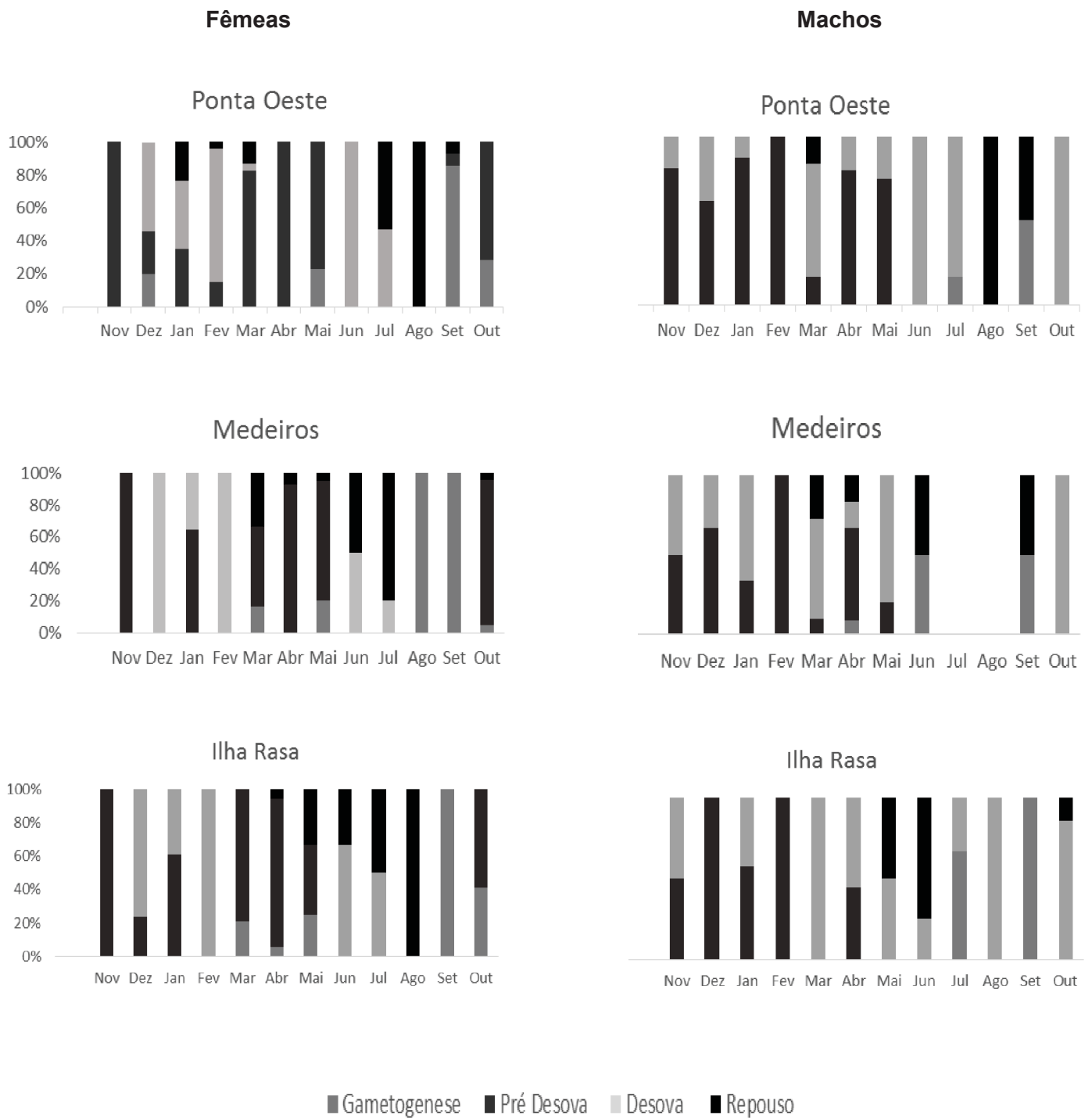


Figura 6: Distribuição temporal dos estágios reprodutivos de fêmeas e machos (gametogênese, pré-desova, desova e repouso) do molusco *Crassostrea gasar* em três locais: Medeiros, Ilha Rasa e Ponta Oeste na Baía das Laranjeiras (PR) de novembro de 2017 (T0) a outubro de 2018 (T11).

Na Ilha rasa no mês de novembro, o estágio reprodutivo das fêmeas também foi em estágio de pré-desova. Já em dezembro e janeiro foi observada desova e pré-desova. Em fevereiro, 100% das fêmeas apresentavam-se em estágio de desova (Figura 6). Em março foi observado alguns animais em gametogênese e pré-desova e em abril e maio em gametogênese, pré-desova e repouso. Em junho e julho as ostras estavam desovando e algumas fêmeas em repouso. Agosto foi observado 100% de repouso seguido por 100% de gametogênese, em setembro e outubro gametogênese e pré-desova. Já os machos avaliados em Ilha Rasa mostraram pré-desova e desova nos seis meses iniciais (Figura 6), onde dezembro e fevereiro foi 100% de pré-desova e março 100% de desova. Em maio e junho os animais estavam em estágio de desova e em repouso. Em julho estavam em gametogênese e desova. Já em agosto, 100% dos machos estavam em desova e em setembro 100% em gametogênese. No último mês avaliado, pode-se observar 86% dos machos em desova e 14% em repouso.

