

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
CURSO ENGENHARIA DE AQUICULTURA

**Condicionamento de ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*) mantidas com alimentação restrita e diferentes temperaturas**

FELIPE MELLOS DE SOUZA

**Trabalho de Conclusão de Curso**

Florianópolis

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
CURSO ENGENHARIA DE AQUICULTURA

**Trabalho de Conclusão de Curso**

FELIPE MELLO DE SOUZA

Orientador: Claudio Manoel Rodrigues de Melo

**Condicionamento de ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*) mantidas com alimentação restrita e diferentes temperaturas**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de engenheiro de aquicultura pela Universidade Federal de Santa Catarina

Orientador: Claudio Manoel Rodrigues de Melo

Florianópolis

2023

## AGRADECIMENTOS

A minha família, em primeiro lugar, por todo apoio e suporte que me deram e me dão por toda minha vida.

Ao Professor Claudio Melo pela oportunidade e orientação deste trabalho e por todo suporte intelectual e técnico.

Ao Carlos Henrique Araujo de Miranda Gomes, pela oportunidade e coorientação deste trabalho, além de dias de trabalho árduo ao meu lado para realizar o experimento e por todos ensinamentos técnicos e conhecimentos teóricos passados sempre com sorriso no rosto e alta disposição em ajudar.

A todo pessoal do Laboratório de Moluscos Marinhos da UFSC, em especial a Alexandra Inês e o Carlos Manoel do Espírito Santo que se disponibilizaram em ajudar nas análises dos dados.

A todos os professores do Departamento de Aquicultura da UFSC, que sempre que precisei me deram todo suporte e conhecimento solicitado.

A meus colegas alunos do curso de Engenharia de Aquicultura da UFSC que sempre me ajudaram em momentos de necessidade e também pelos momentos de descontração.

## RESUMO

Em Santa Catarina, o cultivo de moluscos bivalves, com ênfase na espécie *Crassostrea gigas*, nativa do Pacífico, destaca-se como o principal do Brasil. Dada a necessidade de reprodução controlada para obtenção de sementes no contexto nacional, o presente estudo concentrou-se no setor de maturação de reprodutores do Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina. O período de maturação natural dos animais, que ocorre durante apenas três a quatro meses do ano (de setembro a dezembro), apresentou um obstáculo identificado no referido laboratório. Especificamente, o processo de maturação, que varia de um a três meses desde o índice mínimo de condição até o máximo, revelou-se como um desafio. A *Crassostrea gigas*, visando à criação de tecido gonádico, armazena glicogênio antes da produção de gametas. A hipótese central deste estudo reside no melhor condicionamento dos animais durante o período de acumulação de energia que antecede a produção de gametas, especialmente sob temperaturas próximas ao zero biológico da espécie (10°C). Para conduzir a pesquisa, foram utilizadas 350 ostras, sendo 22 destinadas à análise inicial, incluindo avaliação do índice de condição e condição reprodutiva. As restantes 280 ostras foram submetidas a tratamentos de temperatura em dois experimentos distintos. O primeiro experimento envolveu diferentes temperaturas (11,5°C, 17°C, 21°C), enquanto o segundo utilizou a temperatura constante de 17°C, combinada com regimes de alimentação restrita em relação ao peso vivo dos animais (0%, 0,5%, 3%). O delineamento experimental foi completamente aleatório em triplicata, com 19 animais em cada unidade experimental, acopladas a tanques de mistura de alimentação de 150 L para cada tratamento. Ambos os experimentos tiveram a duração de 30 dias, mantendo a salinidade constante em 34. Ao término, foram amostrados cinco animais de cada unidade experimental para avaliação do índice de condição e cinco animais para procedimentos histológicos. Os resultados indicaram que em temperaturas mais frias (11,5°C) e em condições mais restritas de alimentação, os animais mantiveram um índice de condição mais elevado em comparação com os demais tratamentos, por um período mais prolongado. As análises histológicas revelaram que as ostras armazenaram mais glicogênio em temperatura de 11,5°C. O segundo experimento não apresentou resultados conclusivos devido à perda de um tratamento durante sua realização.

**Palavras-chave:** 1. Ostreicultura 2. Maturação 3. Índice de Condição 4. Hatchery 5. Reprodutores.

## ABSTRACT

Santa Catarina has the largest production of mollusks in Brazil. The most cultivated oyster species in the state is *Crassostrea gigas*, which is native to the Pacific Ocean. Therefore, in Brazil, the production of *C. gigas* has to be carried out in a laboratory. In this study, we focused on the broodstock maturation sector of the Laboratory of Marine Mollusks at the Federal University of Santa Catarina (SC). In SC, *C. gigas* only mature during three to four months of the year (from early September to late December, at most). To improve the condition index at the laboratory is necessary one to three months. During this period *Crassostrea gigas* will store glycogen before producing gametes. We hypothesize that conditioning is more effective at temperatures close to the species' biological zero (10°C). To evaluate this hypothesis a total of 350 *C. gigas* were used. 22 oysters were used to evaluate the initial condition of the oysters, assessing the condition index and reproductive status, and 280 oysters were subjected to temperature treatments. Two experiments were conducted: the first at different temperatures (11.5°C, 17°C, 21°C), and the second at a constant temperature of 17°C with restricted feeding regimes relative to oysters live weight (0%, 0.5%, 3%). The design was random, with three replicates (35 L basins, UR) containing 19 animals each, connected to 150 L mixing tanks for each treatment. The experiment was carried out for 30 days, maintaining a constant salinity of 34. At the end of the experiment, five oysters from each UR were sampled to evaluate the condition index, and five oysters underwent histological procedures. We found that at lower temperatures (11.5°C) and under more restricted feeding conditions, the oyster maintained a higher condition index for a longer period. Histological analyses revealed that oysters stored more glycogen at 11.5°C. The second experiment did not yield results due to the loss of one treatment.

