

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

CAROLINE SILVESTRE GOMES

**MELHORAMENTO GENÉTICO DE *Crassostrea gigas*:
PROTOCOLO APLICADO A LINHAGENS COM
DIFERENTES CORES DE CONCHAS EM SISTEMA DE
RECIRCULAÇÃO**

**FLORIANÓPOLIS - SC
2025**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

Graduanda do Curso de Zootecnia:

CAROLINE SILVESTRE GOMES

**Título: Melhoramento genético de *Crassostrea gigas*:
protocolo aplicado a linhagens com diferentes cores
de conchas em sistema de recirculação**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como exigência para
obtenção do Diploma de **Graduação em
Zootecnia** da Universidade Federal de
Santa Catarina.

Orientadora: **Flávia Lucena Zacchi**,
Departamento de Aquicultura, Centro de
Ciências Agrárias (CCA), UFSC.

Colaborador: **Carlos Manoel do
Espírito Santo**, Departamento de
Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias
(CCA), UFSC

**FLORIANÓPOLIS - SC
2025**

SOBRENOME, nome do autor.

Título e subtítulo / Nome e Sobrenome do autor.

Florianópolis – SC: UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina, 20__

n.de p.

Monografia (TCC) – UFSC, 2010

Descritores. (Palavras-chave) 1. _____ 2. _____ 3. _____

4. _____ 5. _____

CDU (Classificação Décima Universal)

37.013 (079.1)

Caroline Silvestre Gomes

**MELHORAMENTO GENÉTICO DE *Crassostrea gigas*:
PROTOCOLO APLICADO A LINHAGENS COM
DIFERENTES CORES DE CONCHAS EM SISTEMA DE
RECIRCULAÇÃO**

Esta Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso foi julgada aprovada e adequada para obtenção do grau de Zootecnista.

Florianópolis, 12 de Junho de 2025.

Banca Examinadora:

Prof.^a Flávia Lucena Zacchi

Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina

Carlos Manoel do Espírito Santo

Claudio Manoel Rodrigues de Melo

AGRADECIMENTOS

Agradecimento inicial aos meus pais e meu irmão que me apoiaram, me incentivaram e me ajudaram a graduação inteira, em todas as escolhas que fiz desde o início, sem isso nada seria possível.

Aos meus colegas que estão comigo desde o início do curso (Amanda, Edgar, Aline, Isa, Nayara e Luan), alguns mesmo de longe ainda dando apoio e incentivo, um obrigada por todas as disciplinas, conselhos e momentos compartilhados.

Aos que entraram no meio do caminho (Maria Luisa, Matheus, Thayna, Ana e Sofia) que fizeram presente em desesperos por disciplinas, desabafos e muitos momentos juntos, que me fizeram a vida fora da faculdade muito melhor. Obrigada por todos os momentos e por me aguentar.

Ao Laboratório de Moluscos Marinhos e a todos os professores que me acolheram e me ensinaram tanto, em especial a Flavia, Jaqueline, Claudio, Carlos Manoel, Carlos Henrique e Chico. A equipe toda do laboratório que compartilhou conhecimento, ajudou nos manejos, tomou café ou almoço junto. Todos fizeram esse experimento e esse ano junto muito especial. Aos que me ficaram mais próximo (Lucas, Vinicius, Daniele, Julio, Maicon, Jhuan e Alexandre) sem vocês não seria possível. Muito obrigada toda equipe do LMM.

Obrigada Zootecnia por me trazer tantas experiências e conhecimentos, e me aproxima de tantas pessoas que vou levar para vida!

RESUMO

O objetivo do trabalho foi aprimorar o protocolo de larvicultura da ostra do Pacífico (*Crassostrea gigas*) em sistema de recirculação de água (RAS) em pequenos volumes, para obtenção de famílias selecionadas quanto à cor da concha (preta, branca, dourada e listrada). Foram conduzidas cinco experimentos entre 2024 e 2025 no Laboratório de Moluscos Marinhos da UFSC, com a realização de cruzamentos controlados, com até 60 famílias por larvicultura. Sendo realizadas atualizações e adequações do protocolo experimental a cada experimento, incluindo alterações no manejo sanitário e variações na aeração para mitigar a contaminação por protozoários. Os primeiros experimentos apresentaram alta mortalidade larval, atribuída a problemas no sistema, contaminação e manejo. A aplicação da limpeza com solução de limão e a modificação da aeração demonstraram melhorias na taxa de sobrevivência, ainda que existam melhorias a serem implementadas. Os resultados reforçam a necessidade de ajustes contínuos no protocolo e de um controle rigoroso das condições sanitárias e ambientais para viabilizar um programa eficaz de melhoramento genético de *C. gigas*.

Palavras-chave: *Crassostrea gigas*, larvicultura, RAS, melhoramento genético, coloração da concha.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Reprodutores da linhagem de coloração preta.	25
Figura 2 - Formação de famílias dos reprodutores selecionados.	25
Figura 3- Famílias selecionadas e recipientes para desova.	26
Figura 4 - Recipiente para a fertilização dos gametas e homogeneizadores. .	26
Figura 5 – Incubadora de oócitos fecundados.	27
Figura 6 – Sistema de Recirculação de Água localizado no setor de melhoramento genético do LMM.	28
Figura 7 - Garrafas e penas do Sistema de Recirculação de Água.	28
Figura 8 – Uso da aeração inserida pela parte superior. A esquerda vista superior e à direita vista frontal do RAS.	33
Figura 9 - Uso da aeração inserida na parte inferior. A esquerda vista superior e à direita detalhe do filtro utilizado do sistema de aeração.	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tamanho das malhas (μm) para peneiramento	21
Tabela 2 - Alimentação experimento larvicultura, baseada nas duas últimas larviculturas e Ramos et al., 2022 e Dybas, 2014.	22
Tabela 3 - Materiais, quantidade e seu uso para o manejo de desova.	39
Tabela 4 - Materiais, quantidade e seu uso para o manejo de incubação.	40
Tabela 5 - Materiais, quantidade e seu uso para o manejo de povoamento....	41
Tabela 6 – Dieta oferda no experimento de larvicultura, de <i>Crassostrea gigas</i> em Sistema de Recirculação de Água. Adaptação descritas por Ramos et al. (2022), e Dybas (2014).	42
Tabela 7 - Tamanho das malhas (μm) para peneiramento larval.	43
Tabela 8 - Materiais, quantidade e seu uso para o manejo diário.....	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. Objetivo geral	11
2.2. Objetivo específico	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1. Produção de ostras	12
3.2. A ostra do Pacífico, <i>Crassostrea gigas</i>	13
3.3. Diferentes linhagens.....	14
3.4. Mercado consumidor	15
3.5. Sistema de Recirculação de água (RAS)	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1. Localização.....	18
4.2. Protocolo de larvicultura Sistema de Recirculação de Água (RAS) atualmente utilizado no LMM.....	18
4.3. Atualização do Protocolo	24
4.3.1. Reprodutores e desova	24
4.3.2. Sistema de Recirculação de Água RAS	27
4.3.3. Manejo	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1. Experimento de larvicultura em cruzamento simples	29
5.2. Experimento de aeração e experimento de higienização com limão.....	31
6. CONCLUSÃO	34
7. REFERÊNCIA.....	35
8. APÊNDICE	38

1. INTRODUÇÃO.

A espécie *Crassostrea gigas*, popularmente denominada ostra do Pacífico é um molusco bivalve, cuja distribuição natural compreende Japão, China e Coreia (Miossec; Gouletquer, 2009). Em virtude de seus parâmetros zootécnicos favoráveis de bom desenvolvimento, a espécie foi introduzida na Europa, América, África e Oceania (Shatkin et al. 1997).

Em 1974, ocorreu a primeira introdução da espécie no Brasil, no estado do Rio de Janeiro (RJ), sendo, em 1987, introduzida em Santa Catarina (SC), onde foi selecionada ao longo do tempo por suas características fisiológicas de crescimento e adaptação às condições ambientais locais.

