



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA - AQI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Taxas de assentamento larval e recuperação de sementes da ostra
Crassostrea brasiliana (Lamarck, 1819) com uso de diferentes sistemas de
indução à metamorfose

Renata Cristina Silveira

Florianópolis / SC
2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA - AQI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Taxas de assentamento larval e recuperação de sementes da ostra
Crassostrea brasiliana (Lamarck, 1819) com uso de diferentes sistemas de
indução à metamorfose

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura, do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal de
Santa Catarina, como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Dr. Cláudio Manoel R. de Melo

Renata Cristina Silveira

Florianópolis / SC
2009

Silveira, Renata Cristina

Taxas de assentamento larval e recuperação de sementes da ostra *Crassostrea brasiliana* (Lamarck, 1819) com uso de diferentes sistemas de indução à metamorfose / Renata Cristina Silveira – 2009.

27 f: grafs.

Orientador: Cláudio Manoel Rodrigues de Melo

Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Aquicultura.

1.Assentamento, 2.Larva, 3.*Crassostrea brasiliana*, 4.Coletores, 5.Sementes.

**Taxas de assentamento larval e recuperação de sementes da ostra
Crassostrea brasiliiana (Lamarck, 1819) com uso de diferentes
sistemas de indução à metamorfose**

Por

RENATA CRISTINA SILVEIRA

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de mestre

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

Dr. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo - *Orientador*

Dr. Jaime Fernando Ferreira

Dr. Gilberto Caetano Manzoni

Aos meus pais, Eduardo e Lorelei

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar saúde e força para enfrentar todos os desafios do caminho.

Aos meus pais, Eduardo e Lorelei pelo amor, apoio e dedicação.

A minha irmã Fernanda, que mesmo morando longe, sempre me ajudou de alguma forma.

Ao meu Professor Orientador Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, pelo apoio, dedicação e motivação para que eu realizasse um bom trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM), em especial a Francisco Carlos da Silva e os amigos Carlos Henrique de Araujo Miranda Gomes e Gustavo Ruschel Lopes, que sempre estavam dispostos a ajudar e colaborar nas atividades para realização do meu trabalho, e pela convivência.

As minhas queridas amigas, por estarem sempre comigo, alegrando os meus dias e apoiando as minhas decisões.

A todos os colegas do mestrado pela convivência, nos momentos alegres e difíceis passados juntos.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e ao CT-HIDRO/CT-AGRO/MCT/SEAP-PR/FINEP, financiador do projeto de Caracterização genética e melhoramento de ostras nativas do gênero Crassostrea, dentro do qual meus estudos estiveram contemplados.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	9
Taxas de assentamento larval e recuperação de sementes da ostra <i>Crassostrea brasiliana</i> (Lamarck, 1819) com uso de diferentes sistemas de indução à metamorfose.....	12
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO.....	13
MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
Desovas.....	16
Avaliação das desovas.....	16
Larviculturas.....	17
Assentamentos.....	17
Análises Estatísticas.....	19
RESULTADOS.....	19
DISCUSSÃO.....	21
CONCLUSÕES.....	23
AGRADECIMENTOS.....	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	26

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a taxa de assentamento larval e recuperação de sementes de ostras da espécie *Crassostrea brasiliana*, em laboratório, através do uso de coletores plásticos, Epinefrina ($C_9H_{13}NO_3$ $C_4H_6O_6$) e pó de concha em tanques de assentamento. Foram utilizados coletores plásticos de polipropileno, presos a armações de bambu. O material foi escolhido devido a boa maleabilidade, o que facilita o destacamento das sementes. Foram realizados dois experimentos, o primeiro entre fevereiro e abril de 2008, e o segundo entre novembro e dezembro de 2008 no Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina. No primeiro experimento testaram-se coletores de plástico arranhado consorciado com pó de concha em um tanque de assentamento, enquanto que no segundo foram utilizados dois tanques de assentamento, um contendo os coletores de plástico consorciado com pó de concha e apenas pó de concha, e no outro tanque utilizou-se epinefrina como estimulador da metamorfose. Foi realizada a quantificação das larvas assentadas nos coletores plásticos e a taxa de recuperação e integridade das sementes após o destacamento das mesmas. No primeiro experimento recuperou-se 48,83% de sementes em relação as larvas D utilizadas. Deste percentual 4,9% assentaram em coletores plásticos e 43,93% em pó de concha. No segundo experimento a porcentagem de sementes assentadas em relação ao total de larvas utilizadas foi de 55,78% com o uso de epinefrina, 78,62% no tratamento com coletor mais pó de concha e de 58,33% no tratamento só com pó de concha. Assim, verifica-se que o uso de coletor mais pó de concha resulta em maior recuperação de sementes se comparado com os demais tratamentos.

Palavras chaves: Assentamento, larva, *Crassostrea brasiliana*, coletores, sementes.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the larval settlement and seed recovery rates of the *Crassostrea brasiliana* oyster in the laboratory, through the use of plastic collectors, Epinephrine ($C_9H_{13}NO_3$, $C_4H_6O_6$) and dust shell in settlement tanks. The collectors were made of polypropylene plastic and were attached to bamboo frames. The material was chosen due to its good flexibility, which facilitates the deployment of seeds. Two experiments were done, the first experiment was conducted between February and April 2008, and the second between November and December 2008 at the Laboratory of Marine Molluscs, at the Federal University of Santa Catarina. In the first experiment tested collectors made of scratched plastic with dust shell in a settlement tank, while in the second we used two settlement tanks, one of them containing the collectors of plastic intercropped with dust shell and dust shell only, and another tank was used as epinephrine stimulates metamorphosis. We performed the quantification of the larvae settled on plastic collectors and the rate of recovery and integrity of seed after detaching them. In the first experiment 48.83% of the seeds were recovered from the D larvae used. Within this percentage, 4.9% settled in plastics collectors and 43.93% in dust shell. In the second experiment the percentage of seed settled on the total number of larvae used was 55.78% with the use of epinephrine, 78.62% in the treatment using dust shell plus collector and 58.33% in the treatment only with the dust shell. Thus, it appears that the use of the plastic collector plus the dust shell results in higher seed recovery when compared with other treatments.

Key words: settlement, larvae, *Crassostrea brasiliana*, collectors, seed.

INTRODUÇÃO

No Brasil a aquicultura representa uma revolução no setor primário nacional e vem crescendo em torno de 20% ao ano. Nesse panorama, a malacocultura ou cultivo de moluscos bivalves, vem apresentando uma alta taxa de crescimento (11,8%) na última década, principalmente, com a produção de mexilhões (*Perna perna*) e ostras (*Crassostrea gigas*) (BORGHETTI et al., 2003). A atividade contribuiu com mais de 15 milhões de toneladas em 2003 na produção mundial de pescados. No Brasil, a produção de ostras em 2003 foi de 2.843 toneladas (FAO, 2005), sendo que a maior parte (92,3%) foi da ostra introduzida do Pacífico, *Crassostrea gigas*, cultivada principalmente no estado de Santa Catarina (IBAMA 2005). Porém, esta espécie não tem potencial, para o cultivo nas regiões norte e nordeste do país, em virtude da temperatura das águas serem mais altas. Nestas regiões a ostra nativa é uma boa opção de cultivo.

Existem, até o momento, pelo menos, duas espécies de ostras nativas de interesse comercial descritas, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) e *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819). Segundo Rios (1994), *C. brasiliiana* (Lamarck, 1819), *C. rhizophorae* (Guilding, 1828) e *C. paraibanensis* (SINGARAJAH, 1980) são sinônimas, constituindo, portanto, a mesma espécie. Entretanto, outros estudos (ABSHER, 1989; IGNACIO et al., 2000; LAPÈGUE et al., 2002; LAZOSKI, 2004) demonstraram a existência de duas ou mais espécies de ostra do gênero *Crassostrea* nos estuários brasileiros. (IGNACIO et al. 2000) analisaram populações do Paraná e do Rio de Janeiro e demonstraram a diferenciação genética de dois grupos, *C. rhizophorae* e *C. brasiliiana*, além de comprovar as observações de Absher (1989) que *C. rhizophorae* ocorre em geral na região entre marés e alcança um tamanho bastante inferior a *C. brasiliiana*, que normalmente ocorre no infralitoral e em fundos lodosos.