**Keywords:** 1. Oyster farming 2. Maturation 3. Condition index 4. Hatchery 5. Broodstock

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1	Hipótese(s).....	3
1.1.1	Experimento 1.....	3
1.1.2	Experimento 2.....	3
1.2	Objetivos.....	4
1.2.1	Objetivo Geral .....	4
1.2.2	Objetivos Específicos .....	4
<b>2</b>	<b>MATERIAS E METODOS.....</b>	<b>4</b>
2.1	Local de Estudo .....	4
2.2	Material Biológico .....	5
2.3	Aclimação .....	6
2.4	Condicionamento.....	6
2.5	Análises realizadas.....	7
2.5.1	Índice de condição (IC) .....	7
2.5.2	Análise histológica.....	7
2.6	Experimentos .....	9
2.6.1	Experimento 1.....	10
2.6.2	Experimento 2.....	10
2.7	Análise estatística .....	11
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>11</b>
3.1	Experimento 1.....	11
3.1.1	Índice de condição .....	11
3.1.2	Histologia.....	13
3.1.2.1	Sexo .....	13
3.1.2.2	Estado reprodutivo.....	14

3.1.2.3	Tecido conjuntivo de reserva (TCR) .....	14
3.2	Experimento 2.....	15
4	<b>CONCLUSÃO</b> .....	15
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	16





## 1 INTRODUÇÃO

Em 2018, a produção global de moluscos bivalves totalizou impressionantes 5.994.895 toneladas, conforme relatado pela FAO (2020). Atualmente, o cultivo de ostras abrange aproximadamente 16 espécies diferentes. Notavelmente, dentro desse conjunto diversificado de espécies, 13 delas pertencem a três gêneros: *Ostrea*, *Saccostrea* e *Crassostrea*. Destas, a *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) emergiu como uma líder destacada, contribuindo com uma impressionante produção de 643.549 toneladas desse montante global.

Segundo Ministério de Agricultura e Pecuária MAPA (2021), Santa Catarina possui 98% da produção de moluscos no Brasil concentrada principalmente na região da Florianópolis. A cidade obtém em torno de 11.978,23 toneladas da produção de moluscos do Brasil sendo, aproximadamente, 1.340 toneladas da ostra do Pacífico (*C. gigas*) (EPAGRI, 2020).

A significativa cultura regional de consumo de moluscos contrasta com a percepção nacional da ostra como uma iguaria, resultando em uma expressiva demanda comercial fora da região. Um entrave para reprodução contínua de sementes de ostras do Pacífico, no Brasil é o condicionamento dos reprodutores, já que animais aptos a reprodução em ambiente natural estão presentes apenas de três a quatro meses do ano (Thompson *et al.*, 1996). No sul do Brasil, a *C. gigas* elimina gametas principalmente no final da primavera, em novembro, e no final do verão, em março, com menor intensidade, períodos em que a temperatura da água do mar varia de 26 a 30°C (Ferreira *et al.*, 2004).

O padrão de temperatura torna impossível a obtenção de sementes de ostras do Pacífico no ambiente natural em SC (como é feita com o molusco *Perna perna*), tornando obrigatório o estabelecimento de um sistema de produção em laboratório com um setor de maturação para obter gametas viáveis em diferentes épocas do ano (Ferreira *et al.*, 2011).

A maturação de reprodutores é possível através da manipulação da temperatura e alimentação, estimulando o aumento da biomassa e produção de tecido gonádico. Essa maturação artificial das ostras em estoque de gameta dura em torno de um a três meses, nem sempre atingindo a excelência (Mann *et al.*, 1979).

Sendo assim, há duas maneiras de obter animais aptos a reprodução de maneira contínua no decorrer do ano: coletar reprodutores em ambiente de cultivo, no mar, e estocar em laboratório, já aptos a reprodução até o momento desejado da reprodução; estimular animais que já

eliminaram gametas para ter o aumento de biomassa através do estoque de energia (glicogênio) e posterior desenvolvimento de tecido gonádico em laboratório (Ferreira *et al.*, 2011).

Entretanto, a manutenção de reprodutores em laboratório, envolve o gasto de energia no controle da temperatura da água de cultivo e o aumento exponencial da produção de microalgas utilizadas na alimentação para a manutenção dos animais e/ou incremento da biomassa para produção de gametas. O maior custo de operação das “hatcheries” tende a ser na produção de microalgas devido ao gasto energético e utilização de insumos de alto valor (Suplicy *et al.*, 2022).

Quanto maiores forem as exigências de microalgas para as diferentes etapas na produção de formas jovens de moluscos em laboratório, que envolvem a manutenção de reprodutores, larvicultura, assentamento e crescimento de sementes, mais caro tende a ser o preço das sementes (Seiffert, 2012).

A *C. gigas* é hermafrodita protândrica, geralmente começando como macho, sendo essencial compreender sua gametogênese para a reprodução em laboratório (Soletchnik *et al.*, 1997). A gametogênese é crítica, afetando funções fisiológicas e impondo desafios energéticos (Robert *et al.*, 2008). Começa com células primordiais originadas na embriogênese, diferenciando-se em células germinais masculinas (espermatogônias) e femininas (ovogônias) (Le *et al.*, 2013).

Na ovogênese, ovócitos primários maturam em ovócitos secundários e depois em ovócitos maduros, que se tornam óvulos (células reprodutivas femininas). Na espermatogênese, espermatogônias se tornam espermatócitos primários, passando por meiose para gerar espermatozoides maduros (Dheilly, 2012). A gametogênese é influenciada por fatores ambientais, como temperatura e disponibilidade de alimentos, dependentes do estoque de glicogênio (Thompson *et al.*, 1996).