Atualmente, SC é o principal estado produtor de ostras do Brasil, contribuindo com cerca de 97% da produção nacional de cultivo. Isto se dá pela localização geográfica, fatores ambientais favoráveis para o crescimento da espécie, aliada a uma produção e reprodução com tecnologia e pesquisa (Andrade, 2016).

A reprodução desta espécie no estado é realizada, majoritariamente, pelo Laboratório de Moluscos Marinheiros (LMM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), onde o processo realiza-se em ambiente controlado, seguido pela distribuição de formas jovens (sementes) excedentes da pesquisa aos maricultores locais. O LMM desempenha um papel crucial no avanço da produção, adaptação e desenvolvimento do cultivo desta espécie através da pesquisa, ensino e extensão.

A fase de cultivo (crescimento e engorda) das ostras é realizada em fazendas marinhas, predominantemente localizadas no município de Florianópolis e municípios adjacentes, como São José, Penha e Palhoça (Suplicy, 2022).

A ostra do Pacífico, em virtude de seu notável desempenho de crescimento e aceitação pelo público, tem sido objeto de estudos e pesquisas visando o aprimoramento genético e a análise de seus parâmetros zootécnicos, com o objetivo de garantir uma produção cada vez mais eficiente e de alta qualidade.

Uma das vertentes dessas pesquisas no LMM diz respeito à seleção de diferentes linhagens que ocorre desde 2019. Para tal, são utilizadas linhagens com variações de coloração de conchas, que incluem tonalidades como branca, preta, dourada e listrada (ZHANG, G. et al., 2017).

Após cinco gerações consecutivas de seleção genética em massa, voltadas para o aprimoramento de linhagens de *Crassostrea gigas* com diferentes colorações de concha (branca, dourada, preta e listrada), foi iniciada uma nova etapa do programa de melhoramento genético com enfoque na seleção genética por família. Esse método, mais preciso e eficaz, consiste na reprodução controlada entre indivíduos previamente selecionados – um macho e uma fêmea pertencentes à mesma linhagem –, permitindo o acompanhamento genético de características desejáveis em cada família. A adoção da seleção por família representa um avanço significativo no protocolo de larvicultura, pois possibilita maior controle sobre a hereditariedade de traços produtivos e adaptativos, além de contribuir para a construção de um plantel com mais controle sobre a diversidade genética e endogamia (Zhong et al., 2016).

Por meio da aplicação de técnicas reprodutivas associadas a um manejo criterioso em sistemas de recirculação de água (RAS) em pequenos volumes, torna-se possível aprimorar o controle genético, garantir melhores condições de desenvolvimento larval e reduzir o impacto ambiental (Ramos et al., 2021). Além disso, a estruturação do cultivo em pequenos volumes favorece a rastreabilidade das famílias e possibilita análises mais precisas dos desempenhos zootécnicos de cada linhagem, ampliando o potencial de seleção de indivíduos superiores para futuras gerações.

Neste sentido iniciou-se a produção de famílias de ostras selecionadas para cor da concha em um sistema de recirculação de água com unidades de pequeno volume (2,4 L).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Aprimorar o protocolo de larvicultura de *Crassostrea gigas* em sistema de recirculação em pequenos volumes, para obtenção de famílias para programa de melhoramento genético de ostras.

2.2. Objetivo específico

- Avaliar sobrevivência de larvas de ostras em sistema de recirculação (RAS) em incubadoras de pequeno volume;
- Atualizar e validar o procedimento operacional padrão (POP) para a larvicultura de ostra em RAS do LMM/UFSC;
- Iniciar um programa de melhoramento genético familiar para a produção de linhagens de *C. gigas* selecionadas para cor da concha.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Produção de ostras

A produção de moluscos é uma indústria global em constante expansão e valorização, com destaque para as ostras como um de seus principais produtos. Inicialmente, essa produção baseava-se na coleta em ambientes naturais, como rochas e outros substratos, caracterizando-se por uma produção limitada e sujeita a riscos devido aos locais de difícil acesso. No entanto, com os avanços significativos de estudos e tecnologia nesta área, o cultivo de moluscos foi introduzido em diversos sistemas de produção. O conhecimento aprofundado das necessidades biológicas, parâmetros zootécnicos e o desenvolvimento de técnicas apropriadas permitiram uma produção controlada e em maior escala (Smaal et al., 2019).

A China é responsável pela maior parte da produção de ostra mundial, isso se dá por sua alta tecnologia, maior escala, e conhecimento sobre a espécie, sendo a espécie com maior produção a *Crassostrea gigas* (YU et al., 2024). No Brasil a produção destaca-se em Santa Catarina, correspondendo 97% da produção brasileira, sendo a maior produção a ostra do Pacífico, por sua boa adaptação e maior rendimento (Suplicy, 2022).

Santa Catarina é um estado com uma longa costa litorânea, com parte de sua economia baseada na pesca e produção de animais marinhos, com pequenos produtores e produção, principalmente, artesanal. No passado a ostra era comercializada em baixa quantidade pela baixa produção. As mesmas eram retiradas do costão por pescadores, e para que fosse possível realizar a colheita a maré tinha que estar mais baixa e o mar calmo, por ser perigoso, não era

possível ser feita colheita de forma contínua. As ostras comercializadas possuíam tamanho inferior a ostra do Pacífico, característica das ostras nativas, *C. rhizophorae* e *C. gasar*. Com a chegada da *Crassostrea gigas* a produção cresceu a partir de um novo modelo de produção e com obtenção de sementes produzidas em laboratórios (Andrade, 2016).

O LMM é principal responsável pela reprodução, larvicultura e pela distribuição de sementes para os produtores de Florianópolis, São José, Palhoça e Penha, onde elas são cultivadas até seu tamanho comercial para venda e consumo. A estrutura mais utilizada na engorda é a do tipo espinhel ou *long line*, com lanterna e travesseiros, onde são feitos manejos periódicos para limpeza e seleção de tamanhos (Andrade, 2016).

3.2. A ostra do Pacífico, *Crassostrea gigas*

Ostra é um molusco da classe dos bivalves, que possuem duas valvas. É um animal filtrador, que se alimenta das partículas presentes na água, tais como: matéria orgânica, inorgânicas, algas e plânctons, vive em estuário ou ambiente marinho onde se desenvolve e cresce, possui fase larval, de semente e com tamanho comercial (adulto). Após a fase larval tem a necessidade de fazer o assentamento em substrato (rochas, raízes de árvores, etc.), sendo o ambiente de costas mais calmas e poucas variações de maré mais propício para o seu desenvolvimento. É um produto valorizado por ser considerado um alimento rico nutricionalmente (Huner; Brown, 1985).

A espécie *Crassostrea gigas*, conhecida popularmente como ostra do Pacífico, é originária dos países do leste da Ásia como China, Japão e Coreia (Imai; Sakai, 1961). Nesses países, mostrou-se ter potencial de crescimento rápido e grande adaptação à variação de temperatura e salinidade da água, sendo seus parâmetros ideais em torno de 20°C de temperatura e salinidade variando de 18 a 35 (Poli, 2004). Com um bom desempenho zootécnico de produção, como: rápido crescimento de concha e tolerância a variações ambientais, em comparação às outras espécies de bivalves nativos, que esta espécie foi introduzida e produzida em outros países, tornando a *C. gigas* a espécie de ostra mais produzida no mundo (Poli, 2004).

Ela foi introduzida inicialmente para os países da Europa, América, África e Oceania, onde demonstrou uma gradativa adaptação, o que contribuiu com a ampliação do mercado mundial desta espécie. No ano de 1974 ela foi introduzida no Brasil pela primeira vez no estado do Rio de Janeiro pelo Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM), com animais oriundos do Reino Unido. Apenas em 1987 foram trazidas para Santa Catarina sementes de ostras vindas de Cabo Frio do Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira. Se iniciou a pesquisas voltadas a reprodução e produção nesta região, onde esta espécie teve grande adaptação à costa (Andrade, 2016).