Contudo, para viabilizar o cultivo da ostra nativa é necessário que se desenvolva métodos eficientes de larvicultura e assentamento em laboratório.

No Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o assentamento da ostra *Crassostrea gigas* é feito com pó de concha ou com o uso de Epinefrina ($C_9H_{13}NO_3$ $C_4H_6O_6$), a qual é utilizada como estimulador da metamorfose e apresenta bons resultados na taxa de assentamento. A epinefrina é dissolvida em água destilada, na proporção de 0,33 g de epinefrina para 1 litro de água destilada, e diluída (1:9) em água do mar tratada. Porém, em larviculturas de pequeno volume, o uso de Epinefrina tem se mostrado ineficaz, pois em geral, não permite que todos os animais tenham possibilidade de assentar ao mesmo tempo. Além disso, para uma ação eficaz da epinefrina, são necessárias mais de uma aplicação sobre as larvas aptas a assentar, e este processo, causa grande estresse nas larvas contribuindo para o aumento da mortalidade que poderá causar a contaminação dos tanques de metamorfose (SILVA, 2007).

Um método habitual de estimular e aumentar o sucesso da metamorfose de larvas de ostras é o uso de produtos químicos. O uso de neurotransmissores, tais como L-DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina), epinefrina, e amônia (NH_3) tem demonstrado eficiência no aumento da taxa de assentamento de larvas de ostras do gênero *Crassostrea* (COON et al., 1985, 1990a,b; FITT e COON, 1992).

Beiras e Widdows (1995), em seu estudo realizado na Espanha, utilizando epinefrina como componente químico para a metamorfose de larvas de *Crassostrea gigas*, concluíram que a exposição a epinefrina, numa concentração de 10^{-4} M por 15 minutos foi suficiente para promover mais de 80% de assentamento larval.

García-Lavandeira e colaboradores (2005) testaram o efeito da epinefrina, dissolvida em 0,005 N HCl e diluída (1:9) em água estéril MilliQ (10^{-3} M), sobre a metamorfose de *Ostrea edulis* em diferentes concentrações, e obtiveram o melhor resultado (55,86% de assentamento) utilizando epinefrina em uma concentração de 10^{-5} M. Outro estudo (KINGZETT et al. 1990) testou o efeito de epinefrina, em diferentes concentrações (10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} M) por 60 minutos obteve resultados entre 10 e 16% na metamorfose de larvas de *Patinopecten yessoensis*. Por outro lado, Doroudi e Southgate (2002) utilizando epinefrina nas concentrações de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} M por 24 horas sobre o efeito nas taxas de assentamento larval de *Pinctada margaritifera* obteve resultados quase nulos na taxa de assentamento larval.

Da mesma forma, o uso de pó de concha como substrato para o assentamento, também, oferece risco de contaminação dos tanques de assentamento. O pó de concha dificulta a limpeza dos detritos nas trocas de água, podendo favorecer o desenvolvimento de um ambiente nocivo as larvas e pré-sementes. Assim, para se atingir o aproveitamento máximo das larvas obtidas em pequenas larviculturas, busca-se alternativas nas técnicas e materiais para o assentamento das larvas. Nesse contexto, uma alternativa é o uso de coletores artificiais nos tanques de assentamento.

Diferentes tipos de coletores podem ser utilizados como substrato para o assentamento larval, tais como: telhas de barro, pó de concha ou conchas de ostras inteiras e materiais plásticos diversos (garrafas de Poli tereftalato de etila, placas de cloreto de polivinila (PVC) dentre outros (HELM et. al. 2006).

Um estudo realizado na Venezuela utilizando garrafas plásticas Pet (Poli tereftalato de etila), como coletores de larvas de ostras *Crassostrea rhizophorae*, demonstrou que esse tipo de material pode ser muito eficiente para o assentamento das sementes, por estas serem facilmente destacadas, devido à boa flexibilidade do material, diferentemente do principal coletor utilizado no país, a telha (BUIRAGO; ALVARADO, 2005).

A utilização de placas plásticas, como substrato, para o assentamento larval da ostra *Crassostrea iredalei*, foi testada por Devakie e Ali (2002), que obtiveram a melhor taxa de assentamento com o uso de plástico áspero sem biofilme (37,6±2,2%), seguido pelo uso de plástico áspero com biofilme (27,1±1,8%), e plástico liso com biofilme (22,0±2,1%). A pior taxa se deu com o uso de plástico liso sem biofilme (11,0±1,2%). O material plástico também foi testado com um extrato de tecido de diversas espécies de bivalves, e as melhores taxas de assentamento larval foram com extrato de tecido de *C. iredalei* e *Crassostrea belcheri* (28,3±3,9% e 26,1±5,5%, respectivamente), seguido com extrato de tecido do mexilhão *Perna viridis* (15,7±1,4%) e a ostra *Saccostrea cucullata* (12,9±3,6%).

Testando a utilização de placas de PVC, em diferentes posições, com ou sem revestimento de pasta de cimento sobre o assentamento de larvas de *Saccostrea commercialis*, Holliday (1996), mostrou que as taxas de assentamentos nas placas de PVC posicionadas horizontalmente foram

superiores (60,2-76,6%) aquelas obtidas com placas posicionadas verticalmente, onde a taxa foi de apenas 0,71%.

Para avaliar o tempo que larvas de *Crassostrea gigas* com idade de 17, 20, 23 e 26 dias levaram para se fixarem nos coletores, Collet et al. (1999) utilizaram placas de PVC cobertas com cera e uma segunda camada de resina de poliéster e os resultados obtidos mostraram que as larvas levaram 1, 4, 2 e 4 dias, respectivamente, para se assentar.

Com a utilização de diferentes coletores plásticos, para o assentamento larval de *Pinctada máxima* Taylor et al. (1998) observaram resultados superiores com o uso de coletores de corda de polipropileno quando comparado a placas de PVC. Contudo, os autores ressaltaram que os coletores de PVC oferecem vantagens quanto ao crescimento das sementes, devido ao fato de terem uma maior área de superfície. Também foi observado que a posição horizontal favorece o assentamento larval.

Assim para possibilitar o máximo de eficiência na obtenção de sementes em um sistema de pequeno volume, uma alternativa é o uso de coletores plásticos, consorciado com pó de concha nos tanques de assentamento. Os coletores podem ser dispostos na coluna da água, sem contato com o fundo, oferecendo uma grande área de superfície de assentamento, e devido a sua grande maleabilidade, permitem o fácil destacamento das sementes, evitando as perdas das mesmas por competição ou contato durante o crescimento no coletor. Outra característica fundamental destes coletores é que eles permitem o assentamento de larvas de diferentes idades, deixando-as livres, não causando estresse, contaminações como com o uso de pó de concha e epinefrina.

Assim, este estudo, busca avaliar o uso destas estruturas, bem como de epinefrina, para o assentamento de larvas de ostras nativas em laboratório.