Uma das maneiras de medirmos o desenvolvimento da ostra do Pacífico é utilizando a medida do índice de condição (IC). O IC é uma medida usada em estudos e pesquisas envolvendo animais, incluindo *Crassostrea gigas*, para avaliar o estado de saúde e a vitalidade dos indivíduos. Esse índice é particularmente importante em estudos relacionados à biologia e ecologia das ostras pois fornece informações sobre o seu estado de bem-estar, crescimento e capacidade de reprodução (Mcgowan *et al.*, 2011).

Em relação a *Crassostrea gigas*, o índice de condição geralmente considera fatores como peso, comprimento e volume das gônadas (órgãos reprodutivos) em relação ao tamanho corporal da ostra. O objetivo é avaliar o quão bem a ostra está se desenvolvendo e armazenando

energia. Isso é importante para entender o ciclo reprodutivo da espécie, especialmente se as ostras estão em condições mais favoráveis para se reproduzir.

Em termos gerais, um índice de condição alto indica que a ostra está saudável, com bom crescimento e reserva de energia, o que é fundamental para a reprodução e sobrevivência. Por outro lado, um índice de condição baixo pode indicar que a ostra está enfrentando estresse ambiental, doenças ou que não está se desenvolvendo adequadamente (Ronquillo, 2012).

Mann (1979) observou, ao discorrer em um experimento com ostras das espécies *Crassostrea gigas*, que, embora o peso corporal das ostras tenha aumentado com o aumento da temperatura (12°C; 15°C; 18°C; 21°C), não houve um aumento correspondente no peso da carne seca. Além disso, ele notou que, em temperaturas mais elevadas, ocorreu uma redução mais precoce na porcentagem de carboidratos, particularmente no estoque de glicogênio.

Fabioux (2005) observou, em um experimento com duração de cinco meses, que em temperaturas entre 8 e 11°C, apesar da retardação da gametogênese, houve a criação de tecido gonádico. Também foi observado que o estoque de glicogênio (energia), período que antecede a gametogênese, não se retardou comparado a temperaturas mais quentes.

## 1.1 HIPÓTESE(S)

### 1.1.1 Experimento 1

O condicionamento de ostras do Pacífico sob alimentação restrita somadas a influência dos diferentes regimes de temperatura influenciará os valores de índice de condição e desenvolvimento das células reprodutivas.

### 1.1.2 Experimento 2

O condicionamento de ostras do Pacífico sob diferentes concentrações de alimento em temperatura de estocagem (17°C) influenciará os valores de índice de condição e desenvolvimento das células reprodutivas.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da restrição de alimento combinados com diferentes regimes de temperaturas (acima de 10,5°C e inferior a 23°C) nos valores de índice de condição e desenvolvimento das células na região do tecido reprodutivo.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o efeito da temperatura (11,5, 17 e 21°C) associada a dieta restrita de microalgas (0,5% do peso seco da carne da ostra) no índice de condição e no desenvolvimento gametogênico de ostras do Pacífico;

Avaliar o efeito da restrição da dieta (0,5, 3 e 0%) sobre o índice de condição e desenvolvimento gametogênico de ostras do Pacífico mantidas a temperatura de 17°C;

## 2 MATERIAS E METODOS

### 2.1 LOCAL DE ESTUDO

Os experimentos foram conduzidos na sala de condicionamento de reprodutores do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM), na unidade da Barra da Lagoa, situada na Estação de Maricultura Prof. Dr. Elpídio Beltrame (EMEB) (-27°58'49.0"N, -48°44'05.4"E) do Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (Figura 1).



Figura 1. Localização do experimento.

Fonte: Google Maps.

## 2.2 MATERIAL BIOLÓGICO

No presente estudo foram utilizadas ostras do Pacífico, *Crassostrea gigas*. As ostras da espécie *C. gigas* foram produzidas no LMM e, ao atingirem tamanho que pudessem ser retidas em malhas de peneiras de 1,5 mm, foram transferidas para crescimento na unidade de campo do LMM na Praia da Ponta do Sambaqui, e mantidas por seis meses em sistema de cultivo suspenso, tipo espinhel. Um total de 350 ostras, previamente selecionadas, medindo aproximadamente  $65 \pm 5$  mm de altura e peso médio total de  $76,3 \pm 6$  g, foram previamente manejadas com a ação de um cutelo para remoção do material incrustante e posteriormente higienizadas com escovação em solução de hipoclorito de sódio a 50 ppm e transferidas para a unidade da Barra da Lagoa, em junho de 2023, época em que aumenta a possibilidade de obtenção de animais inaptos a reprodução e em condição de aumento da biomassa (pós desova).

### 2.3 ACLIMATAÇÃO

Inicialmente, as ostras foram aclimatadas por oito dias em um tanque de 2.000 L, com água do mar na salinidade de 34, temperatura de 17,5°C, aeração constante e alimentadas diariamente com *Chaetoceros mulleri* na concentração máxima de  $25 \times 10^4$  células mL<sup>-1</sup>, mantidas em sistema estático por aproximadamente 4 horas, seguido de renovação por fluxo contínuo com volume de troca de 350% da água em 20 horas.

Após este período foram realizadas análises de 15 ostras para determinação do peso seco da carne, por secagem em mufla, sendo os dados utilizados, posteriormente, para cálculo da quantidade de alimento e para a proporção de carne em relação ao peso vivo total (PVT), através do índice de condição. Também foi verificado o estágio de desenvolvimento reprodutivo de sete ostras, por análises histológicas.

### 2.4 CONDICIONAMENTO

Um total de 280 ostras foram utilizadas nos dois experimentos. Cada tratamento possuía três repetições, cada unidade de repetição (UR) compreendia uma bacia plástica de 35 L com 19 ostras, na proporção de 45 g.L<sup>-1</sup>.