Na Ponta Oeste, em todos os meses exceto junho, houve problemas para identificar o sexo de ostras em função do repouso gonadal, início gametogênese ou do intenso parasitismo por *Bucephalus* sp.. Ostras onde não foi possível identificar o sexo (chamado de sexo indeterminado) estavam no estágio repouso, com 30% em maio e 78% em junho. Animais indeterminados também foram observados no estágio inicial de gametogênese, logo após o período de repouso. Nestes casos, alguns animais estavam começando a desenvolver os folículos germinativos, onde não foi possível identificar o sexo (54% em setembro).

Outro fator que impossibilitou a identificação do sexo, foi a presença do parasito trematódeo *Bucephalus* sp. (Figura 7). Durante o período estudado, das 1031 ostras 24 espécimes estavam infectados. Apesar da presença deste parasito nos três pontos, nota-se uma predominância em Ponta Oeste (Figura 7). O sexo dos animais não pode ser identificado, pois o alto grau de parasitismo evidente, havendo estruturas do parasito em todo tecido gonadal.

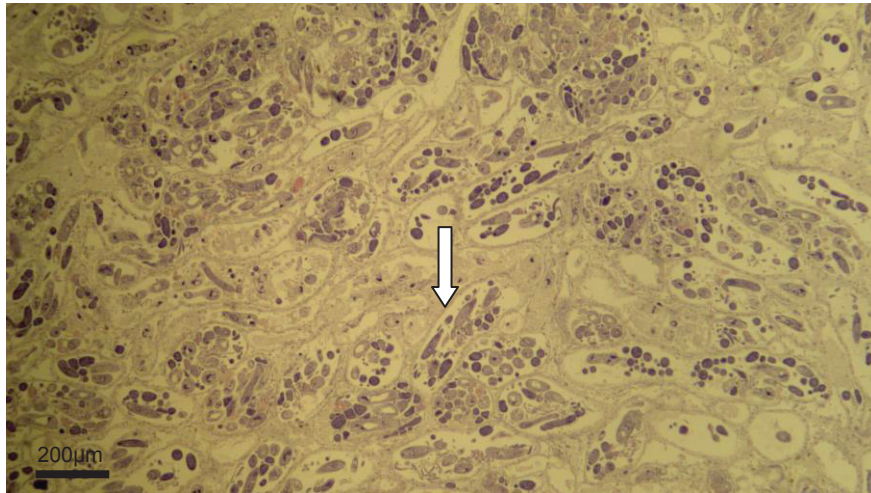


Figura 7: *Bucephalus* sp. parasitando o tecido gonadal de ostras *C. gasar* de cultivo.

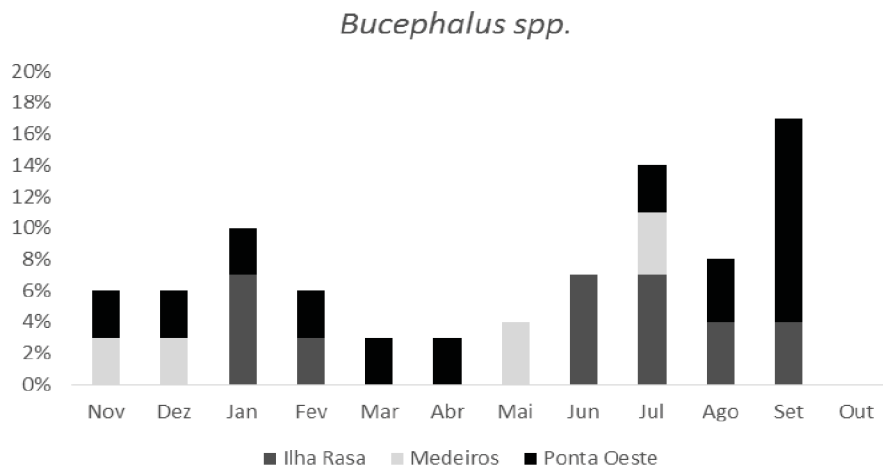


Figura 8: Prevalência de *Bucephalus* sp. em ostras *C. gasar* dos três pontos amostrais durante o período de estudo.