Taxas de assentamento larval e recuperação de sementes da ostra *Crassostrea brasiliana* com uso de diferentes sistemas de indução à metamorfose

Renata Cristina Silveira, Francisco Carlos da Silva, Carlos Henrique de Araújo Miranda Gomes, Jaime Fernando Ferreira, Cláudio Manoel Rodrigues de Melo

Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina, Servidão dos Coroas, s/n, Barra da Lagoa, CEP 88061-600, Florianópolis, SC/Brasil

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a taxa de assentamento larval e recuperação de sementes de ostras da espécie *Crassostrea brasiliana*, em laboratório, através do uso de coletores plásticos, Epinefrina ($C_9H_{13}NO_3$ $C_4H_6O_6$) e pó de concha em tanques de assentamento. Foram utilizados coletores plásticos de polipropileno, presos a armações de bambu. O material foi escolhido devido a sua boa maleabilidade, o que facilita o destacamento das sementes. Foram realizados dois experimentos, o primeiro entre fevereiro e abril de 2008, e o segundo entre novembro e dezembro de 2008 no Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina. No primeiro experimento testaram-se coletores de plástico arranhado consorciado com pó de concha em um tanque de assentamento, enquanto que no segundo foram utilizados dois tanques de assentamento, um contendo os coletores de plástico consorciado com pó de concha e apenas pó de concha, e no outro tanque utilizou-se epinefrina como estimulador da metamorfose. Foi realizada a quantificação das larvas assentadas nos coletores plásticos e a taxa de recuperação e integridade das sementes após o destacamento das mesmas. No primeiro experimento recuperou-se 48,83% de sementes em relação as larvas "D" utilizadas. Deste percentual 4,9% assentaram em coletores plásticos e 43,93% em pó de concha. No segundo experimento a porcentagem de sementes assentadas em relação ao total de larvas utilizadas foi de 55,78% com o uso de epinefrina, 78,62% no tratamento com coletor mais pó de concha e de 58,33% no tratamento só com pó de concha. Assim, verifica-se que o uso de coletor mais pó de concha resulta em maior recuperação de sementes se comparado com os demais tratamentos.

Palavras chaves: Assentamento, larva, *Crassostrea brasiliana*, coletores, sementes.

TITLE: Larval settlement and seed recovery rates of the *Crassostrea brasiliana* oyster with the use of different metamorphosis induction systems

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the larval settlement and seed recovery rates of the *Crassostrea brasiliana* oyster in the laboratory, through the use of plastic collectors, Epinephrine ($C_9H_{13}NO_3$, $C_4H_6O_6$) and dust shell in settlement tanks. The collectors were made of polypropylene plastic and were attached to bamboo frames. The material was chosen due to its good flexibility, which facilitates the deployment of seeds. Two experiments were done, the first experiment was conducted between February and April 2008, and the second between November and December 2008 at the Laboratory of Marine Molluscs, at the Federal University of Santa Catarina. In the first experiment tested collectors made of scratched plastic with dust shell in a settlement tank, while in the second we used two settlement tanks, one of them containing the collectors of plastic intercropped with dust shell and dust shell only, and another tank was used as epinephrine stimulates metamorphosis. We performed the quantification of the larvae settled on plastic collectors and the rate of recovery and integrity of seed after detaching them. In the first experiment 48.83% of the seeds were recovered from the D larvae used. Within this percentage, 4.9% settled in plastics collectors and 43.93% in dust shell. In the second experiment the percentage of seed settled on the total number of larvae used was 55.78% with the use of epinephrine, 78.62% in the treatment using dust shell plus collector and 58.33% in the treatment only with the dust shell. Thus, it appears that the use of the plastic collector plus the dust shell results in higher seed recovery when compared with other treatments.

Key words: settlement, larvae, *Crassostrea brasiliana*, collectors, seed.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de telhas de barro, pó de concha ou conchas de ostras inteiras, materiais plásticos diversos (garrafas de poli tereftalato de etila (PET), placas de cloreto de polivinila (PVC), coletores feitos de varas de bambu, cascas de coco, amianto e pneus podem ser utilizados como substrato para o assentamento larval de moluscos bivalves (DEVAKIE, 1993; HELM et. al., 2006). Em alguns estudos estes materiais, antes de serem utilizados, recebem diferentes tipos de tratamentos para “atrair” a larva para fixação e posteriormente facilitar seu destacamento dos coletores.

Devakie e Ali (2002) testaram a utilização de placas plásticas com diferentes texturas na presença e ausência de biofilme, como substrato para o assentamento larval da ostra (*Crassostrea iredalei*). A melhor taxa de assentamento larval foi com o uso de plástico áspero sem biofilme com $37,6 \pm 2,2\%$ de sucesso, seguido pelo uso plástico áspero com biofilme $27,1 \pm 1,8\%$, e pelo uso de plástico liso com biofilme $22,0 \pm 2,1\%$. A pior taxa se deu com o uso de plástico liso sem biofilme (tratamento controle). Substrato plástico com um extrato de tecido de diversas espécies de bivalves foi, também, testado por Devakie e Ali (2002) para o assentamento larval. Lâminas plásticas com extrato de tecido de *C. iredalei* e *Crassostrea belcheri* promoveram taxas de assentamento larval superiores ($28,3 \pm 3,9\%$ e $26,1 \pm 5,5\%$, respectivamente) quando comparado aquelas com extrato de tecido do mexilhão *Perna viridis* ($15,7 \pm 1,4\%$) e a ostra *Saccostrea cucullata* ($12,9 \pm 3,6\%$).

Em outro estudo Holliday (1996) utilizando placas de PVC, em diferentes posições, com ou sem revestimento de pasta de cimento sobre o assentamento de larvas de *Saccostrea commercialis*, mostrou que a taxa de assentamento nas placas de PVC posicionadas horizontalmente foi de $76,6\%$ ($23,8$ larvas/cm²). Contudo, quanto as placas foram posicionadas verticalmente a taxa de assentamento foi de, apenas, $0,71\%$ ($0,2$ larvas/cm²). O assentamento larval nas placas posicionadas horizontalmente cobertas com a pasta de cimento foi de $60,2\%$ ($18,7$ larvas/cm²).

Collet et al. (1999) testaram placas de PVC cobertas com cera e uma segunda camada de resina de poliéster para avaliar o tempo que as larvas de *Crassostrea gigas* levaram para se fixarem nos coletores. Os resultados obtidos mostraram que as larvas com idade de 17, 20, 23 e 26 dias levaram de 1, 4, 2 e 4 dias, respectivamente, para assentarem nos coletores.

Em estudo para testar diferentes coletores plásticos, foi concluído que coletores de corda de polipropileno são superiores as placas de PVC para o assentamento (TAYLOR et al., 1998). Contudo, os autores ressaltaram que os coletores de PVC oferecem vantagens quanto ao crescimento das sementes, devido ao fato de terem uma maior área de superfície. Também foi observado que a posição horizontal favorece o assentamento larval.

A utilização de garrafa PET, como coletor em ambiente natural, é bastante difundida, em especial, pela sua flexibilidade e baixo custo. Neste sentido, um estudo realizado com *Crassostrea rhizophorae* na Venezuela com 20 coletores feitos desse material, cortados longitudinalmente formando uma área superficial de $1,8$ m², obteve 326 sementes assentadas por m², em um período de um mês, realizado no ambiente natural (BUITRAGO e ALVARADO, 2005).

Além da utilização de substratos, para promover o assentamento das larvas de ostras, o uso de neurotransmissores, tais como L-DOPA (L-3,4-dihidroxi-phenylalanine), epinefrina, e amônia. Entre estes, se destaca o uso de epinefrina.

Beiras e Widdows (1995) utilizando epinefrina como componente químico para a metamorfose de larvas de *Crassostrea gigas*, concluíram que a exposição a epinefrina, numa concentração de 10^{-4} M por 15 minutos foi suficiente para promover mais de 80% de assentamento larval. Em outro estudo (García-Lavandeira et al., 2005) epinefrina dissolvida em 0,005 de NHCl e diluída (1:9) em água estéril foi utilizada para induzir a metamorfose de *Ostrea edulis*. Os autores obtiveram 55,86% de taxa de assentamento expondo as larvas a 10^{-5} M de epinefrina por 48h. Por outro lado, Doroudi e Southgate (2002) testou epinefrina nas concentrações 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} M por 24h sobre o efeito nas taxas de assentamento larval de *Pinctada margaritifera* e não obteve resultados satisfatórios.

No Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o assentamento da ostra *Crassostrea gigas* é feito com pó de concha ou com o uso de Epinefrina ($C_9H_{13}NO_3$ $C_4H_6O_6$), a qual é utilizada como estimulador da metamorfose e apresenta bons resultados na taxa de assentamento. A epinefrina é dissolvida em água destilada, na proporção de 0,33 g de epinefrina para 1 litro de água destilada, e diluída (1:9) em água do mar tratada. Porém, em larviculturas de pequeno volume o uso de epinefrina tem se mostrado ineficaz, pois em geral, não permite que todos os animais tenham possibilidade de assentar ao mesmo tempo. Além disso, para uma ação eficaz da epinefrina, são necessárias mais de uma aplicação sobre as larvas aptas a assentar e este processo causa grande estresse nas larvas contribuindo para o aumento da mortalidade que poderá causar a contaminação dos tanques de metamorfose (SILVA, 2007). O uso de pó de concha como substrato para o assentamento, também, oferece risco de contaminação dos tanques de assentamento. O pó de concha dificulta a limpeza dos detritos nas trocas de água, podendo favorecer o desenvolvimento de um ambiente nocivo as larvas e pré-sementes. Assim, para se atingir o aproveitamento máximo das larvas obtidas em pequenas larviculturas, busca-se alternativas nas técnicas e materiais de assentamento em pequenas densidades. Nesse contexto, uma alternativa é o uso de coletores artificiais nos tanques de assentamento.

O uso de coletores plásticos no assentamento das larvas é uma opção interessante. Estes coletores podem ser dispostos na coluna da água, sem contato com o fundo, oferecendo uma grande área de superfície de assentamento e, devido a sua grande maleabilidade, permitem o fácil destacamento das sementes, evitando as perdas das mesmas, por competição ou contato durante o crescimento no coletor. Outra característica fundamental destes coletores é que eles permitem o assentamento de larvas de diferentes idades, deixando-as livres, não causando estresse, contaminações como com o uso de pó de concha e epinefrina.

Assim, dois experimentos (o primeiro no período entre fevereiro e abril de 2008, e o segundo entre novembro e dezembro de 2008) foram conduzidos no Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade (LMM) Federal de Santa Catarina (UFSC) para testar uso de coletores de polipropileno, pó de concha e epinefrina sobre a taxa de assentamento de larvas de ostras nativas em laboratório.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Desovas

Na desova foram utilizados animais da espécie *Crassostrea brasiliana*, provenientes do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Brasil (27°35' S e 48°32' W).

Foram utilizados, respectivamente, 400 e 310 animais no primeiro e segundo experimento. Primeiramente os animais foram raspados e escovados. Em seguida, mantidos por 1 hora em água doce com 25‰ de hipoclorito de sódio, em um tanque de 500 litros para higienização. Depois foram enxaguados com água doce e água salgada tratada (filtrada a 1 µm e esterilizada com irradiação ultravioleta – UV), e mantidos no tanque por mais 40 min., sob uma vazão mínima de 10 l/min. de água do mar, para retirada de impurezas e rejeitos (fezes e pseudofezes). Neste instante, 10 animais foram separados do grupo, desconchados manualmente com o auxílio de uma faca e sexados com o auxílio de microscópio, para avaliar a condição de maturação do lote. Para sexagem uma amostra de pequenas porções do material gonádico foi coletada com auxílio de uma lâmina de bisturi e colocada sobre uma lâmina de microscopia a qual foi observada ao microscópio. Após a sexagem, fêmeas e machos foram colocados em baldes separados e raspados com auxílio de bisturi para extração dos gametas. Após a raspagem, foi realizado o peneiramento das soluções obtidas para separar os gametas dos tecidos somáticos. Para tanto, foi utilizada uma peneira com tela de 60 µm. Para o restante dos animais, o estímulo a desova prosseguiu com quatro intervalos de 3 a 5 min. de exposição ao ar, intercalados com 20 min. de imersões em água do mar tratada corrente (mínimo de 10 l/min.). A cada imersão foi acrescido 2°C na água salgada, até atingir a temperatura de 28°C, quando então as ostras foram transferidas para o tanque de 6.000 litros com água do mar tratada e temperatura de 26°C. No tanque, foram despejadas sobre os reprodutores, a cada 20 min., quatro doses de aproximadamente 1,5 litros do concentrado de gametas, extraídos dos dez animais sexados anteriormente, encerrando o estímulo a desova.

2.2 Avaliação das desovas

Vinte e quatro horas após a indução, os tanques de 6.000 litros foram esvaziados e o conteúdo sólido foi retido em peneiras com tela de 35 µm. Este conteúdo foi selecionado utilizando um conjunto de peneiras com tela de 120, 55 e 35 µm. Deste peneiramento retiveram-se apenas as larvas que permaneceram na tela de 55 µm. As mesmas foram concentradas em um balde contendo 12 litros de água do mar tratada. Para quantificação das larvas D, foram coletadas três alíquotas de 0,5 ml com o auxílio de uma pipeta. Em seguida cada alíquota foi diluída em provetas contendo 5 ml de água do mar. Após homogeneizar, foram feitas três novas amostragens de 0,5 ml da solução e foram colocadas em lâminas de Sedwick-Rafter onde, com auxílio de microscópio, foi realizada a quantificação. O número de larvas D foi calculado pela média das três contagens.

2.3 Larviculturas

As larviculturas foram conduzidas em tanques de 6.000 litros utilizando um sistema de larvicultura estático (batch). A água do mar utilizada foi filtrada a 1 µm e irradiada com ultravioleta (UV). As trocas de água e limpeza do tanque ocorreram a cada 48 horas. Para limpeza foi utilizado suco de dois limões tahiti (*Citrus aurantifolia*) médios, batidos em liquidificador e diluídos em 3 litros de água doce. Na alimentação foram fornecidos diferentes tipos de microalgas unicelulares. No primeiro experimento, até o terceiro dia de vida, as larvas foram alimentadas somente com *Isochrysis* sp. TISO (CCMP 1324) a uma densidade de 3×10^4 células/ml. Entre o terceiro e o quinto dia de larvicultura uma mistura de *Isochrysis* sp. TISO (CCMP1324) e *Pavlova* sp (CCMP 459) foi fornecida as larvas a uma densidade de 2×10^4 células/ml. Do sexto dia em diante uma mistura de *Isochrysis* sp TISO (CCMP 1324), *Skeletonema* sp (CCMP 795), *Pavlova* sp (CCMP 459) e *Chaetoceros calcitrans* (CCMP 1315) foi fornecida as larvas. Neste período a densidade fornecida foi aumentada gradativamente de 4×10^4 até 10×10^4 células/ml. No segundo experimento foram utilizadas três espécies de microalgas não sendo utilizada a *Isochrysis* sp. TISO (CCMP 1324). No primeiro dia, as larvas foram alimentadas com uma mistura de *Chaetoceros calcitrans* (CCMP 1315), *Pavlova* sp (CCMP 459) e *Chaetoceros muelleri* numa concentração de $2,0 \times 10^4$ células/ml. Entre o segundo e o último dia de larvicultura uma mistura de *Pavlova* sp (CCMP 459) e *Chaetoceros muelleri* foi fornecida as larvas. Neste período a densidade fornecida foi aumentada gradativamente de 2×10^4 até 9×10^4 células/ml.

A seleção das larvas aptas ao assentamento (estágio pedivéliger) foi realizada com o auxílio de peneiras com telas de 145, 210, 230 e 390 µm. O número de larvas aptas ao assentamento, selecionadas em peneiras com telas de 210 e 230 µm, foi estimado por meio de peso (onde 1 g correspondeu a aproximadamente 57.000 larvas). As larvas foram reunidas em pedaços de tela de nylon, retirado o excesso de água com papel toalha e pesadas. Descontado o peso dos tecidos, obtiveram-se as quantidades de larvas.