3.3. Diferentes linhagens

Com o crescimento da produção e consumo de organismos aquáticos no mundo, surgiu a necessidade de aprimoramento genético destes grupos, visando uma produção mais eficiente e significativa, com características zootécnicas desejáveis, privilegiando animais mais adaptados ao ambiente de cultivo. Neste sentido estudos relacionados a técnicas de melhoramento genético foram iniciado na espécie *Crassostrea gigas*, por ser a espécie de molusco mais cultivada globalmente, com ênfase na ampliação do tamanho, produtividade e sobrevivência, bem como na redução da mortalidade e na resistência a patógenos (Li et al., 2011).

A investigação das linhagens com diferentes colorações de concha de *C. gigas* é motivada pela oferta de produtos diversificados ao público produtor e consumidor e pela adaptação de algumas linhagens a diferentes ambientes de cultivo, bem como a cor da concha pode servir como um marcador fenotípico para seleção de distintas linhagens (Wang et al., 2020).

A variação na coloração da concha está correlacionada com a pigmentação da borda do manto, sendo que conchas mais escuras estão associadas a bordas de manto mais escuras, enquanto que as conchas mais claras estão relacionadas a bordas de manto mais claras (Kang et al., 2013). Essa distinção pode impactar as preferências do consumidor. Na Coreia, a ostra com manto preto é comercializada a um preço 20% mais elevado (Kang et al., 2013), enquanto na Austrália, a concha dourada é mais valorizada, apresentando um maior valor agregado (Nell, 2001).

Esta diferença se dá por fatores genéticos, altamente herdáveis, sendo possível fazer a seleção genética, porém não existem estudos que indiquem o alelo específico para essas características (Ge et al., 2015; Xu et al., 2019).

A pesquisa para estudos em diferentes linhagens com cores diferentes de conchas de *C.gigas*, teve início no ano de 2019 no Laboratório de Moluscos Marinho, com reprodução seletiva de reprodutores com as cores de conchas: preta, branca, dourada e listrada. A primeira geração selecionou os reprodutores após três larvicultura para o aumento da variabilidade, e nas gerações seguintes foram realizadas seleções do plantel já estabelecido. Em 2024 está na geração cinco, com pesquisa em desempenhos zootécnicos em Santo Antônio de Lisboa, Florianópolis, para analisar o comportamento das diferentes linhagens em local onde é realizada a produção para o consumidor final.

3.4. Mercado consumidor

A produção de ostras no mundo está adotando novas tecnologias, resultando em um aumento significativo na quantidade produzida e uma maior demanda por parte dos consumidores. Segundo o relatório *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*, da FAO, o consumo global per capita de pescado alcançou 20,2 kg em 2020, praticamente o dobro do registrado em 1961, o que evidencia um crescimento constante na demanda por produtos aquáticos. Desse total, aproximadamente 12% correspondem ao consumo de moluscos (com exceção dos cefalópodes), cujo consumo per capita aumentou de 0,6 kg em 1961 para 2,5 kg em 2019, impulsionado sobretudo pela expansão da aquicultura e pela maior aceitação de espécies como ostras, mexilhões e vieiras. (FAO, 2022).

O mercado consumidor primordial da ostra no Brasil se concentra em áreas costeiras urbanas, onde ocorre sua produção, impulsionando assim o turismo gastronômico local. Um outro aspecto influente neste cenário é a preferência predominante pelo consumo *in natura* deste alimento, o que demanda que o animal esteja fresco (Suplicy, 2022)

Em Santa Catarina, há um público robusto e uma significativa valorização do produto. O estado é reconhecido como o principal produtor de ostras no Brasil, com Florianópolis sendo sua principal cidade de produção. Esta

localidade oferece rotas gastronômicas com uma ampla variedade de restaurantes e um evento dedicado à promoção do produto, denominado FENAOSTRA. Este evento reúne diversos restaurantes da região metropolitana de Florianópolis, apresentando a ostra como prato principal, preparada de diversas maneiras. Tais iniciativas promovem uma maior visibilidade do produto, tornando-o reconhecido por um público mais abrangente.

A produção de ostras em Santa Catarina desempenha um papel significativo na economia estadual, envolvendo 84 maricultores, além de diversos restaurantes e peixarias neste mercado. No ano de 2023, foram produzidas 1.731 toneladas de ostras (EPAGRI, 2024). Esses números impactam positivamente no comércio do produto, gerando novas oportunidades de emprego e incentivando um aumento na produção.

3.5. Sistema de Recirculação de água (RAS)

O Sistema de Recirculação de Água (RAS, do inglês Recirculating Aquaculture System) constitui uma tecnologia inovadora que alia eficiência produtiva e sustentabilidade ambiental na aquicultura. Esse sistema permite a reutilização contínua da água, reduzindo significativamente o consumo hídrico e possibilitando o cultivo intensivo de diversas espécies em diferentes fases de desenvolvimento (Ebeling; Timmons, 2012).

Neste contexto, a crescente demanda por produtos aquícolas, associada à escassez de recursos hídricos em várias regiões, tem impulsionado a adoção de sistemas fechados de produção. O RAS destaca-se nesse cenário por oferecer um ambiente controlado que favorece o crescimento saudável dos organismos aquáticos, independentemente das condições externas (Murray; Bostock; Fletcher, 2014).

O funcionamento do RAS baseia-se na recirculação da água por meio de processos de filtragem mecânica e biológica, remoção de sólidos, controle de parâmetros físico-químicos e oxigenação constante. A filtragem mecânica elimina partículas sólidas, enquanto a filtragem biológica utiliza biofiltros com bactérias nitrificantes para converter compostos nitrogenados tóxicos, como a amônia, em nitrato menos prejudicial. A manutenção de níveis adequados de

oxigênio dissolvido é essencial para o metabolismo dos peixes e o desempenho eficiente do sistema (Badiola; Mendiola; Bostock, 2012).

As vantagens do RAS incluem a economia de água, a possibilidade de alta densidade de cultivo em espaços reduzidos, o controle rigoroso das condições ambientais, a melhoria da biossegurança e a redução do impacto ambiental. Esses benefícios tornam o sistema especialmente atrativo para regiões com limitações hídricas e para a produção de espécies de alto valor comercial (Badiola; Mendiola; Bostock, 2012).

No entanto, a implementação do RAS apresenta desafios significativos, como o elevado investimento inicial em infraestrutura e equipamentos, a necessidade de mão de obra especializada para operação e monitoramento do sistema, o consumo energético considerável e a gestão adequada dos resíduos gerados. A superação desses obstáculos requer planejamento cuidadoso e capacitação técnica adequada (Martins et al., 2010).

A aplicabilidade do RAS em diferentes fases da produção aquícola para moluscos bivalves foi demonstrada no estudo de Ramos et al. (2018), que investigou os efeitos da taxa de recirculação da água e da densidade larval no cultivo da ostra *Crassostrea gigas* em sistema de recirculação no LMM/UFSC. Nesse estudo observou-se que o RAS proporcionou condições estáveis nos parâmetros de qualidade da água, fundamentais para o desenvolvimento larval, e que taxas de recirculação mais baixas associadas a densidades intermediárias resultaram em melhores taxas de crescimento e sobrevivência. Com este estudo, reforçou a viabilidade do uso do RAS na larvicultura de *C. gigas*, ampliando as possibilidades de intensificação produtiva com eficiência hídrica e sustentabilidade ambiental. O trabalho evidencia, portanto, que o RAS é uma alternativa tecnológica eficaz para otimizar a produção nos estágios iniciais do ciclo de vida dos organismos aquáticos (RAMOS et al., 2018).

Em síntese, o Sistema de Recirculação de Água representa uma alternativa promissora para a aquicultura moderna, conciliando produtividade, sustentabilidade e responsabilidade ambiental. Sua adoção crescente reflete a busca por métodos de produção mais eficientes e menos impactantes, alinhados às exigências contemporâneas de conservação dos recursos naturais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Localização

Todas as etapas experimentais foram desenvolvidas no Laboratório de Moluscos Matinhos da Universidade Federal de Santa Catarina na Estação de Maricultura Professor Elpídio Beltrame, no bairro Barra da Lagoa, Florianópolis/SC.