4. Discussão

A utilização de análises moleculares para identificação de espécies de ostras vem sendo aplicado pela confiabilidade dos resultados (Ignacio et al., 2000; Legat et al., 2009; Ludwig et al., 2011; De Melo et al., 2010) devido a semelhança morfológica entre os reprodutores desta espécie (Ignacio et al., 2000). Lapègue et al. (2002) e Ignacio et al. (2000) através da biologia molecular identificaram a presença de *C. gasar* na Baía de Guaratuba e Complexo Estuarino de Paranaguá (PR). A viabilidade comercial desta espécie é importante devido ao tamanho externo do animal (entorno de 60mm) atrativo para o consumidor (Absher e Caldeira, 2007). Neste estudo, a espécie *C. gasar* foi a única espécie encontrada em todas as ostras analisadas, este

fato sugere que pode haver um critério de escolha das ostras por parte dos pescadores quando vão à região dos manguezais para a coleta do animal ou pela predominância desta espécie nos locais estudados.

Os principais fatores para regularização da reprodução de *C. gasar* são os fatores abióticos temperatura e salinidade (Castilho-Westphal e Ostrensky, 2017; Gosling, 2003; Lopes et al., 2013; Montanhini-Neto et al., 2013). Temperaturas entre 18°C a 26°C podem induzir a desova de *C. gasar* (Ramos et al., 2014, Pereira et al., 2001) e salinidades entre 15‰ a 35‰ são toleráveis para a sobrevivência da espécie mostrando o comportamento euriálico (Funio et al., 2015). Em laboratório, o desenvolvimento das larvas de *C. gasar* em salinidade 28 foi considerado o melhor padrão para larvas normais (Legat et al., 2017a). No presente estudo, apesar da pequena variação da temperatura e da salinidade, os três locais de estudo apresentaram um padrão semelhante no estágio de pré-desova, tanto em fêmeas quanto em machos.

Além da regularização da reprodução, os fatores abióticos podem influenciar na proporção de machos e fêmeas no meio natural. A quantidade superior de fêmeas em relação aos machos encontrado neste trabalho pode ser observado nas populações de ostras da natureza (Castilho-Westphal et al., 2013; Christo e Absher, 2006) bem como em estudo laboratorial (Ramos et al., 2014). Regiões com baixa salinidade entre 12 a 25 a relação sexual de machos é superior a fêmeas, já em variações da salinidade entre 25‰ a 32‰ a relação inverte (Galvão 2000). A variação da salinidade neste estudo foi entre 22‰ a 31‰ sugerindo como Gomes et al. (2014) que regiões mais salinas estão associadas a maior presença de ostras fêmeas. Segundo Guo et al. (1998) a proporção também está relacionada com a idade dos animais, onde populações jovens há predominância de machos e populações amadurecidas a de fêmeas. Como podemos observar que a taxa de crescimento condiz com a idade da população, a média da altura das ostras observadas neste trabalho mostra que as ostras já estão desenvolvidas sendo considerada uma população madura corroborando com a presença majoritária de fêmeas nos três pontos amostrais.

Mesmo com o menor número de machos em um ambiente, a reprodução das ostras não é prejudicada pois, segundo Lenz e Boehs (2011) a recuperação mais rápida do tecido gonadal e as condições ambientais favoráveis a desova fazem com que o indivíduo macho possa liberar gametas com maior frequência que as fêmeas.

Mesmo com a presença de fêmeas e machos no estudo, foi possível também observar a presença de ostras onde não foi possível identificar o sexo. Ostras *C. gasar* denominadas como sexo foram apontadas por vários autores (Castilho-Westphal et al. 2013; Christo e Absher, 2006; Ramos et al., 2014). Christo e Absher (2006) por meio

do índice de condição analisaram gônadas vazias quando não houve presença do tecido gonadal recoberto a glândula digestiva e definiram as ostras nestas condições como sexo indeterminado. Neste trabalho o sexo indeterminado foi em função do repouso, do início da gametogênese, em que houve ausência de tecido germinativo suficiente para definição sexual precisa ou de parasitismo. Semelhante a Gomes et al. (2014), o inverno foi o período com maior índice de animais indeterminados em período de repouso.

A reprodução intermitente de *C. gasar* foi descrita como característica da espécie (Castilho-Westphal et al., 2013; Christo e Absher, 2006; Galvão et al., 2000; Gomes et al., 2014; Nascimento, 1991). De modo semelhante a Christo et al. (2015) avaliando o ciclo reprodutivo de *C. brasiliiana* comercializada no CEP, a desova das fêmeas ocorreu intensamente no final da primavera, verão e no mês de junho e intermitentemente nos demais meses estudados. O percentual de desova foi correspondido com os meses onde a temperatura estava 30°C e 19°C (junho) mostrando que o choque térmico pode ser um indício para estimular a liberação de gametas o que também pode ser observado no trabalho de Christo et al. (2015). Na região de Cananéia (São Paulo), Galvão et al. (2000) observou o maior índice de desova na primavera (Temperatura 25°C) onde o aumento da temperatura influenciou na excreção/liberação de gametas. Lenz e Boehs (2011) salientam também que as estações chuvosas correspondidas pelos meses onde há aumento da temperatura e diminuição da salinidade as ostras prevalecem em desova. O verão no litoral paranaense é conhecido pelo aquecimento da água do mar e elevado índice de chuva (média de 2500mm) (Lana et al., 2001) como podemos observar o aumento da temperatura e diminuição da salinidade nos resultados obtidos neste trabalho nos meses de janeiro, fevereiro e março.