Foi utilizado um tanque de mistura de alimentação (150 litros) para cada tratamento, cada um abastecendo três UR, na vazão aproximada de 120 mL.min<sup>-1</sup> em cada bacia (ajustado de uma a duas vezes ao dia). Os tanques possuíam aeração constante, supridos por um reservatório de água marinha filtrada (“shark bag” de 100 µm) e, quando necessário, abastecidos com alimento por um período determinado que atendesse a quantidade e concentração desejadas de microalgas. Os tratamentos que receberam alimentação mantiveram concentração máxima de  $25 \times 10^4$  células.mL<sup>-1</sup> de microalgas da espécie *Chaetoceros mulleri*, diluída ao longo do dia devido a interrupção do fornecimento de microalgas e continuação do fluxo de água nos reservatórios. Mesmo testando diferentes quantidades de alimento, o segundo experimento manteve a concentração de alimento igual para todos os tratamentos que receberam alimentação.

Os dados de temperatura foram coletados diariamente através de um termômetro (pistola e de álcool).

## 2.5 ANÁLISES REALIZADAS

Ao fim do experimento foram coletadas aleatoriamente, 10 indivíduos por repetição, cinco para análise do índice de condição (IC) e cinco para análise histológica. As amostras foram analisadas no LMM para obtenção do índice de condição e fixação do tecido mole em solução de Davidson marinho para procedimentos histológicos.

### 2.5.1 Índice de condição (IC)

Para determinação do índice de condição (IC), cada indivíduo foi pesado (peso vivo total) com o auxílio de uma balança com precisão de 0,001 g. Em seguida, após a secção do músculo adutor e remoção das partes moles, a carne foi acondicionada em um cadinho de papel alumínio previamente identificado e pesado. As amostras de carne no papel alumínio foram transferidas para estufa a 68°C onde permaneceram por 48h. Após este período o material foi novamente pesado e obteve-se o peso seco conforme descrito por (Lawrence; Scott, 1982). O índice de condição foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Crosby e Gale (1990).

### 2.5.2 Análise histológica

Para as análises histológicas, a parte mole dos animais foi mantida em solução fixadora de Davidson marinho (Shaw; Battle, 1957) por 48h e mantidas em álcool 70% até o início dos procedimentos histológicos.

Para os procedimentos histológicos, foram realizadas duas secções transversais compreendida entre a região dos palpos labiais e do reto, afim de se obter uma fatia de aproximadamente cinco mm de espessura, posteriormente acondicionada em histocassetes para processo de diafanização, inclusão de parafina e posterior confecção dos blocos em recipientes com parafina.

Os blocos foram desbastados e alocados em micrótomo para realização dos cortes em secções de cinco  $\mu\text{m}$  de espessura. As porções cortadas foram posicionadas em lâmina de vidro e coradas com hematoxilina e eosina (Humason, 1962). Estes procedimentos foram realizados no Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos – AQUOS do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina. As lâminas histológicas obtidas foram analisadas em microscopia de luz para determinação do sexo, estágio do ciclo reprodutivo e quantidade de tecido conjuntivo de reserva.

A determinação das fases do ciclo reprodutivo foi baseada nas classificações qualitativas propostas por Lango Reynoso *et al.* (2000), desconsiderando os estádios que possuem células reprodutivas desenvolvidas, apresentadas na Tabela 1 e Figuras 2 e 3.

Tabela 1 – Descrição dos estádios de desenvolvimento do tecido gonádico

Estádios (código)	Descrição histológica
Repouso (REP)	Ausência de folículos ou folículos muito pequenos e alongados com células do epitélio germinativo sem diferenciação.
Gametogenese inicial (GI)	Folículos alongados e isolados ainda com muito tecido conjuntivo. Presença de alguns gonócitos primordiais, ovogônias/espermatogônia e ovócito diminuto/espermatócito.
Gametas residuais e reabsorção (RG)	Folículos com gametas remanescentes, espermatozoides ou ovócitos. Alguns se degenerando. Algumas vezes é observado o surgimento das células germinativas dos folículos. Tecido conjuntivo começa a se desenvolver entre os folículos.

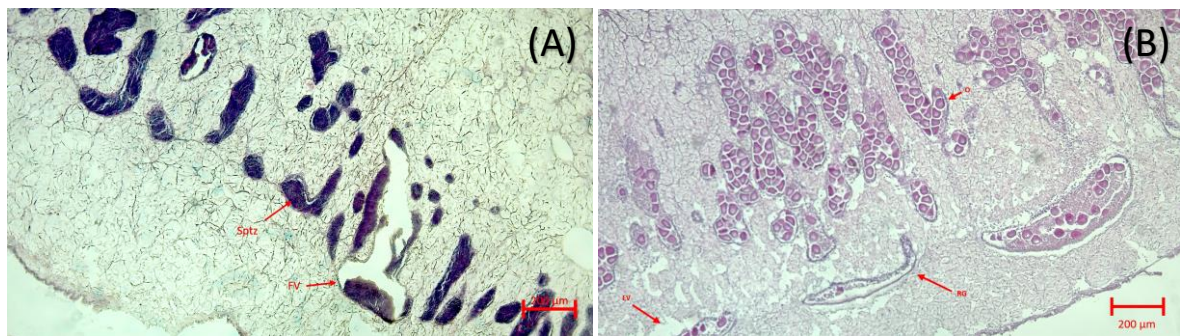


Figura 2 - Foto das lâminas histológicas do tecido reprodutivo das ostras *Crassostrea gigas* na condição inicial do experimento. Aumento de 5x na objetiva e 3,15x na imagem digital. Setas indicando presença tecido conjuntivo de reserva, (A) folículos diminutos, vazios ou com espermatozoides remanescentes e (B) presença de folículos com espaços vazios, oócitos maduros e gametas degenerados.