Após a quantificação, as larvas reunidas na tela de nylon, foram acondicionadas em beckers com água do mar e mantidas em geladeira sob temperatura entre 4 a 11°C por 72h no primeiro experimento e 48h no segundo.

O objetivo de se manter as larvas na geladeira (a baixa temperatura) é diminuir o metabolismo das larvas, provocando estresse, acelerando assim o seu assentamento. Após esse período, as larvas foram retiradas da geladeira e, aproximadamente, 2.244.000 e 630.000 larvas pedivéliger foram utilizadas no assentamento do primeiro e segundo experimento, respectivamente.

2.4 Assentamento

Após serem retiradas da geladeira, as larvas foram transferidas e distribuídas igualmente nos baldes de assentamento de 20 litros, cujo fundo foi substituído por tela de nylon de 170 µm. No primeiro experimento foram utilizados 12 baldes e, aproximadamente, 187.000 larvas por balde. No segundo experimento foram utilizados 21 baldes com cerca de 30.000 larvas por balde. Os baldes foram acondicionados em tanques de 1.300 litros com sistema "Air Lift", método que consiste na

elevação da água numa captação mediante a injeção de ar comprimido, através tubos de pequeno diâmetro. O ar comprimido injetado cria uma emulsão com a água, provocando a circulação de água dentro do tanque.

As trocas de água dos tanques e limpeza das telas dos baldes ocorreram a cada 24 horas. Para obter a salinidade adequada para a espécie *Crassostrea brasiliana*, a salinidade da água do mar filtrada a 1 µm e irradiada com ultravioleta (UV) utilizada durante o assentamento, foi medida diariamente e corrigida para aproximadamente 27‰ acrescentando-se água doce. Para rápida remoção do cloro presente na água doce foi utilizado cerca de 1 grama de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) em cada tanque de assentamento.

Para o assentamento das larvas foram utilizados coletores plásticos de polipropileno, constituídos por quadrados de oito x oito cm. Cada coletor foi composto por trinta placas plásticas com espaçamento de 0,5 cm entre elas, unido por uma vara de bambu que foi passada pelo centro das placas. Aos baldes de 20 litros foram adicionados os coletores. Além dos coletores foi adicionada uma fina camada de pó de concha, aproximadamente 15 g sobre a tela dos baldes. O pó de concha constitui-se de conchas de ostras moídas e peneiradas, onde é utilizado o pó com tamanho inferior a 390 e superior a 230 µm, clorado e maturado em água do mar tratada, para formação de biofilme.

No primeiro experimento foram utilizados 48 coletores plásticos e pó de concha em 12 baldes de 20 litros. Neste experimento os coletores receberam três tratamentos: a. Coletores banhados em calda de cal (proporção de 1:2 de cal e água, respectivamente), sem maturação (CSM); b. Coletores banhados em calda de cal com maturação (CCM); c. Coletores não banhados em calda de cal e sem maturação (tratamento controle). Foram colocados quatro coletores por balde, um de cada tratamento, sendo que, um tratamento se repetiu. Os coletores banhados em calda de cal foram preparados antecipadamente, e permaneceram secando por aproximadamente 30 horas antes de serem utilizados. A maturação dos coletores, para criação de biofilme, foi realizada durante quatro dias em tanque com água do mar tratada, alimento e aeração. O pó de concha permaneceu 72 horas em maturação. Para a alimentação, durante a fase de assentamento, foram fornecidas dois tipos de microalgas *Isochrysis* sp. TISO (CCMP1324) e *Chaetoceros muelleri* na proporção de 3:7 numa concentração final de 6×10^4 células/ml.

No segundo experimento, foram utilizados dois tanques de 1.300 litros. Em um tanque, foram testados os coletores dos tratamentos CSM, CCM e tratamento controle (do primeiro experimento) acondicionados em 15 baldes, num total de três coletores de cada tratamento por balde. Nos outros três baldes foram utilizados apenas pó de concha sobre a tela (sem coletores). Neste experimento a maturação dos coletores, para criação de biofilme, foi realizada da mesma forma que no primeiro, porém por cinco dias. O pó de concha foi clorado 96 horas e maturado em água do mar tratada por aproximadamente 72 horas. Em outro tanque foram acondicionados 3 baldes, onde o assentamento foi realizado com o uso de Epinefrina ($\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_3$ $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$) como estimulador da metamorfose. A epinefrina foi dissolvida em água destilada, na proporção de 0,33 g de epinefrina para 1 litro de água destilada, e diluída (1:9) em água do mar tratada. Foram realizados três banhos de epinefrina, a cada 48 horas, com duração de aproximadamente 3 horas (homogeneizando a cada hora).

Para a alimentação, durante a fase de assentamento, foram fornecidas dois tipos de microalgas *Pavlova* sp (CCMP 459) e *Chaetoceros muelleri* na proporção de 3:7 numa concentração final de 6×10^4 células/ml. No último dia do assentamento (18° dia no primeiro experimento e 17° dia no segundo experimento) todas as sementes assentadas nos coletores, foram destacadas manualmente, e acondicionadas em diferentes recipientes, contendo álcool absoluto. Posteriormente, com o auxílio de microscópio óptico, foram quantificadas e avaliadas quanto a sua integridade (conchas quebradas). As sementes assentadas no pó de concha, também foram acondicionadas em recipientes contendo álcool absoluto, para posteriormente serem contadas e avaliadas por amostragem. Foram utilizadas 10 amostras de cada balde e obteve-se a média do número de sementes assentadas no pó de concha por balde.

2.5 Análises Estatística

Os experimentos foram realizados com um delineamento inteiramente ao acaso. As análises estatísticas foram feitas utilizando o método dos mínimos quadrados e o pacote computacional SAS (2003). A comparação das médias foi realizada utilizando teste t via permutação ao nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

Foram obtidos aproximadamente 23.000.000 e 74.600.000 larvas “D” após 24 horas da fecundação, no primeiro e segundo experimento, respectivamente. No final das larviculturas obteve-se 7.847.960 e 10.102.680 larvas aptas a assentar, perfazendo rendimentos de 34,1% e 13,5%, em cada experimento, respectivamente. Destas, 2.244.000 e 630.000 larvas foram utilizadas nos experimentos um e dois, respectivamente.

As larviculturas do primeiro e segundo experimento duraram, respectivamente, 18 e 24 dias, desde a fecundação dos ovócitos até as larvas atingirem o estágio pedivéliger.

A temperatura média da água dos tanques de larvicultura foi $25,3^{\circ}\text{C} \pm 0,80$ no primeiro experimento e $23,1^{\circ}\text{C} \pm 1,3$ no segundo experimento, a salinidade da água de ambas larviculturas foi de aproximadamente 27‰. As larvas permaneceram nos tanques de assentamento por 18 e 17 dias, no primeiro e segundo experimento, respectivamente.

A temperatura média da água do tanque de assentamento no primeiro experimento foi de $26,1^{\circ}\text{C} \pm 1,19$ e a salinidade foi de aproximadamente 27‰. No segundo experimento a temperatura e salinidade média da água do tanque de assentamento com os coletores foram de $24^{\circ}\text{C} \pm 0,93$ e $27,4\% \pm 1,79$, respectivamente. No tanque com epinefrina, a temperatura média e salinidade da água do tanque, foram de $24^{\circ}\text{C} \pm 0,91$ e $26,9\% \pm 1,89$, respectivamente.