Além dos fatores ambientais, as estratégias reprodutivas variam também de acordo com a latitude. No nordeste do Brasil, caracterizados por baixas latitudes, *C. gasar* apresenta ciclo reprodutivo intermitente com desovas ao longo do ano e poucos indivíduos em estágio de repouso (Paixão et al., 2013). Em latitudes mais altas como Paraná e Santa Catarina, o ciclo permanece intermitente com máximos de desova na primavera e verão e períodos de repouso no inverno (Castilho-Westphal et al., 2013; Gomes et al., 2014).

Outra forma que pode influenciar nas estratégias reprodutivas das ostras é a presença de parasitas. Durante o andamento deste trabalho houve o registro do parasitismo de ostras pelo trematódeo *Bucephalus* sp. encontrado também na análise do ciclo reprodutivo de *C. brasiliiana* (Galvão, 2000) e do mexilhão *Perna perna* (Magalhães, 1998). O trematódeo utiliza de organismos bivalves como hospedeiros

intermediários no seu ciclo de vida (Marchiori et al., 2010) onde utiliza das reservas lipídicas e do glicogênio do animal para suprir as necessidades nutritivas de tal forma que regride a produção dos folículos do hospedeiro. Semelhante a argumentação de Galvão et al. (2000), as ostras parasitadas neste trabalho não apresentaram nenhuma célula germinativa podendo inferir uma esterilização do animal. Um fator importante para a presença do parasita é a temperatura da água do mar, onde, de acordo com Magalhães (1998) temperaturas mais frias há maior concentração de infestação por *Bucephalus* sp.. A autora menciona que no período amostral do estudo cerca de 60% dos animais infestados foram encontrados nos meses de junho, julho, agosto e setembro onde a temperatura estava em torno dos 20°C. O mesmo pode ser observado com *C. gasar* neste trabalho onde, no mês de junho a temperatura da água do mar caiu para 20°C e permaneceu até o mês de setembro, período este onde houve maior registro do parasitismo (Figuras 3 e 7).

Estudos sobre a o ciclo reprodutivo das ostras e a sua variação genética são de extrema importância para os cultivos e para a preservação dos estoques naturais (Legat et al., 2009) bem como a influência do parasitismo na vida do animal. No litoral paranaense a captura das ostras é de fácil acesso devido a presença dos bancos naturais o que gerou a intensa exploração deste recurso (Erse e Bernardes, 2008). Com a descrição histológica dos estágios reprodutivos, pode-se indicar a melhor época para inserção dos coletores artificiais para que as larvas de ostras possam se fixar e, a partir das sementes formadas, os ostreicultores possam inseri-las no sistema de cultivo para engorda, crescimento e posterior comercialização. Este estudo do ciclo reprodutivo é importante também para conhecer o momento ideal para uma reprodução induzida em laboratório. Com isso, é esperado que o extrativismo no ambiente diminua contribuindo com a resiliência das comunidades de ostras presente nos manguezais do litoral do Paraná.

Estudos futuros são sugeridos para identificação da espécie de *Bucephalus* que está parasitando a ostra *C. gasar*, para melhor entender sua relação com o hospedeiro. Bem como avaliação da captação de sementes em coletores artificiais e os picos de desova em ambiente natural. Este trabalho traz informações importantes para o manejo sustentável da ostreicultura no CEP.

5. Conclusão

- Na latitude do Complexo Estuarino de Paranaguá, o ciclo reprodutivo de *C. gasar* é intermitente com desova intensa nos meses quentes e quando ocorre o declínio abrupto da temperatura da água do mar;

- Observa-se o estágio de repouso gonadal tanto em machos quanto em fêmeas;
- Observa-se ostras parasitadas por *Bucephalus* sp. e em alguns casos o parasitismo impossibilitou a sexagem;
- Sugerir os meses de abril e maio para inserir coletores na água.

REFERÊNCIAS

Absher T. M., Caldeira G. A. 2007. Caracterização dos parques de cultivo de ostras do litoral do paraná: aspectos técnico-produtivos e socioeconômicos. Cap 19, 181-194. In: Barroso G. F., Poersch, L. H. da S., Cavalli R. O. 2007. Sistemas de cultivos aquícolas na zona costeira do Brasil: recursos, tecnologias, aspectos ambientais e socioeconômicos. Rio de Janeiro: Museu Nacional. p. 316 : il. ;28cm. Série Livros: 26.

Ajana, A.M., 1980. Fishery of the mangrove oyster, *Crassostrea gasar*, Adanson (1957), in the Lagos area, Nigeria. Aquaculture 21, 129–137.