4.2. Protocolo de larvicultura Sistema de Recirculação de Água (RAS) atualmente utilizado no LMM

Protocolo apresentado a seguir foi produzido preliminarmente pela equipe do LMM para o uso na larvicultura de *Crassostrea gigas* no setor de melhoramento genético para safra de 2024-2025, com a utilização do sistema RAS. Esse protocolo foi utilizado como base para o presente estudo.

Protocolo de larvicultura de Crassostrea gigas no setor de melhoramento genético (safra 2024-2025)

OBJETIVO GERAL

Produzir 60 famílias de C. gigas das linhagens de distintas cores de concha e do controle no sistema de recirculação do melhoramento genético.

Materiais e Métodos

Desova

Materiais

- *luvas, lâminas, facas, bandejas, baldes 20 l (para diluição e contagem dos oócitos e/ou fecundação, homogeneizadores grandes, baldes 3 l, Becker 1 L e 2 l, Becker 100 ml, homogeneizadores pequenos, peneiras 70 μ m, peneiras 18 μ m e bacias mesa vazadas, câmara de contagem Sedgewick-Rafter e lamínulas.*
- *Montar kits de peneiras de 18 μ m, 70 μ m e bacias fundo*

Procedimentos

- *60 famílias de uma vez ou 3 larviculturas de 20 famílias?*
 - o *60 de uma vez*
- *60 famílias/desovas de uma vez ou 20 desovas/famílias em 3 dias consecutivos?*
- *Desovas com reprodutores chegados diretamente do mar ou estocados na sala fria?*

- o reprodutores ficaram na sala fria
- Peneirar oócitos antes da fertilização ou depois da fertilização?
- o os dois
- Após stripping oócitos devem ser fertilizados e incubados rapidamente.
- o ficou hidratando um tempo

Incubação (montar pelo menos dois dias antes da desova)

Materiais

- baldes de 20 L, na sala de melhoramento genético preparado no dia da desova: Encher com 18 L de água salgada.
- Aeração: pipetas de vidro de 1 ml, torneirinhas, mangueiras.

Procedimentos

- Caso necessite mais de 24 horas de incubação dos oócitos para formação das larvas "D" é necessário fazer troca/renovação de água da incubação. Isto acarreta em peneiramento dos embriões (com kit peneiras 18, 18, 35, 70 μm ou 18, 18, 70 μm)

Povoamento

Materiais: baldes 20 L, homogeneizadores grandes, becker 2 l, pipeta 200 μl , ponteiras 200 μl , Sedgewick-Rafter e lâminas; peneiras 145 μm , 50 μm , 35 μm e bacias fundo vazadas.

Manejo diário

- Alimentação descrita na tabela 2.
- Medir temperatura e salinidade.
- Estudar parâmetros para medir ozônio: condutividade, potencial redox, etc., e conseguir equipamento (provavelmente pHmetro).
- Aerar água tratada com ozônio e medir ORP para verificar se está sem ozônio antes de adicioná-la no sistema.
- Baixar salinidade com água doce ozonizada (fazer cálculo água doce).
- Ligar ozônio e medir condutividade da água doce tratada).
- Lavar ou trocar penas em caso de entupimento.
- Peneiramento (frequência sugerida): telas (tabela 1)
- Alimentação diária: (tabela 2).

Peneiramento

- Baldes de 5 L para baixar larvas das garrafas
- becker ou balde 2 L para devolver as larvas para as garrafas.
- Lavar garrafas e penas com água salgada
- Peneiras: tamanhos descritos na tabela 1. Montar o máximo de conjuntos possíveis.

Assentamento/epinefrina

- Materiais e local...
- recipientes de pelo menos 1 litro (becker ou balde de plástico rígido), identificados com nº da garrafa e família, para tratamento com epinefrina.

- *200 copos descartáveis de 100 ml para homogeneização.*

Tabela 1 - Tamanho das malhas (μm) para peneiramento

Dia	Penas	Peneiras para selecionar
0		Desova
1	35	(35; 50) Povoamento
2	35	
3	35	35; 50 e 145 (tentar descartar 35 ou parte dela)
3	35	
4	35	
5	35-50	35; 50; 70; e 210 (tentar descartar 50 ou parte dela)
6	35-50	
7	35-50	
8	50-70	50; 70; 100; 145 e 250 (tentar descartar 70 ou parte dela)
9	50-70	
10	50-70	peneiramento
11	100-145	70; 100; 145; 210 e 250 (tentar descartar 100 e/ou 145)
12	100-145	
11	10-145	100; 145; 210; 230; 240 e 500 (1º assentamento)
14	145	Avaliar se tiramos larvas ou mantemos dia sim dia não
15	145	100; 210; 230; 240 e 500 (2º assentamento)
16	145	Avaliar se tiramos larvas ou mantemos dia sim dia não
17	145	100; 210; 235; 240 e 500 (3º assentamento)

Tabela 2 - Alimentação experimento larvicultura, baseada nas duas últimas larviculturas e Ramos et al., 2022 e Dybas, 2014.

Dia	Iso ou Pav: Cm	Algas mL ⁻¹ .10 ⁴	Vazão nas garrafas
1	100%	0,5	*100 ml/min (pena 35-50)
2	100%	0,75 – 1**	
3	100%	1 – 1,5**	
4	70% - 30%	1,5 – 2**	
5	70% - 30%	2 – 2,5**	
6	70% - 50%	2 – 2,5**	
7	70% - 50%	2,5 – 3**	
8	50 % - 50%	3	***100-150 ml/min. (pena 70)
9	30% - 70%	3	
10	30% - 70%	3,5	
11	30% - 70%	3,5	***100-200 ml/min. (pena 100)
12	30% - 70%	3,5	
13	30% - 70%	3	
14	30% - 70%	3	
15	30% - 70%	2,5	
16	30% - 70%	2,5	
17	30% - 70%	2	
18	30% - 70%		
19	30% - 70%		
20	30% - 70%		
21	30% - 70%		

OBS:

***Quanto maior a vazão, mais alimento e mais entupimento das penas. Talvez seja melhor manter em 100 mL/min. até o final.
Ramos = 83 ml/min.
Dybas = 91 ml/min.

*últimas larviculturas (200 a 300 mL/min., mas, muito entupimento das penas.

**A partir do segundo dia, ficar atento ao consumo de alimento e a filtração do alimento pelo skimmer (para aumentar a alimentação convém ter certeza de que as larvas estão consumindo e não é o skimmer que está retirando as algas do sistema)

Metodologia de amostragem para contagem de larvas:

Amostragem para avaliar sobrevivência prevista para o 9º dia:

- Sugestão de passo a passo: baixar as larvas das garrafas nos baldes de 5 l, transferir para os baldes de 20 l, amostrar e contar, peneirar as larvas e devolver para as garrafas.

OBS: Caso o peneiramento seja feito primeiro as larvas precisarão ser novamente passadas numa peneira para concentrá-las e devolvê-las para as garrafas. Neste caso seria um pouco mais de estresse para as larvas. Por isso, devemos conversar antes de definir a metodologia.

- Sobrevivência: Concentrar as larvas em 16 l ou menos e amostrar 0,5 ml em triplicata em câmaras de Sedgewick-Rafter para contagem.

- Materiais: Baldes de 16 l, homogeneizadores grandes, pipeta 1 ml, ponteiras 1 ml câmaras de Sedgewick-Rafter e lâminas.

4.3. Atualização do Protocolo

Para a validação e atualização do protocolo foram feitas cinco larviculturas entre dezembro de 2024 e abril de 2025 para fins de testes e investigações das condições de cultivo no sistema de recirculação.

4.3.1. Reprodutores e desova

O experimento consistiu na indução de desova e larvicultura de famílias da ostra *Crassostrea gigas*, obtidas por meio do cruzamento entre um macho e uma fêmea de cada linhagem fenotípica associada à coloração da concha.

O LMM possui um plantel de reprodutores provenientes de diferentes linhagens de cor de concha — branca, dourada, preta e listrada — desenvolvido por meio de seleção em massa ao longo de cinco gerações. Para o experimento, foram selecionados reprodutores de cada linhagem, além de exemplares do plantel sem histórico de seleção genética, utilizados como grupo controle.