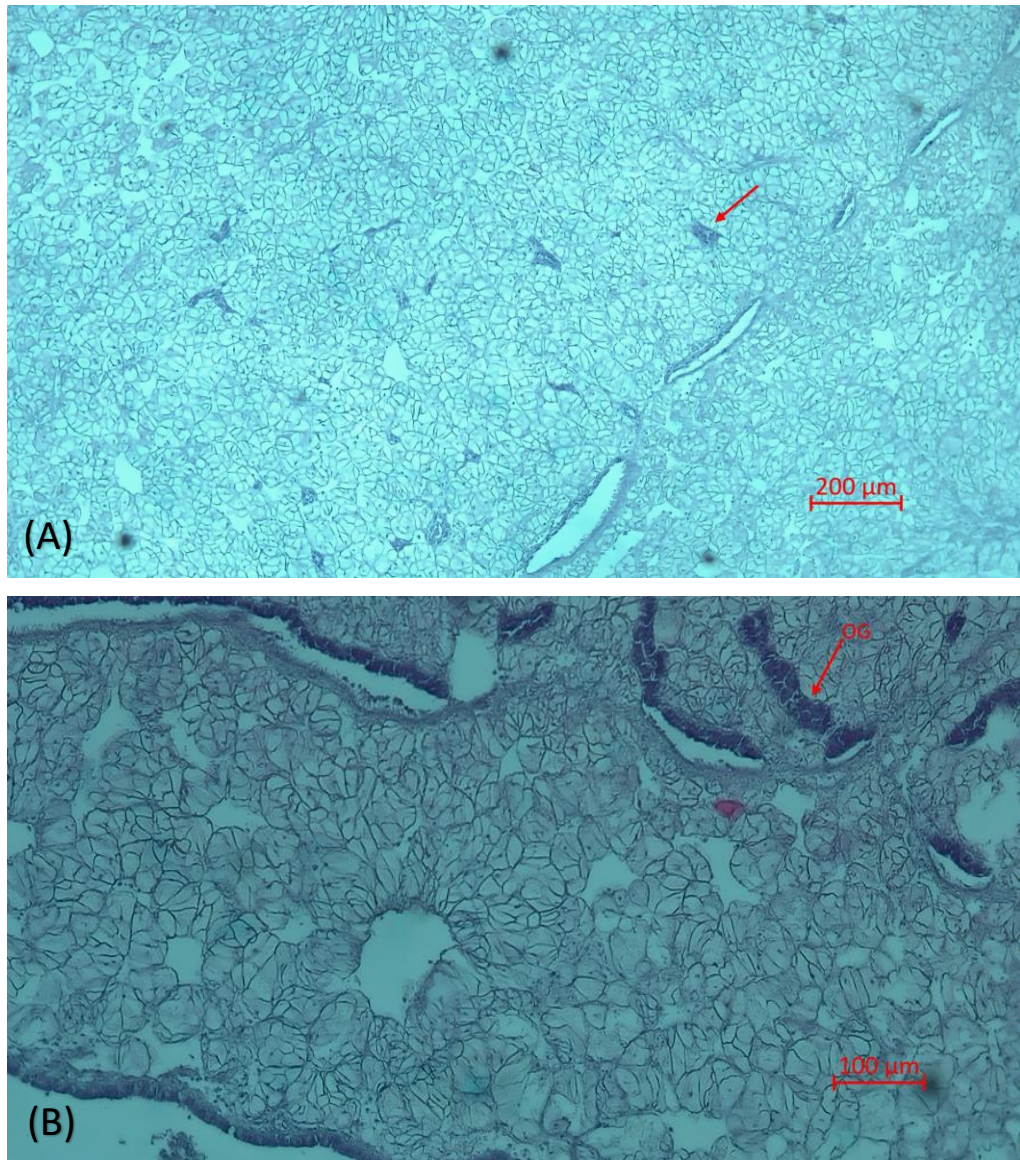


Figura 3 - Imagem das lâminas histológicas do tecido reprodutivo das ostras *Crassostrea gigas* em repouso (A) e gametogênese inicial (B). Aumento de 5x na objetiva e 3,15x na imagem digital (A) e aumento de 20x na objetiva e 4,22x na imagem digital. Setas indicando presença tecido conjuntivo de reserva, (A) folículos diminutos, com células primordiais indiferenciadas e (B) presença de folículos com ovogonia.

## 2.6 EXPERIMENTOS

Foram realizados dois experimentos, um analisando o efeito de diferentes regimes de temperatura sob alimentação restrita (0,3 - 0,5% da biomassa seca da carne da ostra em microalga) e outro analisando o efeito da alimentação (0, 0,5 e 3%) em ostras mantidas a temperatura de  $17 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$ . Cada experimento continha três tratamentos com um tanque de

mistura de 150 L para alimentação e recebiam aeração constante. Cada tratamento possuía três unidades de repetição sendo nove para cada experimento conforme mostrado no esquema abaixo (Figura 4).