Beck M.W., Brumbaugh R.D., Airoidi L., Carranza A., Coen L.D., Crawford C., Defeo O., Edgar G.J., Hancock B., Kay M.C., Lenihan H.S., Luckenbach M.W., Toropova C.L., Zhang G., Guo X., 2011. Oyster Reefs at Risk and Recommendations for Conservation, Restoration, and Management. Bioscience 61, 107–116.

Castilho-Westphal G.G., Magnani F.P., Ostrensky A. 2013. Gonad morphology and reproductive cycle of the mangrove oyster *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819) in the Ba a de Guaratuba, Paraná, Brazil. Acta Zool. 96, 99–107.

Castilho-Westphal, G.G., Ostrensky, A., 2017. Temporal variation in larval abundance of the mangrove oyster *Crassostrea* sp. in an estuary of Southern Brazil. Archives of Veterinary Science. 22, 18–27.

Cavaleiro N.P., Sol -Cava A.M., Melo C.M.R., De Almeida L.G., Lazoski C., Vasconcelos A.T.R., 2016. The complete mitochondrial genome of *Crassostrea gasar* (Bivalvia: Ostreidae). Mitochondrial DNA Seq. Anal. 27, 2939–2940.

Christo S. W., Absher T. M. 2006. Reproductive Period of *Crassostrea Rhizophorae* (Guildind, 1828) and *Crassostrea Brasiliiana* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Ostreidae) in Guaratuba Bay, Paraná, Brazil. Journal of Coastal Research. 39, 1215-1218.

Christo S. W., Ivachuk C. S., Veronese F. C., Ferreira-Jr A. L., Absher T. M. 2015. Descri o alimentar e estágio de maturac o de *Crassostrea brasiliiana* comercializadas no mercado municipal de Paranaguá, Paraná, Brasil. Brazilian Journal of Aquatic Science and Tecnology. 19 (2), 1-9.

De Melo A.G.C., Varela E.S., Beasley C.R., Schneider H., Sampaio I., Gaffney P.M., Reece K.S., Tagliaro C.H., 2010. Molecular identification, phylogeny and geographic distribution of Brazilian mangrove oysters (*Crassostrea*). Genetics and Molecular Biology. 33, 564–572.

De Souza Sampaio, D., Tagliaro, C.H., Schneider, H., Beasley, C.R., 2017. Oyster culture on the Amazon mangrove coast: asymmetries and advances in an emerging sector. Reviews in Aquaculture. 0, 1-17.

Erse E. B., Bernardes M. C. 2008. Levantamento de estoques da ostra *Crassostrea* sp. em bancos naturais no litoral paranaense. *Biotemas*. 21 (2), 57-63.

Ferreira M.A.P., Paixão L.F., Alcântara-Neto C.P., Santos S.S.D., Rocha R.M., 2006. Morphological and Morphometric Aspects of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) Oocytes in Three Stages of the Gonadal Cycle. *International Journal of Morphology* 24, 437–442.

Funo I.C., Antonio Í.G., Marinho Y.M., Gálvez A.O. 2015. Influência da salinidade sobre a sobrevivência e crescimento de *Crassostrea*. *Boletim do Instituto da Pesca* 41, 837–847.

Galtsoff, P. S. 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791). *Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service* 64:1–480.

Galvão M. S. N., Pereira O. M., Machado I. C., Henriques M.B. 2000. Aspectos Reprodutivos da ostra *Crassostrea brasiliiana* de manguezais do Estuário de Cananéia, SP (25°S, 48°W). *Boletim do Instituto da Pesca*. São Paulo. 26 (2), 147-162.

Gomes C. H., Silva, F.C., Lopes, G.R., Melo, C. M. R. 2014. The reproductive cycle of the oyster *Crassostrea gasar*. *Brazilian Journal of Biology* 74, 967–76.

Guo, X.; Hedgecock, D. Hershberger, W. K.; Cooper, K.; Allen Jr., S. K. 1998. Genetic determinants of protandric sex in the pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg. *Evolution*. 52(2):394-402.

Ignacio B.L., Absher T.M., Lazoski C., Sole-Cava A.M., 2000. Genetic evidence of the presence of two species of *Crassostrea* (Bivalvia : Ostreidae) on the coast of Brazilian Marine Biology 136, 987–991.

Gosling, E., 2003. Bivalve Molluscs: Biology, Ecology, and Culture. *Fishing News Books* 133, 1290–1290.

Lagreze-Squella F. J., Suhnel S., Vieira G., Langdon C., Melo C. M. R. 2018. Optimizing broodstock conditioning for the tropical clam *Anomalocardia brasiliiana*. *Journal of Shellfish Research*, 37, 979-987.

Lana P. da C., Marone E., Lopes R.M., Machado E.C., 2001. The Subtropical Estuarine Complex of Paranaguá Bay, Brazil. 130-145. In: Seelinger U., Kjerfve B. 2001. Coastal Marine Ecosystems of Latin America. *Ecological*, Springer – Vol.144.