A sexagem dos indivíduos foi realizada por meio da coleta de uma amostra do tecido gonadal, com posterior análise microscópica para determinação do sexo. Em seguida, os reprodutores foram acasalados usando cruzamento simples dentro de suas respectivas linhagens, sendo cada par designado como uma família. A desova foi realizada utilizando o método de *stripping*, com a extração manual dos gametas. Os gametas masculinos e femininos foram acondicionados separadamente em recipientes identificados com o número correspondente à família e ao sexo do gameta.

O processo teve início com a coleta dos gametas femininos, os quais foram mantidos em água salgada por aproximadamente uma hora para promover sua hidratação. Em seguida, foi realizado o peneiramento com malha de 18 μm para remoção de material orgânico residual oriundo do processo de *stripping*. A fertilização foi então conduzida com a adição dos gametas masculinos. Após 30 minutos, amostras foram observadas ao microscópio para verificar a taxa de fertilização, sendo adicionada uma quantidade suplementar de espermatozoides, caso necessário.

Uma hora após a fertilização, o material foi homogeneizado e foram coletadas três amostras de 0,5 mL, posteriormente analisadas para quantificar o número médio de gametas fertilizados normais, utilizando a câmara de contagem de Sedgewick-Rafter, possibilitando o povoamento dos baldes de capacidade de 20 litros na

densidade inicial de 100 larvas/mL. As larvas permaneceram nesses recipientes sob leve aeração por 24 horas, até atingirem o estágio de larva “D”. Após o período de 24 horas, foram coletadas três amostras de 5 mL para estimar a densidade de larvas “D”, e os dados obtidos foram utilizados para ajustar o povoamento das unidades de cultivo, estabelecendo uma densidade de 300 larvas/mL. Para o resultado da densidade foi feito o cálculo usando a contagem das amostras de larva de no balde de 20 litros e fazendo uma proporção para povoar a garrafa de 2,4 litros com a densidade de 120 larvas/mL.



Figura 1- Reprodutores da linhagem de coloração preta.



Figura 2 - Formação de famílias dos reprodutores selecionados.



Figura 3- Famílias selecionadas e recipientes para desova.



Figura 4 - Recipiente para a fertilização dos gametas e homogeneizadores.



Figura 5 – Incubadora de oócitos fecundados.

4.3.2. Sistema de Recirculação de Água RAS

O sistema de recirculação utilizado é composto por dois tanques com capacidade de 500 litros cada. O primeiro tanque funciona como reservatório principal, sendo responsável pelo fornecimento de água às garrafas de cultivo. O segundo tanque recebe a água proveniente do sistema após seu uso, passando por dois protein skimmer (4.000 L/h – Mod. Preamar 300R) com motobomba (Pentair - $\frac{1}{4}$ cv) acoplada a um venturi, filtro de disco de 1.½” (120 mesh, 50 m - Mod. Agrojet, vazão 5 m³/h) e sistema de esterilização por ultravioleta (Preamar 95W)., os quais realizam a remoção de matéria orgânica particulada e promovem a purificação da água. Além desses, há um reservatório auxiliar com capacidade de 100 litros contendo água doce, utilizado para a correção da salinidade do sistema, esta água é previamente tratada com ozônio e tem a necessidade de ficar 24 horas no reservatório para que possa baixar o nível do ozônio e assim poder entrar no sistema, uma vez que ocorrem perdas por evaporação e a água utilizada na alimentação apresenta salinidade superior à desejada. Possui tanque de 100 litros para alimentação de 20 garrafas com um sistema de peristáltico para levar a alimentação às garrafas.

As famílias foram alocadas em garrafas cilíndricas distribuídas em três blocos independentes. Cada bloco é composto por 20 garrafas, dispostas em duas fileiras de 10 unidades, totalizando 60 garrafas no sistema, cada uma com uma filtro “tipo pena”

com uma malha, trocada conforme o tamanho da larva. Cada bloco conta com um tanque de alimentação de 100 litros, além de possuir um sistema de controle para a vazão da água em cada garrafa, bem como aeração independente por unidade, assegurando condições adequadas de oxigenação e circulação para o cultivo larval.



Figura 6 – Sistema de Recirculação de Água localizado no setor de melhoramento genético do LMM.



Figura 7 - Garrafas e penas do Sistema de Recirculação de Água.

4.3.3. Manejo

O manejo diário consistiu na medição da temperatura da água, realizada com o auxílio de dois termômetros posicionados no tanque de reservatório, sendo registrada a média das leituras obtidas. A salinidade foi monitorada utilizando um refratômetro, com medições realizadas no início da manhã e no período da tarde. Sempre que os valores de salinidade ultrapassavam 28, procedia-se à adição de água doce para redução da mesma para 27.

O processo de peneiramento das larvas teve início no segundo dia após o povoamento, com o objetivo de reduzir a densidade larval. A partir desse momento, o peneiramento foi realizado a cada dois dias para acompanhamento do crescimento das larvas e seleção das maiores. Para esse procedimento, a água de cada garrafa era transferida para um balde com capacidade de 3,5 litros, e as larvas eram peneiradas utilizando-se malhas de diferentes tamanhos, conforme especificado em protocolo (Tabela 1). Após o peneiramento, as larvas foram acondicionadas nas mesmas garrafas de origem.

A rotina de alimentação envolvia a remoção dos resíduos de alimento não consumido e sua reposição diária. Foi utilizada uma alimentação bialgal, com uma combinação de espécies flageladas (*Isochrysis galbana* e *Pavlova lutheri*) e diatomáceas (*Chaetoceros muelleri* e *Chaetoceros calcitrans*). O tanque de alimentação era lavado previamente com água doce, e a nova densidade alimentar era preparada com base na concentração determinada em tabela específica do protocolo (Tabela 2), sendo o volume complementado com água salgada.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Experimento de larvicultura em cruzamento simples

No primeiro experimento, realizado no dia 05 de dezembro de 2024, foram produzidas 60 famílias de *C. gigas*, utilizando-se 120 animais adultos das quatro diferentes de cor de concha condicionados, em termos de temperatura (18°C) e alimentação (15x 10 de *C. muellen*), da mesma maneira. Foi feita a indução da desova pela técnica de *stripping*, onde cada animal (machos e fêmeas estava em recipiente separado. Foram estimados o número de oócitos para cada fêmea e retirados volumes

necessários para a fertilização e povoamento das unidades de cultivo com 150 larvas/mL. Porém pelas diferentes idades dos animais, assim como, a diferença de experiência dos manejadores na retirada dos gametas, a quantidade de oócitos resultantes estimados teve uma grande variação entre garrafas, com a variação na quantidade de oócitos obtida entre 96.395.000 e de 84.000. Após 18 dias, a larvicultura foi interrompida após a mortalidade de 100% das famílias. A temperatura média da água foi de $24,72 \pm 0,98$ °C e a salinidade foi de 34 no primeiro dia, e variou entre 25 e 32 durante o experimento.

Devido ao grande número de famílias nas estruturas de cultivo, os trabalhos nos dias de peneiramento para avaliação e monitoramento de crescimento das larvas se prolongavam, o que proporcionavam a maior probabilidade de erros de manejo e contaminação da larvicultura. Sendo necessário uma grande quantidade de mão de obra durante todo o período. Neste contexto, para os experimentos seguintes, a quantidade de famílias utilizadas foi reduzida para 20. O segundo e terceiro testes foram feitos nos dias 29 de janeiro de 2025 e 10 de abril de 2025, respectivamente.

Para o segundo experimento, foram utilizados 39 animais para a formação de 20 famílias, havendo a repetição de macho para os cruzamentos. No 11º dia de larvicultura ocorreu um evento de mortalidade de 85% das famílias, com hipótese de contaminação por protozoários provenientes da alimentação de microalga oferecida ou efeito residual do ozônio para a desinfecção da água doce utilizada no sistema. Ao todo foram 17 dias de larvicultura, no 15º dia, devido à alta taxa de mortalidade, as primeiras larvas que ficaram retidas em peneiras com a malha de 230 µm foram retiradas para o assentamento induzido com epinefrina. A temperatura média da água foi de $24,52 \pm 0,44$ °C e a salinidade variou entre 26 e 30.