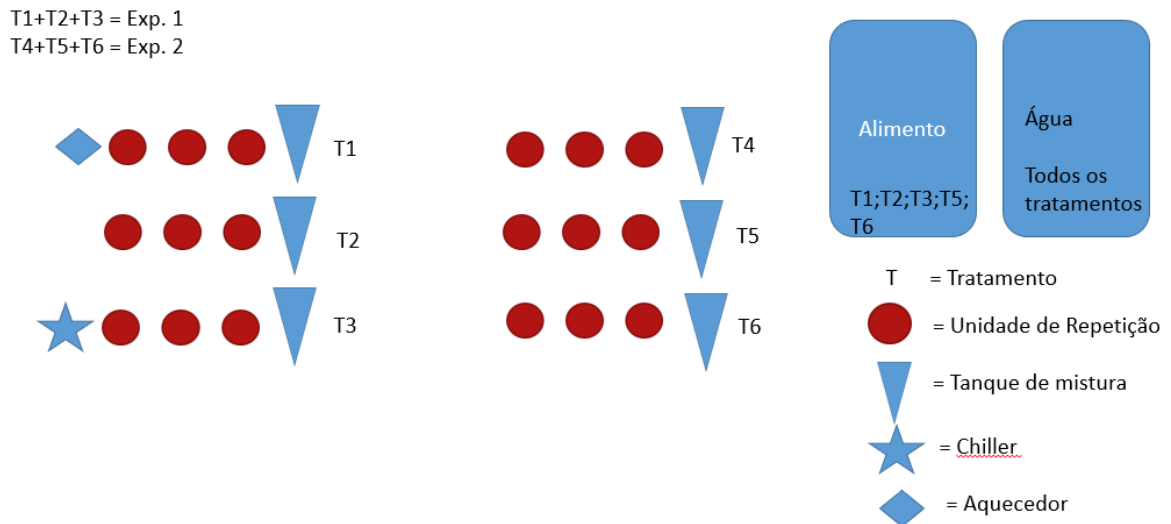


Figura 4. Esquema dos experimentos

### 2.6.1 Experimento 1

Foram testadas a influência dos regimes de temperatura média da água de  $11,5 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$  (T1);  $17,1 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$  (T2) e  $21 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$  (T3) no índice de condição e estágio do desenvolvimento reprodutivo dos animais mantidas por 30 dias na salinidade 34 e alimentação restrita (0,3 a 0,5% do peso seco das ostras em microalga).

Os tanques de mistura dos tratamentos de  $11,5$  e  $17,1^{\circ}\text{C}$  possuíam uma bomba de recalque para recircular a água (com alimento) entre o reservatório e os resfriadores (chillers da marca Refripampa de 1 HP). O tanque de mistura que abastecia as UR do tratamento com água a  $21^{\circ}\text{C}$  possuía dois aquecedores com termostato de 300W.

### 2.6.2 Experimento 2

Foram testadas a influência de dois regimes de alimento, de 0 (T4) e 0,33 e 0,5% (T6) do peso seco da carne das ostras em microalga sobre índice de condição (IC) e o estágio do desenvolvimento reprodutivo dos animais (histologia).

As microalgas foram misturadas nos tanques de passagem em fluxo e volume necessário para obtenção da concentração máxima desejada de  $25 \times 10^4$  células.mL<sup>-1</sup> e

quantidades ( $\geq 0,5$  a 3 % da biomassa). O tratamento sem alimento recebia apenas água em fluxo contínuo. O tratamento 5 (0,5% a 3% da biomassa) foi perdido.

## 2.7 ANALISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos na análise de índices de condição foram analisados estatisticamente através de análises de variância - ANOVA, teste de comparação de médias (Tukey,  $p \leq 0,05$ ) e teste t para comparação com a condição inicial dos animais.

Para os dados histológicos foi realizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Os programas utilizados para a realização das análises estatísticas foram o Excel® e R®.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 EXPERIMENTO 1

#### 3.1.1 Índice de condição

Houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos de 11,5°C (T1) e 21°C (T3) e não houve diferença significativa entre o tratamento de 17°C (T2) e os demais tratamentos (Figura 5). Entre a condição inicial e os tratamentos houve diferença significativa (Figura 6).

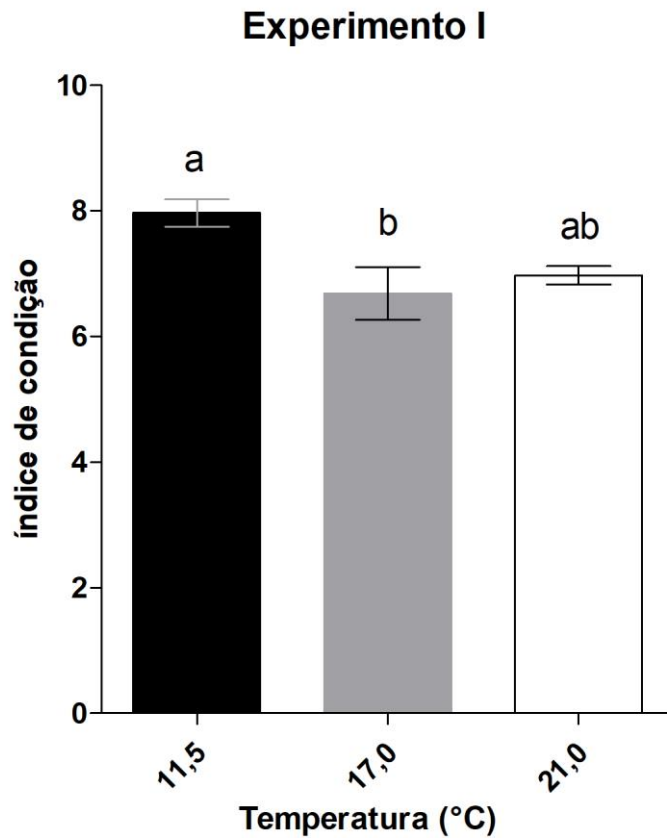


Figura 5. Índice de condição dos animais entre as temperaturas avaliadas.