Lapègue S., Boutet I., Leitão A., Heurtebise S., Garcia P., Thiriot-Quiévreux C., Boudry P., 2002. Trans-atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. *Biological Bulletin*. 202, 232–242.

Legat A.P., Oliveira J. a., Lazoski C.V.S., Solé-Cava A.M., Melo C.M.R., Galvéz A.O., 2009. Caracterização genética de ostras nativas do gênero *Crassostrea* no Brasil: base para o estabelecimento de um programa nacional de melhoramento. *Embrapa Meio Norte* 21.

Legat J.F.A., Puchnick-Legat A., Fogaça F.H. dos S., Tureck C.R., Suhnel S., De Melo C.M.R., 2017. Crescimento e sobrevivência da ostra de fundo, *Crassostrea gasar*, cultivada no nordeste e sul do Brasil. *Bol. do Inst. Pesca* 43, 172–184.

Legat J. F. A., Puchnick-Legat A., Gomes C. H. A., Sühnel S., De Melo C. M. R. Effects of salinity on fertilization and larviculture of the mangrove oyster, *Crassostrea gasar* in the laboratory. *Aquaculture* 468: 545–548

Lenz T., Boehs G. 2011. Ciclo reproductivo del ostión de manglar *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) en la Bahía de Camamu, Bahia, Brasil. *Revista de Biología Tropical* 59, 137–149.

Lotze H.K., Cooke R. G., Bourque B. J., Jackson J. B. 2006. Depletion, Degradation, and Recovery Potential of Estuaries and Coastal Seas. *Science* (80). 312, 1806–1809.

Lopes, G.R., Gomes, C.H.A. de M., Tureck, C.R., de Melo, C.M.R., 2013. Growth of *Crassostrea gasar* cultured in marine and estuary environments in Brazilian waters. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48, 975–982.

Ludwig S., Patella R., Stoiev S., Castilho-Westphal G., Giroto M.V.F., Ostrensky A., 2011. A molecular method to detect and identify the native species of southwestern Atlantic *Crassostrea* (Mollusca: Ostreidae). *Zoologia*. (Curitiba, Impresso) 28, 420–426.

Magalhães A. R. M. 1998. Efeito da parasitose por trematoda *Bucephalidae* na reprodução, composição bioquímica e índice de condição do mexilhão *Perna perna* (L.). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo. São Paulo, 185 p.

Marchiori N. C., Magalhães A. R. M., Junior J. P. 2010. The life cycle of *Bucephalus margaritae* Ozaki & Ishibashi, 1934 (Digenea, Bucephalidae) from the coast of Santa Catarina State, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. 32(1), 71-78.

Montanhini-Neto R.M., Zeni T.O., Ludwig S., Horodesky A., Giroto M.V.F., Castilho-Westphal G.G., Ostrensky A., 2013. Influence of environmental variables on the growth and reproductive cycle of *Crassostrea* (Mollusca, Bivalvia) in Guaratuba Bay, Brazil. *Invertebrate Reproduction Development*. 57, 208–218.

Nascimento I. A. 1991. *Crassostrea rhizophorae* (Guilding) and *C. brasiliiana* (Lamarck) in South and Central America. Cap. 10, 126-133. In: Menzel W. Estuarine and marine bivalve mollusk culture. Boston, 374.

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. *Aquaculture* 380–383, 6–12.

Pereira O.M., Machado I.C., Henriques M.B., Yamanaka N., 2001. Crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* semeada sobre tabuleiro em diferentes densidades na região estuarina-lagunar de Cananéia-SP (25°S, 48°W). *Boletim do Instituto da Pesca* 27, 163–74.

Pereira O.M., Henriques M.B., Machado I.C., 2003. Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* em bosques de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil. *Boletim do Instituto da Pesca* 29, 19–28.

Ramos C.D.O., Gomes C.H.A.D.M., Magalhães A.R.M., Santos A.I. Dos, Melo C.M.R. De, 2014. Maturation of the Mangrove Oyster *Crassostrea gasar* at Different Temperatures in the Laboratory. *Journal Shellfish Research*. 33, 187–194.

Sühnel S., Lagreze F., Bercht M., Ferreira J.F., Carneiro-Schaefer A.L., Magalhaes A.R., Maraschin M. 2010. Sexual stages of the female portion in the scallop *Nodipecten nodosus* (Linne, 1758) and astaxanthin quantity in each stage. *Brazilian Journal of Biology* 70, 651–658.

Sühnel S., Johnson S.C., Gurney-Smith H.J., Ivachuk C.D.S., Schaefer A.L.C., Thomson C.A., Maciel M.L.T., Martins M.L., Aranguren R., Figueras A., Magalhães A.R.M. 2016. A Status Assessment of Perkinsiosis, Bonamiosis, and Mateiliosis in Commercial Marine Bivalves from Southern Brazil. *Journal of Shellfish Research*. 35, 143–156.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento do ciclo reprodutivo das ostras é importante para a sustentabilidade e resiliência dos bancos naturais de ostras bem como fornecendo ferramentas para a elaboração de um plano de manejo para a ostreicultura e assim contribuir com a preservação e produção. Com os resultados do ciclo reprodutivo em três ambientes diferentes, obtivemos informações que podem auxiliar na exploração racional da espécie na região do Complexo Estuarino de Paranaguá, bem como o momento ideal para a reprodução induzida em laboratório para produção de sementes. Foi possível verificar também as melhores épocas para inserção de coletores artificiais na água com o intuito dos ostreicultores utilizarem destas sementes para posterior engorda em cultivo.