No terceiro experimento foram utilizados 29 animais para a formação das 20 famílias, havendo repetições de animais para fazer novos cruzamentos. Após nove dias da desova, a larvicultura foi novamente interrompida pelas altas taxas de mortalidade, sendo observados em microscópio para análise qualitativa, um número baixo de larvas vivas, acompanhadas de muitas com as valvas totalmente vazias ou larvas recém mortas e muita presença de protozoários oportunistas. A média de temperatura da água nesta etapa foi de $24,69 \pm 0,54$ °C e a salinidade variou entre 27 e 30.

Baixas taxas de sobrevivências podem ser esperadas ao conduzir larvicultura de *C. gigas* em RAS. (Costa, 2017) reportou taxas de sobrevivência de 3,36%, 6% e 24% em três larviculturas, de *C. gigas*, respectivamente, enquanto que Dybas (2014), reportou taxa de sobrevivência média de 25%, ambos os trabalhos sugerem que a mortalidade de toda larvicultura indica problemas na compreensão do sistema ou no manejo. O presente estudo, surgiu o mesmo padrão de mortalidades adotados em RAS. Entre as razões possíveis para esse resultado, pode-se citar, as condições e viabilidade dos gametas dos reprodutores, possíveis contaminações por protozoários, bactérias e fungos pela formação de um biofilme provenientes do acúmulo de material orgânico nas paredes das garrafas ou originário das dietas de microalgas oferecidas, e o mal funcionamento ou compreensão do sistema, que podem resultar em vazamentos pelo entupimento das penas.

5.2. Experimento de aeração e experimento de higienização com limão

Partindo do pressuposto que as altas mortalidades de larvas de *C. gigas* em RAS poderiam estar relacionadas a contaminação por protozoário, se iniciou novos experimentos para tentar solucionar estes problemas. Neste contexto, foram realizadas desovas utilizando reprodutores adultos de *C. gigas* sem seleção genética do banco de reprodutores do LMM para os experimento foram realizados sem seleção genética, pois foram testes para identificar os possíveis problemas de manejo e/ou do sistema, foram realizadas desovas utilizando reprodutores sem seleção genética do banco de reprodutores do LMM. Para todos os experimentos, após a desova foi retirada três amostras para a contagem de gametas fertilizados e povoadas em 20 garrafas com 75 larvas/mL.

O primeiro experimento foi realizado com a lavagem das garrafas com uma solução de limão como recomendado por Silva e Pereira (2002) o que é adotado pelo LMM na limpeza de tanques utilizando uma solução de limão triturado e peneirado, usando apenas o suco diluído, dando ótimos resultados na limpeza e pela não toxicidade, não deixando resíduo no tanque após enxaguar; e garrafas sem ser lavadas, com dez garrafas para cada tratamento, com a separação dos tratamentos totalmente ao acaso. Nas três primeiras desovas não foi realizada a lavagem das garrafas e tivemos problemas com a alta taxa de mortalidade e com aparecimento de

protozoários, podendo ser oriundos da alimentação ou surgindo no biofilme que se forma na garrafa quando ela não é lavada. O LMM possui um protocolo de limpeza de tanques utilizando uma solução de limão triturado e peneirado, usando apenas o suco diluído, dando ótimos resultados na limpeza e pela não toxicidade, não deixando resíduo no tanque após enxaguar.

Após drenar a água das garrafas para o manejo de peneiramento as garrafas passavam pelo manejo de lavagem com água doce, passar a solução de limão com uma esponja, enxaguar com água doce e passar água salgada, para repovoar novamente. Este manejo aconteceu todas as vezes que foi realizado o manejo de peneiramento das larvas nas garrafas selecionadas para lavagem.

Quando as larvas ficaram retidas na malha de 235 μl , tamanho para o assentamento, foi feito um *pool* das larvas das garrafas com lavagem de limão, e um *pool* com as larvas das garrafas sem limpeza, feito três amostra cada e contagem de larvas vivas na malha de 235 e 240 μl . Foi constatado uma maior sobrevivência nas que passaram pela limpeza com limão, mas ainda possuía uma mortalidade e presença de protozoários.

Observou-se uma maior taxa de sobrevivência no grupo de larvas proveniente das garrafas que passaram pelo processo de limpeza, com a retenção de aproximadamente 14.000 larvas nas peneiras de malha 235 e 240 μl . Esse número é significativamente superior ao observado nas garrafas que não foram submetidas à limpeza durante os manejos, nas quais foram retidas apenas cerca de 4.000 larvas nas mesmas peneiras. Esses resultados indicam que a higienização das garrafas com solução de limão contribui positivamente para a sobrevivência e o crescimento das larvas, ao reduzir a presença de protozoários e proporcionar um ambiente mais adequado para seu desenvolvimento.

Mas a mortalidade ainda estava acontecendo e a quantidade de protozoário era significativa e continuo as investigações de onde podia surgir tantos protozoários, percebemos que a válvula que possui na parte inferior da garrafa, onde sai a aeração para a garrafa, esta válvula acumula larvas mortas, gerando um ambiente propício para a multiplicação de protozoários, onde surgiu o segundo experimento. Onde foi realizada a entrada de aeração por baixo da garrafa com a válvula, e a entrada da aeração com uma pipeta por cima. Ficando sem ponto de acúmulo de área morta, fazendo um ambiente mais limpo. Neste experimento se totalizou 30 garrafas

povoadas com 75 larvas/ml, utilizando dois tipos de entrada de aeração, resultando numa mortalidade total no 11º dia, nas garrafas onde a aeração passava pela valva, mas possuindo um resultado positivo de sobrevivência expressiva das garrafas que possuam a aeração vinda da pipeta.



Figura 8 – Uso da aeração inserida pela parte superior. A esquerda vista superior e à direita vista frontal do RAS.



Figura 9 - Uso da aeração inserida na parte inferior. A esquerda vista superior e à direita detalhe do filtro utilizado do sistema de aeração.

6. CONCLUSÃO

Com os resultados insatisfatórios obtidos nas larviculturas houve necessidade de reavaliar todo o protocolo de manejo, desde a fase de larvicultura até o assentamento. Aspectos como a alimentação e a presença de protozoários passaram a ser cuidadosamente observados. Foram realizados experimentos com o objetivo de otimizar a qualidade da água e do ambiente, proporcionando melhores condições para o desenvolvimento das larvas.

As mudanças começaram pelo manejo de desova, que passou a requerer uma equipe de três pessoas para a desova de 20 famílias, sendo necessário o envolvimento de três equipes para atender às 60 famílias no total. A qualidade dos gametas e o tempo de espera após a desova mostraram-se fatores cruciais para o sucesso na fertilização.

O procedimento de limpeza com solução de limão foi incorporado a todas os manejos de peneiramento, uma vez que demonstrou melhorar significativamente a sobrevivência e o desenvolvimento das larvas. Isso se deve à redução na formação de biofilmes na superfície das garrafas, os quais favorecem a proliferação de protozoários.

Além disso, a utilização de válvula para aeração na parte inferior das garrafas revelou-se problemática, pois contribuiu para o acúmulo de larvas mortas e para o crescimento de protozoários, comprometendo a qualidade da água. Como alternativa, passou-se a adotar a aeração por meio de pipetas posicionadas na superfície das garrafas.

Futuramente, serão necessários novos testes com melhorias nos protocolos de manejo, na qualidade dos reprodutores e na alimentação, com o objetivo de garantir o sucesso dos programas de melhoramento genético conduzidos em paralelo com diferentes linhagens de *Crassostrea gigas*.