Para o primeiro experimento não foi verificada diferença significativa ($P > 0,05$) entre a média (3.043 ± 1.125) de sementes destacadas do tratamento controle (coletores não banhados em calda de cal e sem maturação) e a média (2.357 ± 989) de sementes destacadas do tratamento CSM (coletores banhados em calda de cal sem maturação) ou a média (3.737 ± 1.308) de sementes

destacadas do tratamento CCM (coletores banhados em calda de cal com maturação). Contudo, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre a média (2.357 ± 989) de sementes do tratamento CSM e a média (3.737 ± 989) do tratamento CCM. Os coletores banhados em cal e sem maturação apresentaram número de sementes assentadas inferiores aos demais. A melhor taxa de assentamento larval foi no tratamento CCM. A porcentagem de sementes não danificadas assentadas nos coletores em relação ao total de larvas utilizadas foi de $1,3\% \pm 0,53$ no tratamento CSM, $2,0\% \pm 0,70$ no tratamento CCM e de $1,6\% \pm 0,60$ no controle. No pó de concha (adicionado ao fundo de cada balde) observou-se uma taxa de assentamento médio de $43,93\% \pm 12,72$ em relação ao total. Assim, verificou-se uma taxa de assentamento total de $48,83\%$. Quando se comparou as médias de conchas danificadas entre os coletores utilizados não se verificou diferenças significativas (Figura 1).

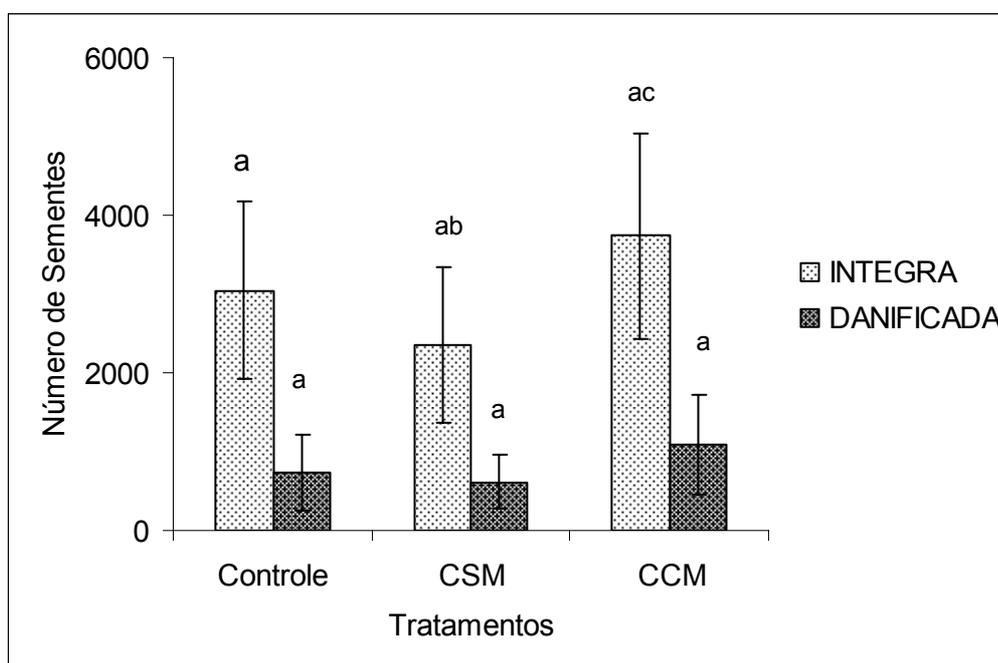


Figura 1 - Número médio de sementes obtidas (INTEGRA - número de sementes íntegras; DANIFICADAS - número de sementes danificadas). Tratamentos: Controle – coletores não banhados em calda de cal e sem maturação, CSM – coletores banhados em calda de cal sem maturação e CCM – coletores banhados em calda de cal com maturação.

No segundo experimento, não foi verificada diferença significativa ($P > 0,05$) entre a média (17.500 ± 9.758) de sementes destacadas do tratamento controle (só pó de concha) e a média (16.733 ± 5.777) de sementes destacadas do tratamento com epinefrina. Contudo, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre a média (23.586 ± 3.607) de sementes do tratamento com coletor e pó de concha e as médias (17.500 ± 9.758) do tratamento controle e do tratamento com epinefrina (16.733 ± 5.777). A porcentagem de sementes (não danificadas) assentadas no pó de concha em relação ao total de larvas utilizadas foi de $55,78\% \pm 3,33$ no tratamento com epinefrina, $78,62\% \pm 12,02$ no tratamento com coletor e pó de concha e de $58,33\% \pm 32,53$ no controle (só pó de concha). Quando se comparou as médias de conchas danificadas entre os tratamentos verificou-se diferença significativa ($P < 0,05$) entre o tratamento com epinefrina e os demais. No tratamento com epinefrina obteve-se $10,00\% \pm 3,33$ de sementes danificadas, nos outros tratamentos essa porcentagem foi

menor, sendo de $5,90\% \pm 2,48$ no tratamento com coletor e pó de concha e $3,67\% \pm 1,41$ no tratamento controle (Figura 2).

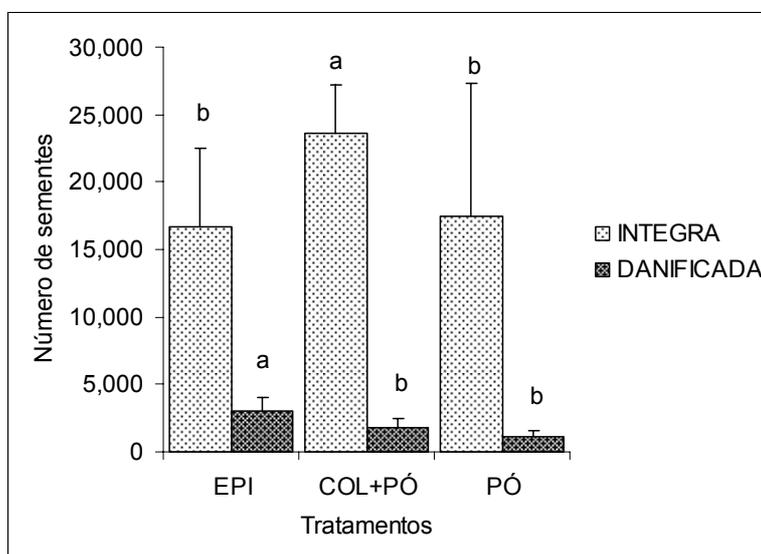


Figura 2 - Número médio de sementes obtidas (INTEGRA - número de sementes íntegras; DANIFICADA - número de sementes danificadas). Tratamentos: EPI – Somente Epinefrina, COL+PÓ – coletores banhados em calda de cal e pó de conchas, PÓ – Somente Pó de Concha.

Nos tratamentos sem o uso de epinefrina ($C_9H_{13}NO_3$ $C_4H_6O_6$), verificou-se uma maior homogeneidade quanto ao tamanho das sementes destacadas.

4. DISCUSSÃO

As taxas de assentamento de $1,3 \pm 0,53\%$ (nos coletores com cal e sem maturação), $2,0 \pm 0,70\%$ (nos coletores com cal e com maturação) e $1,6 \pm 0,60\%$ (nos coletores sem cal e sem maturação) obtidas com uso de coletores plásticos, no primeiro experimento, foram inferiores aquelas obtidas por Devakie e Ali (2002). Em seu estudo estes autores obtiveram taxas de assentamento larval da ostra (*Crassostrea iredalei*) com uso de plástico áspero sem biofilme de $37,6 \pm 2,2\%$, em plástico áspero com biofilme de $27,1 \pm 1,8\%$, e de plástico liso com biofilme de $22,0 \pm 2,1\%$, sendo o pior resultado obtido em plástico liso sem biofilme ($11,0 \pm 1,2\%$). Entretanto, considerando a porcentagem de sementes assentadas no pó de concha em relação ao total de larvas utilizadas nos experimentos, verificamos uma taxa de assentamento de $43,93 \pm 12,72\%$ no primeiro experimento, de $78,62 \pm 12,02\%$ no tratamento com coletor e pó de concha e de $58,33 \pm 32,53\%$ só pó de concha no segundo experimento. Resultados estes superiores aos reportados por Baker e Mann (1998), que utilizando conchas de ostras adultas quebradas ($3 \times 3 \times 0,2$ cm) e maturadas, como substrato para o assentamento larval de *Crassostrea virginica*, obtiveram aproximadamente 11% de assentamento. Su et al. (2007) obtiveram resultado superior utilizando plástico áspero com biofilme, seguido por plástico liso com biofilme, plástico áspero sem biofilme e plástico liso sem biofilme quando avaliaram a taxa de assentamento de larvas de *Pinctada martensii*.