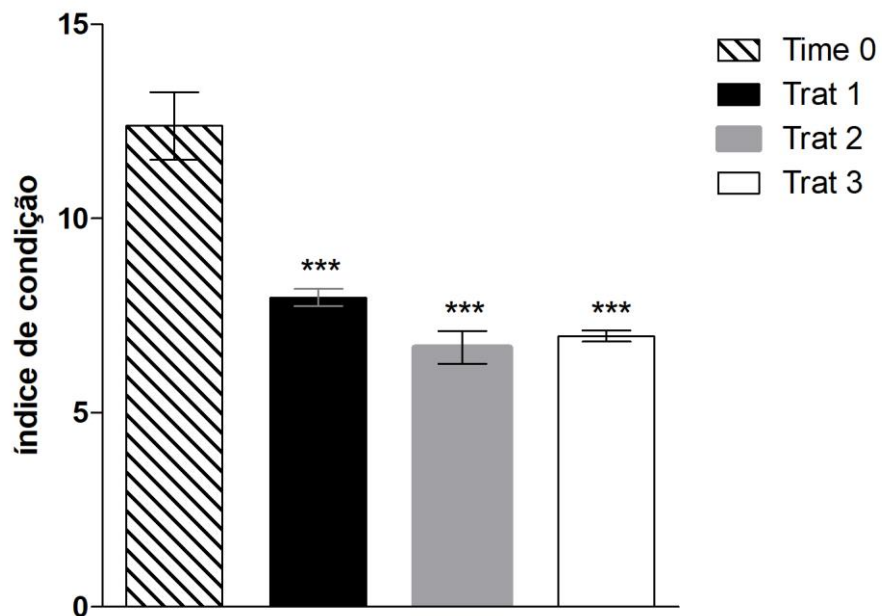


Figura 6. Índice de condição dos animais entre as temperaturas avaliadas e a condição inicial. Legenda: 11,5°C = TRAT 1; 17,0°C = TRAT 2; 21,0°C = TRAT 3; Time 0 = Condição Inicial.

Pode-se notar que o índice de condição reduziu significativamente, possivelmente devido a restrição alimentar em que foram submetidos os animais, como observado nos estudos de Ferreira et al. (2011) e Mann et al. (1979), onde concluiu-se que para aumentarmos o peso vivo e consequentemente o IC, devemos alimentar as ostras junto com a manipulação da temperatura.

No entanto, nota-se IC diferiu entre a temperatura de 11,5°C e temperatura de 21°C, mas não diferiu entre tratamento de temperatura 11,5°C e 17°C, corroborando com a hipótese de que em situação extrema (restrição de alimento), em menores temperaturas, tende a preservar melhor o índice de condição do que em temperaturas mais elevadas (em que é feita a maturação tradicional). Fabioux (2005) notou a manutenção do IC e o desenvolvimento da gametogênese em temperaturas próximas ao zero biológico (8-11°C), mas não superiores a águas mais quentes (17-21°C), contudo não havia restrição alimentar.

### 3.1.2 Histologia

Pelos resultados das lâminas histológicas observa-se que apesar dos animais já terem recuperado uma parte do tecido conjuntivo de reserva, ainda apresentaram células reprodutivas em estágio avançado (gametas masculinos e femininos), mesmo que em pouca quantidade. Nos poucos folículos presentes, observou-se tamanho reduzido, alguns com gametas, alguns com resto da citólise e ausência de espermatogonia e ovogonia, bem como as demais células características da gametogênese.

Não houve diferença entre a proporção sexual dos animais (machos e indeterminados). O estado reprodutivo dos animais submetidos ao T1 diferiu daquele observado no T2, o qual difere do T3; contudo estado reprodutivo dos animais do T1 é igual ao observado no T3. No tecido conjuntivo de reserva teve diferença estatística entre todos os tratamentos.

#### 3.1.2.1 Sexo

Não observou nenhuma fêmea entre os animais analisados, diferente da análise prévia inicial. Esse resultado corrobora com o estudo do Soletchnik *et al.* (1997), pois todos os tratamentos de alimentação restrita, nas diferentes temperaturas, proporcionaram a absorção das células reprodutivas femininas (estoque de energia) e estocagem de gametas masculinos.

### 3.1.2.2 Estado reprodutivo

Os resultados histológicos se resumiram a estádios primários de gametogênese, com três estados reprodutivos diferentes, conforme Lango Reynoso *et al.* (2000): resto de gametas maturo (RG), gametas iniciais (GI) e repouso (REP).

Na análise prévia inicial obtivemos todas as amostras com RG. Contudo, no tratamento de temperatura 11,5°C tivemos uma distribuição quase homogênea entre os resultados do estágio reprodutivo. No tratamento 17°C a grande maioria dos animais estavam em GI, sendo observado apenas um animal em repouso e nenhum com resto de gametas, e no tratamento 21°C não houve nenhum animal no estágio GI e uma distribuição quase uniforme entre GI e REP. De acordo com descrito por Mann (1979), *C. gigas* tende a desovar no verão em temperaturas mais quentes e posteriormente volta o começo do processo de gametogênese, período em que colhemos os animais (começo de junho de 2023).

Os resultados dos tratamentos, que os animais estão distribuídos quase que uniformemente entre os três estágios (resto de gametas maturo, repouso e gametas inicial) corrobora com o observado por Thompson *et al.* (1996) que as ostras precisam de tempo e alimentação adequada para poder desenvolver sua gametogênese, já que são estágios primários ou de manutenção (repouso).

### 3.1.2.3 Tecido conjuntivo de reserva (TCR)

Nesse critério de avaliação dos resultados histológicos, analisamos o estado em que o tecido conjuntivo de reserva estava, onde o animal reserva sua energia em forma de glicogênio. Foram observados três condições: sem TCR, com pouco TCR e com TCR moderado.

Na análise inicial obtivemos todas as amostras com resultados iguais, sem tecido conjuntivo de reserva. O tratamento 11,5°C destacou-se tendo como resultados todas as amostras como TCR moderado. O tratamento 21°C foi o segundo com melhor desempenho tendo todas as amostras como pouco TCR e o tratamento 17°C teve uma distribuição homogênea entre pouco e sem TCR. Esses resultados vão de encontro com os resultados obtidos por Fabioux (2005) em que em temperaturas mais frias as ostras (*C. gigas*) tendem a estocar mais energia (glicogênio) para sua manutenção.