7. REFERÊNCIA

- ANDRADE, G. J. P. O. Maricultura em Santa Catarina: a cadeia produtiva gerada pelo esforço coordenado de pesquisa, extensão e desenvolvimento tecnológico. **Extensio: Revista Eletrônica de Extensão**, v. 13, n. 24, p. 204, 23 dez. 2016.
- BADIOLA, M.; MENDIOLA, D.; BOSTOCK, J. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. **Aquacultural Engineering**, v. 51, p. 26–35, nov. 2012.
- COSTA, R. C Sobrevivência e crescimento de larvas de ostras *Crassostrea gigas*. 18 jan. 2017.
- DYBAS, P. R. Sistema de recirculação de água para larvicultura de ostras *Crassostrea gigas*. 2014. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/132431>. Acesso em: 22 maio 2025.
- EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B. Recirculating Aquaculture Systems. **Aquaculture Production Systems**, p. 245–277, 23 mar. 212.
- EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. **Síntese anual da agricultura de Santa Catarina: ano agrícola 2022/2023, safra 2023/2024**. Florianópolis: Epagri/Cepa, 2024.
- FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards Blue Transformation*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022.
- GE, J. *et al.* Mendelian inheritance of golden shell color in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Aquaculture**, v. 441, p. 21–24, 20 abr. 2015.
- HUNER, J. V.; BROWN, E. Evans. **Crustacean and mollusk aquaculture in the United States**. 1. ed. New York: Springer, 1985.
- IMAI, T.; SEIICHI, S. Study of breeding of Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. **Tohoku Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 2, p. 125–171, 1961.

LI, Q. *et al.* Selection response and realized heritability for growth in three stocks of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Fisheries Science**, v. 77, n. 4, p. 643–648, 25 jul. 2011.

MARTINS, C. I. M. *et al.* New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. **Aquacultural Engineering**, v. 43, n. 3, p. 83–93, 1 nov. 2010.

MIOSSEC, L.; GOULLETQUER, P. Alien species alert: *Crassostrea gigas* (Pacific oyster). **ICES Cooperative Research**, 1 jan. 2009. Nº 229. 42 pp

MURRAY, F.; BOSTOCK, J.; FLETCHER, D. **Review of recirculation aquaculture system technologies and their commercial application**. Stirling: [S.n.].

NELL, J. A. The History of Oyster Farming in Australia. **Marine Fisheries Review**, v. 63, n. 3, p. 14–25, 2001.

POLI, C. R. Cultivo de ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*, 1852). *In*: POLI, C. R. *et al.* (Orgs.). **Aquicultura: experiências brasileiras**. Florianópolis: Multitarefa, 2004. p. 251–266.

RAMOS, C. O. *et al.* Effect of larval density on growth and survival of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in a recirculation aquaculture system. **Aquaculture**, v. 540, p. 736667, 15 jul. 2021.

SHATKIN, G.; SHUMWAY, S. E.; HAWES, R. Considerations regarding the possible introduction of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to the Gulf of Maine: a review of global experience. **Journal of Shellfish Research**, v. 16, n. 2, p. 463–477, 1997.

SILVA, F. C.; PEREIRA, A. Utilização do limão “Tahiti” (*Citrus latifolia Tanaka*) na assepsia de tanques de larvicultura de *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795). 2002. Apresentação de painel (Banner) – Simpósio Brasileiro de Aquicultura (SIMBRAQ), Florianópolis, 2002. Disponível em: <https://moluscosmarinhos.paginas.ufsc.br/files/2014/09/painel-simbraq-2002-p377-assepsia-com-lim%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 22 maio 2025.

SUPLICY, Felipe Matarazzo (ORG.). **Manual do cultivo de ostras**. 1. ed. Florianópolis: Epagri, 2022.

SMAAL, A. C. *et al.* **Goods and Services of Marine Bivalves**. Cham: Springer International Publishing, 2019.

XU, C. *et al.* Inheritance of shell pigmentation in Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Aquaculture**, v. 512, p. 734249, 15 out. 2019.

WANG, X. *et al.* Response to selection for growth in the second generation of two shell color lines of the bay scallop *Argopecten irradians*. **Aquaculture**, v. 528, p. 735536, 15 nov. 2020.

YU, X.; ZHANG, Y.; LI, J. *et al.* Evaluation of the Pacific oyster marine aquaculture suitability in Shandong, China based on GIS and remote sensing. **Frontiers in Marine Science**, v. 11, 2024.

ZHANG, G.; YU, Y.; LIU, X. *et al.* Genetic diversity and selection signatures of shell color strains in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) revealed by genome-wide SNP analysis. **Aquaculture Reports**, v. 12, p. 100-130, 2017

ZHONG, X. *et al.* Genetic variation and breeding signature in mass selection lines of the pacific oyster (*Crassostrea gigas*) assessed by SNP markers. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, 1 mar. 2016.

8. APÊNDICE

Protocolo de larvicultura de *Crassostrea gigas* de famílias par a par no setor de melhoramento genéticos

Objetivo geral: Produzir 60 famílias par a par de *C. gigas* das diferentes linhagens de cor de concha - branca, dourada, listrada e preta - e do controle no sistema de recirculação do melhoramento genético em pequenas quantidades.

Desova:

1. Garantir que os reprodutores estejam na sala fria ou na maturação pelo menos uma semana antes da desova.
2. Um dia antes separar e limpar todo os materiais utilizado na desova (Tabela 3) e deixar os kits de cada família separados (1 bandeja, 1 recipiente de 1l, 1 recipiente de 500 ml, 1 balde de 3,5 l e um homogeneizador pequeno).
3. Separar duas equipes de quatro pessoas cada e uma pessoa para ficar coordenando. Cada equipe fica responsável por 30 famílias.
4. No dia o manejo se inicia separando os reprodutores, abrindo os animais, analisando o sexo pela amostra da gônada, separar os casais de cada família na bandeja com local correto para fêmea e o macho e anotar na tabela de famílias o número do lote a cor da linhagem.
5. Colocar água nos recipientes que irão os gametas, junto bandeja com reprodutores e uma lâmina, para iniciar o *stripping* (importante o gameta de cada sexo está no recipiente identificado). Cuidar com a utilização da lâmina em mais de um animal, é necessário lavar a cada troca de animal com água doce, álcool e água salgada.
6. Fazer o *stripping* da fêmea primeiro, deixar hidratando entre 30 min a 1 hora. Após a hidratação dos gametas fazer o peneiramento com a malha de 18 μ l para retirada de material orgânico indesejado. No peneiramento os gametas são colocados no balde de 3,5 l.
7. *Stripping* do macho se inicia quando se está no fim da hidratação dos gametas femininos.
8. Fertilização é feita com pequenas doses do gameta masculino no balde de 3,5 l onde estão os gametas femininos. Após acrescentar os gametas masculino é necessário ser feita uma homogeneização.

9. Quando finalizar a fertilização, esperar entre 20 a 30 min e analisar no microscópio se está ocorrendo a fertilização, se é necessário acrescentar uma maior quantidade de gametas. Se estiver com uma alta taxa de fertilização, já pode iniciar a amostragem.
10. Para o começo da amostragem, homogeneizar as amostras e retirar, através do pipetador e ponteira, uma alíquota de 200 μ l, colocar a amostra na Sedgewick-Rafter, cobrir com uma lâmina de vidro e fazer a contagem no microscópio de gametas fertilizados. Fazer três amostras para cada família e fazer a média das contagens.

Tabela 3 - Materiais, quantidade e seu uso para o manejo de desova.

Material	Quantidade	Utilização
Luvas	1 caixa	Proteção por estar com materiais cortantes e por contaminação
Lâminas Bappear	10 uni	Realizar o stipping
Facas	3 uni	Abrir a ostra
Bandeja pequena	60 uni	Deixar o par de ostra
Recipiente de 500 ml	60 uni	Gametas femininos
Recipiente de 1 L	60 uni	Gametas masculinos
Baldes 3,5 L	60 uni	Realização da diluição e fertilização dos oócitos
Homogenizador pequeno	60 uni	Homogeneizar a amostra
Peneira 18 μ m	20 uni	Peneiramento de gametas
Bacia mesa vazada	10 uni	Peneiramento de gametas
Microscópio	2 uni	Análise e contagem de gametas
Sedgewick-Rafter	15 uni	Análise e contagem de gametas
Lâminas de vidro	15 uni	Análise e contagem de gametas
Pipetador 200 μ l	2 uni	Retirar amostra de gametas
Ponteira pipetador 200 μ l	60 uni	Retirar amostra de gametas
Contador manual	3 uni	Contagem de gametas
Tabela famílias	1 uni	Controle de dados
Caderno	1 uni	Anotação de informações
Caneta	2 uni	Anotação de informações

Incubação:

1. No dia anterior, separar todo o material e limpar (tabela 4)
2. Deixar o sistema montado nos paletes no dia anterior, com os baldes posicionados e as mangueiras com pipeta montadas já com aeração.
3. Antes de iniciar o manejo de desova encher os baldes e regular a aeração. A aeração tem que ser fraca, apenas saindo umas bolhas pequenas e espaçadas.
4. Após a contagem dos gametas, calcular a quantidade de gametas fertilizados que irão para o balde, sabendo que a densidade é de 100 larvas/ml.
5. Povoar a quantidade exata e deixar por 24 horas na incubação no balde com baixa aeração.