Rico-Villa et al. (2009) testaram o efeito de diferentes temperaturas sobre o tempo que as larvas de *Crassostrea gigas* estavam aptas a assentar e com temperaturas de 17°, 22°, 25°, 27° e 32° C obtiveram respectivamente (35, 25, 20 e menos de 15 dias nas temperaturas mais altas). Comparando com as temperaturas utilizadas nos experimentos 25,3°C±0,80 e 23,1°C±1,3, as larviculturas levaram 18 dias e 24 dias.

A taxa de assentamento preferencial das larvas no pó de concha em relação aos coletores artificiais de polipropileno pode ser devida ao hábito da espécie *Crassostrea brasiliana* se fixar no fundo, visto que, a mesma geralmente é encontrada no infralitoral. Nesse contexto, também foi observado, no primeiro experimento, que as placas plásticas de fundo ocorreu uma maior taxa de assentamento larval.

A epinefrina mostrou-se eficiente no assentamento das larvas com uma taxa de assentamento de 55,78±3,33%. Contudo, quando se comparou as médias de conchas danificadas entre os tratamentos verificou-se diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos com coletores em relação ao tratamento com epinefrina.

Um método habitual de estimular e aumentar o sucesso da metamorfose de larvas de ostras é o emprego de biofilme na superfície de substratos ou o uso de produtos químicos. O uso de biofilme na superfície de conchas de ostras (Tamburri et al., 1992; Satuito et al., 1995), e o uso de neurotransmissores, tais como L-DOPA (L-3,4-dihidroxi-phenylalanine), epinefrina, e amônia (NH₃) tem demonstrado eficiência no aumento da taxa de assentamento de larvas de ostras do gênero *Crassostrea* (Coon et al., 1985, 1990a,b; Fitt e Coon, 1992). Neste contexto, Beiras e Widdows (1995) testando componentes químicos para a metamorfose de larvas de *Crassostrea gigas* concluíram que a exposição a epinefrina, numa concentração de 10⁻⁴ M por 15 minutos foi suficiente para promover mais de 80% de assentamento larval. Por outro lado, Kingzett et al. (1990) testando o efeito de diferentes concentrações 10⁻⁴, 10⁻⁴ e 10⁻⁴ M epinefrina sobre na metamorfose de larvas de *Patinopecten yessoensis* obtiveram taxas de assentamento entre 10 e 16%. Nesse contexto, Doroudi e Southgate (2002) estudando o efeito da epinefrina nas concentrações 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻² M por 24 horas sobre as taxas de assentamento larval de *Pinctada margaritifera* não obteve resultados satisfatórios.

Ácido gama-aminobutírico (GABA), dissolvido em água estéril MilliQ (10⁻³ M), e epinefrina dissolvida em 0,005 NHCl e diluída (1:9) em água estéril MilliQ (10⁻³ M) foram utilizadas para estimular a metamorfose de *Ostrea edulis* (García-Lavandeira et al., 2005). Os autores obtiveram 59% de metamorfose utilizando GABA em uma concentração de 10⁻⁴ M e 55,86% utilizando epinefrina em uma concentração de 10⁻⁵ M.

No presente estudo, larvas com 18 dias de idade levaram dois dias para iniciar o assentamento. Collet et al. (1999), em seu estudo com larvas de 17, 20, 23 e 26 dias, observou que as mesmas levaram 1, 4, 2 e 4 dias, respectivamente para assentarem nos coletores.

Holliday (1996), estudando a posição dos coletores com e sem cal para o assentamento de larvas de *Saccostrea commercialis*, mostrou que as placas de PVC posicionadas horizontalmente obtiveram taxas muito altas (60,2% e 76,6%), quando comparadas com os 0,71% dos dispostos verticalmente. Em outro estudo Taylor et al. (1998), observaram que coletores de PVC oferecem

vantagens quanto ao crescimento das sementes de *Pinctada máxima*, devido ao fato de terem uma maior área de superfície e a posição horizontal favorecer o assentamento. Em nossos estudos as placas dos coletores estavam todas dispostas na posição horizontal, o que pode explicar, em parte, o sucesso do assentamento.

Holiday et al. (1991) relataram taxas de assentamento variando de 77-85% em *Sacostrea commercialis* mantidas refrigeradas a 11° C por 98 horas e de 68% de *Crassostrea gigas* mantidas a 6° C por 98 horas. Comparando esses valores, no primeiro experimento, com 72 horas de geladeira, foi obtido um valor inferior aos das duas outras espécies. No segundo, com 48 horas de refrigeração, a *C. brasiliiana* apresentou taxas de assentamento tão altas quanto as apontadas por Holliday et al. (1991).

Os possíveis problemas de contaminação nos assentamentos com epinefrina e pó de concha, não foram observados neste experimento. Os altos percentuais de sementes obtidos com estes dois tipos de material comprovam isto.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostram que o uso de coletores artificiais não é necessário, pois a maioria das larvas assentou-se no pó de concha. O uso de epinefrina mostrou-se eficiente no assentamento das larvas, contudo houve uma maior heterogeneidade das sementes assentadas com uso deste produto em relação as obtidas nos demais tratamentos.

6. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e ao CT-HIDRO/CT-AGRO/MCT/SEAP-PR/FINEP, financiador do projeto de Caracterização genética e melhoramento de ostras nativas do gênero *Crassostrea*, dentro do qual meus estudos estiveram contemplados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, P., MANN, R., 1998. Response of settling oyster larvae, *Crassostrea virginica*, to specific portions of the visible light spectrum. *Journal of Shellfish Research*, 17, 1081-1083.
- BEIRAS, R., WIDDOWS, J., 1995. Induction of metamorphosis in larvae of the oyster *Crassostrea gigas* using neuroactive compounds. *Journal Marine Biology*, 123, 327-334.
- BUITRAGO, E.; ALVARADO, D., 2005. A highly efficient oyster spat collector made with recycled materials. *Aquacultural Engineering*, 33, 63-72.
- COLLET B., BOUDRY P., THEBAULT A., HEURTEBISE S., MORAND B. and GÉRARD A., 1999. Relationship between pre- and post-metamorphic growth in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 175, 2215-2226.
- COON, S.L., BONAR D. B. and WEINER R. M., 1985. Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) by L-DOPA and catecholamines. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 94, 211-221.
- COON, S.L., BONAR, D.B., WEINER, R.M., 1989. Endogenous control of oyster settlement and metamorphosis. *Journal of Shellfish Research*. 8, 455– 456.
- COON S.L., FITT W.K. and BONNAR D.B., 1990a. Competence and delay of metamorphosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Journal Marine biology*, 106, 379-387.
- COON S.L., WALCH, M., FITT, W.K., WEINER, R.M., BONAR, D. B., 1990b. Ammonia induces settlement behavior in oyster larvae. *The Biological Bulletin*, 179, 297-303.
- DEVAKIE, M.N., 1993. Hatchery Propagation and Remote Setting of the oyster *Crassostrea iredalei* in Malaysia. Unpublished paper presented at the BOBP Workshop at the Fisheries Research Institute, Gelugor, Penang, 5 ago.
- DEVAKIE, M.N., ALI, A.B., 2002. Effective use of plastic sheet as substrate in enhancing tropical oyster (*Crassostrea iredalei*, Faustino) larvae settlement in the hatchery. *Aquaculture*, 212, 277-287.
- DOROUDI, M. S., SOUTHGATE, P. C., 2002. The effect of chemical cues on settlement behaviour of blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae. *Aquaculture*, 209, (1-4), 117-124.
- FITT, W. K., COON S. L., 1992. Evidence for Ammonia as a Natural Cue for Recruitment of Oyster Larvae to Oyster Beds in a Georgia Salt Marsh. *The Biological bulletin*, 182, 401-408.
- GARCIA-LAVANDEIRA, M. et al., 2005. Effects of GABA and epinephrine on the settlement and metamorphosis of the larvae of four species of bivalve mollusks. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 316, 149-156.
- HELM, M.M., BOURNE, N.; LOVATELLI, A., 2006, Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 471. Roma, Itália, 184 p.
- HOLLIDAY J. E., 1996. Effects of surface orientation and slurry coating on settlement of Sydney rock, *Saccostrea commercialis*, oysters on PVC slats in a hatchery John E. Holliday. *Aquacultural Engineering*, 15, 159 -168.
- HOLLIDAY, J. E., ALLAN, G. L. & FRANCES, J., 1991. Cold storage effects on setting of larvae of the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis*, and the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 92, 179-185.
- KINGZETT, B. C., BOURNE, N., LEASK K., 1990. Induction of metamorphosis of the japanese scallop *Patinopecten Yessoensis*. *Journal of Shellfish Research*, 9 (1), 119-124.