Trabalhos futuros sobre a incrustação da espécie em diferentes tipos de coletores no ambiente natural seriam necessários para auxiliar também no manejo da ostreicultura. E também trabalhos futuros sobre a influência do trematódeo *Bucephalus* na ostra, para saber como afeta o organismo e se a consequência do parasitismo é permanente bem como a identificação destas espécies.

4. REFERÊNCIAS

Absher T. M., Caldeira G. A. 2007. Caracterização dos parques de cultivo de ostras do litoral do paraná: aspectos técnico-produtivos e socioeconômicos. Cap 19, 181-194. In: Barroso G. F., Poersch, L. H. da S., Cavalli R. O. 2007. Sistemas de cultivos aquícolas na zona costeira do Brasil: recursos, tecnologias, aspectos ambientais e socioeconômicos. Rio de Janeiro: Museu Nacional. p. 316 : il. ;28cm. Série Livros: 26.

Amaral V.S., Simone L.R.L., 2014. Revision of genus *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 94, 811–836.

- Baldan A.P., Bendhack F. 2009. Maricultura sustentável no Litoral do Paraná, Brasil: atualidades e perspectivas. *Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambiente*. 7, 491–497.
- Beck M.W., Brumbaugh R.D., Airoidi L., Carranza A., Coen L.D., Crawford C., Defeo O., Edgar G.J., Hancock B., Kay M.C., Lenihan H.S., Luckenbach M.W., Toropova C.L., Zhang G., Guo X., 2011. Oyster Reefs at Risk and Recommendations for Conservation, Restoration, and Management. *Bioscience* 61, 107–116.
- Cavaleiro N.P., Solé-Cava A.M., Melo C.M.R., De Almeida L.G., Lazoski C., Vasconcelos A.T.R., 2016. The complete mitochondrial genome of *Crassostrea gasar* (Bivalvia: Ostreidae). *Mitochondrial DNA Seq. Anal.* 27, 2939–2940.
- Castilho-Westphal G.G., Magnani F.P., Ostrensky A. 2013. Gonad morphology and reproductive cycle of the mangrove oyster *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819) in the Baía de Guaratuba, Paraná, Brazil. *Acta Zool.* 96, 99–107.
- Cristo S. W., Absher T. M. 2006. Reproductive Period of *Crassostrea Rhizophorae* (Guildin, 1828) and *Crassostrea Brasiliiana* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Ostreidae) in Guaratuba Bay, Paraná, Brazil. *Journal of Coastal Research*. 39, 1215-1218.
- Christo S. W., Ivachuk C. S., Veronese F. C., Ferreira-Jr A. L., Absher T. M. 2015. Descrição alimentar e estágio de maturação de *Crassostrea brasiliiana* comercializadas no mercado municipal de Paranaguá, Paraná, Brasil. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Tecnology*. 19 (2), 1-9.
- De Melo A.G.C., Varela E.S., Beasley C.R., Schneider H., Sampaio I., Gaffney P.M., Reece K.S., Tagliaro C.H., 2010. Molecular identification, phylogeny and geographic distribution of Brazilian mangrove oysters (*Crassostrea*). *Genetics and Molecular Biology*. 33, 564–572.
- Doiron S., Albert A., Mallet A., Savoie A., Allain A., Gionet C., Carver C. 2008. Reference Manual for Oyster Aquaculturists. *Agriculture and Aquaculture*. 83 p.
- FAO. 2005-2019. National Aquaculture Sector Overview. Perú. National Aquaculture Sector Overview Fact Sheets. Text by Soto Cárdenas, G. I. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department. Roma, Itália.
- FAO. 2012. The State of world fisheries and aquaculture 2012. Viale delle Terme de Caracalla. 153, Roma, Itália.
- FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. Roma, Itália.
- Galvão M. S. N., Pereira O. M., Machado I. C., Henriques M.B. 2000. Aspectos Reprodutivos da ostra *Crassostrea brasiliiana* de manguezais do Estuário de Cananéia, SP (25°S, 48°W). *Boletim do Instituto da Pesca*. São Paulo. 26 (2), 147-162.
- Gomes C. H., Silva, F.C., Lopes, G.R., Melo, C. M. R. 2014. The reproductive cycle of the oyster *Crassostrea gasar*. *Brazilian Journal of Biology* 74, 967–76.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2017. Produção da Pecuária 2017. Rio de Janeiro: IBGE 2018.
- Ignacio B.L., Absher T.M., Lazoski C., Sole-Cava A.M., 2000. Genetic evidence of the presence of two species of *Crassostrea* (Bivalvia : Ostreidae) on the coast of Brazilian Marine Biology 136, 987–991.