Tabela 4 - Materiais, quantidade e seu uso para o manejo de incubação.

Matérias	Quantidade	Utilização
Balde 20 L	60 uni	Incubação dos gametas
Pipeta vidro 1 ml	60 uni	Aeração
Torneirinhas	60 uni	Aeração
Mangueira	60 uni	Aeração

Povoamento:

1. Preparar materiais conforme a Tabela 5.
2. Após 24 horas de incubação homogeneizar a amostra do balde de 20 l e retirar uma pequena amostra para analisar no microscópio a porcentagem que se tornou larva “D” e a qualidade.
3. Para realizar o manejo seria ideal duas equipes de duas pessoas com uma pessoa para realizar as contagens.
4. Caso a porcentagem de larva “D” na amostra seja baixa, deixar por mais algumas horas na incubação e repetir a amostra novamente.
5. Larvas “D” já formadas, é realizado o peneiramento das amostras utilizando as peneiras de 145 μm , 50 μm e 35 μm .
6. Após peneirar e transferir para o balde de 3,5 l, homogeneizar e retirar três amostras utilizando o pipetador e a ponteira de 200 μl , colocar a amostra na

Sedgewick-Rafter, cobrir com uma lâmina de vidro, fazer a análise e contagem no microscópio de larvas "D".

7. Realizar a média das amostras e retirar a quantidade para povoar as garrafas em média 120 larvas/ml.
8. Povoar as garrafas de acordo com o número da família

Tabela 5 - Materiais, quantidade e seu uso para o manejo de povoamento.

Materiais	Quantidade	Utilização
Microscópio	2 uni	Análise e contagem de larva "D"
Sedgewick-Rafter	15 uni	Análise e contagem de larva "D"
Lâminas	15 uni	Análise e contagem de larva "D"
Pipetador 200 µl	2 uni	Retirar amostra de larva "D"
Contador Manual	2 uni	Contagem de larva "D" da amostra
Ponteira pipetador 200 µl	15 uni	Retirar amostra de larva "D"
Homogenizador grande	10 uni	Homogeneizar amostra
Peneiras 145 µm	10 uni	Retirada de sujeira na amostra
Peneiras 50 µm	10 uni	Retenção de larvas "D"
Peneiras 35 µm	10 uni	Retenção de larvas "D"
Bacia fundo vazada	10 uni	Peneiramento larva "D"
Balde de 3,5 L	60 uni	Colocar larva "D" após a contagem para povoar garrafas
Tabela povoamento	1 uni	Controle de dados

Manejo diário:

1. Materiais conforme a Tabela 8.
2. O controle de qualidade de água, usando 2 termômetros no tanque de reservatório, fazendo a média dos dois valores. Para a salinidade usar o refratômetro, caso a salinidade estiver acima acrescentar água doce.
3. Realizar a limpeza uma vez ao dia das penas, de acordo com o crescimento e se necessário lavar uma vez pela manhã e uma vez a tarde. Cuidar para não deixar entupir, pois acontece o extravasamento e fuga das larvas.

4. Para limpeza da pena, utilizando o balde de 5 l, drenar a água da garrafa pela metade, retirar a pena, limpar com um jato forte de água salgada, recolocar e repovoar as larvas retiradas.
5. A alimentação é feita todo dia pela manhã ou após o peneiramento conforma a Tabela 6. Tirar o restante de alimento que ficou, lavar o tanque com a solução de limão, colocar a quantidade calculada de microalga e completar o restante com água salgada.
6. Peneiramento conforma a Tabela 7

Tabela 6 – Dieta oferda no experimento de larvicultura, de *Crassostrea gigas* em Sistema de Recirculação de Água. Adaptação descritas por Ramos et al. (2022), e Dybas (2014).

Dia	Iso e Pav:Cm*	Algas mL-1.104	Vazão nas garrafas
1	100%- 0%	0,5	100 ml/min (pena 35-50)**
2	100%- 0%	1 - 1,5	
3	100%- 0%	1,5 - 2	
4	70% - 30%	2 - 2,5	
5	70% - 30%	2 - 2,5	
6	70% - 30%	2,5 - 3	
7	50% - 50%	3	
8	50% - 50%	3	100-150 ml/min. (pena 70)***
9	30% - 70%	3,5	
10	30% - 70%	3,5	
11	30% - 70%	3,5	100-200 ml/min. (pena 100)**
12	30% - 70%	3	
13	30% - 70%	3	
14	30% - 70%	2,5	
15	30% - 70%	2,5	
16	30% - 70%	2	
17	30% - 70%	2	
18	30% - 70%	2	
19	30% - 70%	2	
20	30% - 70%	2	
21	30% - 70%	2	

OBS:

***Quanto maior a vazão, mais alimento e mais entupimento das penas.

Ramos = 83 ml/min. - Dybas = 91 ml/min.

**utilizado 200 a 300 mL/min, e teve muito entupimento das penas.

* Espécies flageladas (*Isochrysis galbana* e *Pavlova lutheri*) e diatomáceas (*Chaetoceros muelleri* e *Chaetoceros calcitrans*).

Tabela 7 - Tamanho das malhas (μm) para peneiramento larval.

Dia	Pena (μm)	Peneiras (μm) para selecionar a larva
0	-	18; 18; 70 (desova)
1	35	30; 50 (povoamento)
2	35	
3	35	35; 50; 145 (tenta descarta 35 ou parte dela)
4	35	
5	35 - 50	
6	35 - 50	35; 50; 70; 210 (tenta descarta 50 ou parte dela)
7	35 - 50	
8	50 - 70	
9	50 - 70	50; 70; 100; 145; 250 (tenta descarta 70 ou parte dela)
10	50 - 70	
11	100 - 145	
12	100 - 145	70; 100; 145; 210; 250 (tenta descarta 100 e/ou 145)
13	100 - 145	
14	100 - 145	100; 145; 210; 230; 250; 500 (tenta descarta 145)
15	145	Avaliar se as larvas já estão prontas para o assentamento
16	145	100; 210; 230; 240; 250; 500 (1º assentamento)
17	145	100; 210; 230; 240; 250; 500 (2º assentamento)
18	145	100; 210; 230; 240; 250; 500 *
19	145	100; 210; 230; 240; 250; 500
20	145	100; 210; 230; 240; 250; 500
21	145	100; 210; 230; 240; 250; 500

OBS

Caso seja necessário realizar a peneiramento em menores intervalos de dias, possíveis causas devem ser consideradas, tais como: elevada turbidez da água, alta mortalidade, entre outros fatores a serem analisados

* Se houver ainda larvas, em grande quantidade e com boa saúde, realizar peneiramento e assentamento até não sei mais necessário

Tabela 8 - Materiais, quantidade e seu uso para o manejo diário.

Materiais	Quantidade	Utilização
Balde de 5 L	10 uni	Transferir a água da garrafa
Balde de 3,5 L	60 uni	Reservar larvas após peneiramento até o povoamento
Peneiras do tamanho ideal para o dia de manejo	10 uni	Peneiramento para acompanhamento do crescimento e retirada de larvas mortas ou que não se desenvolveram
Balde de 20 L	6 uni	Pegar microalga
Termômetro	2 uni	Temperatura da água
Refratômetro	1 uni	Salinidade da água
Tabela manejo	1 uni	Monitoramento de dados
Caderno	1 uni	Anotação de informações
Caneta	2 uni	Anotação de informações
Calculadora	1 uni	Cálculos de alimentação