RICO-VILLA, B., POUVREAU, S., ROBERT, R., 2009. Influence of food density and temperature on ingestion, growth and settlement of Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 287, 395-401.

SATUITO, C. G., NATOYAMA, K., YAMAZAKI, M., FUSETANI N., 1995. Induction of attachment and metamorphosis of laboratory cultured mussel *Mytilus edulis galloprovincialis* larvae by microbial film. *Fisheries Science*, 61, 223-227.

SILVA, F, C., 2007. Comunicação pessoal. Florianópolis: Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina.

SINGARAJAH, K. V., 1980. On the taxonomy, ecology and physiology of the giant oyster, *Crassostrea paraibanensis*, new species. *Bull. Mar. Sci.* 30, 833-847.

SU, Z., HUANG L., YAN Y., LI, H., 2007. The effect of different substrates on pearl oyster *Pinctada martensii* (Dunker) larvae settlement. *Aquaculture*, 271, 1-4, 377-383.

TAYLOR, J.J.; SOUTHGATE, P.C.; ROSE, R.A., 1998. Assessment of artificial substrates for collection of hatchery-reared silver-lip pearl oyster (*Pinctada maxima*, Jameson) spat. *Aquaculture*, 162, 219-230.

TAMBURRI, M. N., ZIMMER-FAUST, R. K., TAMPLIN, M. L., 1992. Natural sources and properties of chemical inducers mediating settlement of oyster larvae: a re-examination *The Biological bulletin*, 183, 327-338.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- ABSHER, T. M. **Populações naturais de ostras do gênero *Crassostrea* do litoral do Paraná: desenvolvimento larval, recrutamento e crescimento**. São Paulo, 1989. 185p. Tese (Doutorado em Oceanografia) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo.
- BEIRAS, R., WIDDOWS, J., Induction of metamorphosis in larvae of the oyster *Crassostrea gigas* using neuroactive compounds. **Journal Marine Biology**, v. 123, p. 327-334. 1995.
- BORGHETTI, N. R. B.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R. Aquicultura: uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. **Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais**, 2003. 129 p.
- BUITRAGO, E.; ALVARADO, D. A highly efficient oyster spat collector made with recycled materials. **Aquacultural Engineering**, v. 33, p. 63-72, 2005.
- COLLET B., BOUDRY P., THEBAULT A., HEURTEBISE S., MORAND B. and GÉRARD A. Relationship between pre- and post-metamorphic growth in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* **Aquaculture**, v. 175, p. 2215-2226. 1999.
- COON, S.L., BONAR D. B. and WEINER R. M. Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) by L-DOPA and catecholamines. **Journal of experimental marine biology and ecology**, V. 94, P. 211-221. 1985
- COON S.L., FITT W.K. and BONNAR D.B., Competence and delay of metamorphosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Journal Marine biology**, v. 106, p. 379-387. 1990a
- COON S.L., WALCH, M., FITT, W.K., WEINER, R.M., BONAR, D. B., Ammonia induces settlement behavior in oyster larvae. **The Biological Bulletin**, v. 179, p. 297-303. 1990b.
- DEVAKIE, M.N., ALI, A.B. Effective use of plastic sheet as substrate in enhancing tropical oyster (*Crassostrea iredalei*, Faustino) larvae settlement in the hatchery. **Aquaculture**, v. 212, p. 277-287, 2002.
- DOROUDI, M. S., SOUTHGATE, P. C., The effect of chemical cues on settlement behaviour of blacklip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*) larvae. **Aquaculture**, v. 209, (1-4), p.117-124, 2002.
- FAO. Universal software for fishery statistical time series. Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit. Fishstat Plus 2.v.30, 2005.
- FITT, W. K., COON S. L., Evidence for Ammonia as a Natural Cue for Recruitment of Oyster Larvae to Oyster Beds in a Georgia Salt Marsh. **The Biological bulletin**, v. 182, p. 401-408. 1992.
- GARCIA-LAVANDEIRA, M. et al., Effects of GABA and epinephrine on the settlement and metamorphosis of the larvae of four species of bivalve mollusks. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 316, p. 149-156. 2005.
- HELM, M.M., BOURNE, N.; LOVATELLI, A. (comp./ed.). Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. **FAO Documento Técnico de Pesca**. No. 471. Roma, FAO. 2006. 184 p.
- HOLLIDAY J. E. Effects of surface orientation and slurry coating on settlement of Sydney rock, *Saccostrea commercialis*, oysters on PVC slats in a hatchery John E. Holliday. **Aquacultural Engineering**, v. 15, p. 159 -168, (1996).
- IBAMA, Instituto Brasileiro do meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Diretoria de Fauna e Recursos Pesqueiros. Estatística da Pesca, 2005.
- IGNACIO, B. L. et al., Genetic evidence of the presence of two species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) on the coast of Brazil. **Marine Biology**, v. 136, p. 987-991. 2000.

KINGZETT, B. C., BOURNE, N., LEASK K., Induction of metamorphosis of the japanese scallop *Patinopecten Yessoensis*. **Journal of Shellfish Research**, v.9 (1), p. 119-124, 1990.

LAPÈGUE S., BOUTET I., LEITÃO A., HEURTEBISE S., GARCIA P., THIRIOTUIÉVREUX C., BOUDRY P. Trans-Atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. **Biological Bulletin**. v. 202, p. 232–242, 2002.

LAZOSKI, C. **Sistemática molecular e genética populacional de ostras brasileiras (*Crassostrea ssp.*)**. Rio de Janeiro 2004. 145p. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

RIOS, E. **Seashells of Brazil**. 2 ed. Rio Grande: Editora da FURG, 1994. 492 p.

SILVA, F. C., Comunicação pessoal. Florianópolis: Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

SINGARAJAH, K. V., On the taxonomy, ecology and physiology of the giant oyster, *Crassostrea paraibanensis*, new species. **Bull. Mar. Sci.** v. 30, p. 833-847. 1980

TAYLOR, J.J.; SOUTHGATE, P.C.; ROSE, R.A. Assessment of artificial substrates for collection of hatchery-reared silver-lip pearl oyster (*Pinctada maxima*, Jameson) spat. **Aquaculture**, v. 162, p. 219-230, 1998.