- Lapègue S., Boutet I., Leitão A., Heurtebise S., Garcia P., Thiriot-Quiévreux C., Boudry P., 2002. Trans-atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. *Biological Bulletin*. 202, 232–242.
- Legat A.P., Oliveira J. a., Lazoski C.V.S., Solé-Cava A.M., Melo C.M.R., Galvéz A.O., 2009. Caracterização genética de ostras nativas do gênero *Crassostrea* no Brasil: base para o estabelecimento de um programa nacional de melhoramento. *Embrapa Meio Norte* 21.
- Legat J.F.A., Puchnick-Legat A., Fogaça F.H. dos S., Tureck C.R., Suhnel S., De Melo C.M.R., 2017. Crescimento e sobrevivência da ostra de fundo, *Crassostrea gasar*, cultivada no nordeste e sul do Brasil. *Bol. do Inst. Pesca* 43, 172–184.
- Lenz T., Boehs G. 2011. Ciclo reproductivo del ostión de manglar *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) en la Bahía de Camamu, Bahia, Brasil. *Revista de Biología Tropical* 59, 137–149.
- Lovatelli A., Vannuccini S. Y., McLeod D. 2007. Estado Actual del cultivo de bivalvos a nível mundial. 45-60. In: FAO. 2008. Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Taller técnico Regional de la FAO. Puerto Montt, Chile.
- Ludwig S., Patella R., Stoiev S., Castilho-Westphal G., Giroto M.V.F., Ostrensky A., 2011. A molecular method to detect and identify the native species of southwestern Atlantic *Crassostrea* (Mollusca: Ostreidae). *Zoologia*. (Curitiba, Impresso) 28, 420–426.
- Montanhini-Neto R., Zeni T.O., Ludwig S., Horodesky A., Giroto M.V.F., Castilho-Westphal G.G., Ostrensky A., 2013. Influence of environmental variables on the growth and reproductive cycle of *Crassostrea* (Mollusca, Bivalvia) in Guaratuba Bay, Brazil. *Invertebrate Reproduction and Development*. Dev. 57, 208–218.
- Nascimento I. A. 1991. *Crassostrea rhizophorae* (Guilding) and *C. brasiliiana* (Lamarck) in South and Central America. Cap. 10, 126-133. In: Menzel W. Estuarine and marine bivalve mollusk culture. Boston, 374.
- Pereira O.M., Machado I.C., Henriques M.B., Yamanaka N., 2001. Crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* semeada sobre tabuleiro em diferentes densidades na região estuarina-lagunar de Cananéia-SP (25°S, 48°W). *Boletim do Instituto da Pesca* 27, 163–74.
- Pereira O.M., Henriques M.B., Machado I.C., 2003. Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* em bosques de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil. *Boletim do Instituto da Pesca* 29, 19–28.
- Pie M.R., Ribeiro R.O., Boeger W.A., Ostrensky A., Falleiros R.M., Angelo, L., 2006. A simple PCR-RFLP method for the discrimination of native and introduced oyster species (*Crassostrea brasiliiana*, *C. rhizophorae* and *C. gigas*; Bivalvia: Ostreidae) cultured in Southern Brazil. *Aquaculture Research*. Res. 37, 1598–1600.
- Quayle, D.B., 1981. Ostras tropicales: Cultivo y métodos. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo CIID, Ottawa. 84p.
- Quayle D. B., Newkirk G. F. 1989. Farming bivalve molluscs: methods for study and development. The world Aquaculture Society, International Development Research Centre, 294p.

Rupp G. S., De Oliveira Neto F. M., Guzenski J. 2007. Estado actual del cultivo de moluscos bivalvos em la región sudste-sur de Brasil. 77-90. In: FAO. 2008. Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvol y su proyección futura. Taller técnico Regional de la FAO. Puerto Montt, Chile.

Suhnel S., Lagreze F., Bercht M., Ferreira J.F., Carneiro-Schaefer A.L., Magalhaes A.R., Maraschin M. 2010. Sexual stages of the female portion in the scallop *Nodipecten nodosus* (Linne, 1758) and astaxanthin quantity in each stage. Brazilian Journal of Biology 70, 651–658.

Sühnel S., Picanço, T., Medeiros, S.C., Magalhães, A.R.M. & Melo, C.M.R.M. 2017. Effects of seeding date and seed size on *Crassostrea gigas* (thunberg, 1793) culture in a subtropical climate. Journal of Shellfish Research, 36(2):303-313.

Varela E.S., Beasley C.R., Schneider H., Sampaio I., Marques-Silva N.D.S., Tagliaro C.H., 2007. Molecular phylogeny of mangrove oysters (*Crassostrea*) from Brazil. Journal of Molluscan Studies. 73, 229–234.