### 3.2 EXPERIMENTO 2

Os resultados demonstraram a inexistência de diferenças significativas entre os tratamentos 4 (T4) e 6 (T6), enquanto revelaram diferenças estatísticas quando comparados à condição inicial dos animais tratando-se do índice de condição.

A média do índice de condição dos animais submetidos aos tratamentos 4 e 6 (T4 e T6) foi de  $7,30 \pm 0,32$ , em contraste com a média da condição inicial que atingiu  $11,67 \pm 1,79$ .

O T5 sofreu perda de dados, impossibilitando a avaliação da sua eficácia na promoção da maturação de ostras do Pacífico. Portanto, os resultados obtidos neste experimento não forneceram informações substanciais que possam contribuir para a compreensão da maturação desta espécie.

A única conclusão que podemos extrair a partir dos dados disponíveis é a redução do índice de condição em comparação a condição inicial dos animais. Esse decréscimo era, efetivamente, esperado, dado que os T4 e T6 envolveram restrições alimentares significativas. Esses resultados sugerem, unicamente, a influência negativa da restrição de alimento na condição das ostras, um fato que está alinhado com as expectativas teóricas e com a literatura científica existente (Ferreira *et al.*, 2011, Mann *et al.*, 1979).

## 4 CONCLUSÃO

A manutenção de ostras do Pacífico (*C. gigas*) em restrição alimentar gera um decréscimo no seu índice de condição, no entanto, em água de  $11,5^{\circ}\text{C}$  esse decréscimo tende a ser menor, possivelmente porque os animais reduzem o metabolismo. Observamos também que na temperatura de  $11,5^{\circ}\text{C}$  os animais tendem a estocar mais energia, retardando o começo da gametogênese.

Para entendermos melhor esse processo em águas mais frias, necessitamos de mais estudos, com mais tratamentos e mais tempo de experimento.

## REFERÊNCIAS

- CEDAP.** Estudos - Estatísticas. Disponível em: <https://cedap.epagri.sc.gov.br/index.php/estudos/#estatisticas>. Acesso em 23 ago. 2020.
- FAO. Fishery and Aquaculture Statistics. **Global production 1950-2018 (Online Query Panels).** In: **FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]**. Rome. Updated 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/en>. Acesso em 23 ago. 2020.
- FABIOUX, C. A.; HUVET, P.; LESOUCHEU; M. LE PENNEC; S. POUVREAU. **Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock.** *Aquaculture*, 250, 458-470, 2005.
- FERREIRA, J.F.; BESSEN, K.; WORMSBECKER, A.G.; SANTOS, R.F. **Physical-chemical parameters of seawater mollusk culture sites in Santa Catarina, Brazil.** *J. Coastal Res.*, v.39, p.1122-1126, 2004.
- FERREIRA, J.F.; SILVA, F.C.; GOMES, C.H.A.M.; FERREIRA, F.M. Produção programada e rastreabilidade de larvas e sementes de moluscos em Santa Catarina, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.192-197, abr./jun. 2011.
- HUMASON, G. L. **Animal Tissue Techniques.** San Francisco: W. H. Freeman & Co, 1962.
- LANDO REYNOSO, F.; CHAVEZ-VILLABA, J.; COCHARD, J.C.; LE PENNEC, M.; **Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg),** *Aquaculture* 190,183-199., 2000.
- LAWRENCE, D.R; SCOTT, G.I.; **The Determination and Use of Condition Index of Oyster.** *Estuaries* 5: 23-27, 1982.
- MANN, R. **Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures.** *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 59, 95-110, 1979.
- MAPA.** Estudo – Estatísticas. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/boletim-da-aquicultura-em-aguas-da-uniao-de-2021-ja-esta-disponivel>, 2021.
- MCGOWAN, P.J.K.; BEARHOP, S. **The Use of Condition Indices in Conservation**, 2011.
- ROBERT, C.; CHOLLET, C.; TEYSSIÉ, B., et al. **Gametogenesis and reproductive cycle of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in a southern Mediterranean lagoon (Thau, France),** 2008.
- RONQUILLO, J.D.; FRASER, J.; MCCONKEY, A.J. **Effect of mixed microalgal diets on growth and polyunsaturated fatty acid profile of European oyster (*Ostrea edulis*) juveniles.** *Aquaculture*, 360, 64-68. [<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.018>], 2012.
- RUPP, GUILHERME S.; GOMES, C.H.A.; SUPLICY, F.M. Produção de sementes de ostras do gênero *Crassostrea* em laboratório. In: Felipe Matarazzo Suplicy (Org.). **Manual do cultivo de ostras.** 1ed. Florianópolis: EPAGRI, 2022, p. 77-98.



SEIFFERT, WALTER QUADROS; POLI, CARLOS ROGÉRIO; MELO, C.M.R. **Viabilidade econômica da produção de sementes diplóides de ostras do pacífico, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795), no sul do Brasil, 2012.**

SHAW, B.L.; BATTLE, H.I. The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, 35, 1957.

SOLETCHNIK, P.; RAZET, D.; GEAIRON, P.; FAURY, N.; GOULLETQUER, P. **Ecophysiology of maturation and spawning in oyster *Crassostrea gigas*: metabolic (respiration) and feeding (clearance and absorption rates) responses at different maturation stages.** *Aquat Living Resour* 10, 177–185, 1997.

DHEILLY, P.; LELONG, P.; BOUDRY, A. **Gametogenesis in the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*: a microarray-based analysis identifies sex and stage-specific genes,** 2012.

THOMPSON, P.A.; GUO, M.X.; HARRISON, P.J. **Nutritional value of diets that vary in fatty acid composition for larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*).** *Aquaculture*, 143 (3), 379–391, 1996.

Y. LE, L. E; FOSTER, R; D. WALKER, et al. **Gametogenic cycle and reproductive effort of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: from gametogenesis to spawning,** 2013.