USO DE MÉTODOS TRADICIONAIS E CIENTÍFICOS EM PESQUISAS ENVOLVENDO CRESCIMENTO DE OSTRAS

USE OF TRADITIONAL AND SCIENTIFIC METHODS IN RESEARCH INVOLVING GROWTH OF OYSTERS

Rafael Anaisce das Chagas^{1,2}, Mara Rúbia Ferreira Barros², Wagner César Rosa dos Santos³, Marcos Ferreira Brabo⁴ & Marko Herrmann⁵

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia - PPGECO, Universidade Federal do Pará - UFPA

²Museu de Zoologia da Universidade Federal Rural da Amazônia - MZUFRA

³Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Norte - CEPNOR

⁴Instituto de Estudos Costeiros - Iecos, Universidade Federal do Pará - UFPA

⁵Instituto Socioambiental e dos Recursos Hídricos - ISARH, Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

*E-mail: rafaelanaisce@hotmail.com

Recebido em 29/07/2020 / Publicado em 20/08/2020

RESUMO O presente estudo visa comparar dois métodos de estimação de crescimento (médias morfométricas periódicas [MMP] e marcador fluorescente calceína [MFC]) da ostra *Crassostrea tulipa*, cultivada no litoral amazônico. A comparação do crescimento ocorreu a partir do Índice de Crescimento Relativo – RGI e, sua significância testada em um test *t-student* ($\alpha=0,05$). Os resultados indicam um maior RGI de *C. tulipa* estimado por MMP para os três tamanhos comerciais, o que é atestado como sobrestimado pela comparação entre os métodos. Neste sentido, observa-se que a utilização de um determinado método está diretamente relacionada a abordagem e/ou aos objetivos da pesquisa, concluindo-se que a utilização de MMP é indicada apenas em estudos que procuram caracterizar, de modo geral, o crescimento de ostras em regiões de cultivo. Em pesquisas cujo objetivo é determinar um crescimento absoluto ou os parâmetros de crescimento, o MFC é mais eficaz.

Palavras-chave: Dinâmica do crescimento. Bivalves. *Crassostrea tulipa*. RGI.

ABSTRACT The present study aims to compare two growth estimation methods (periodic morphometric averages [MMP] and fluorescent calcein marker [MFC]) of the oyster *Crassostrea tulipa*, cultivated on the Amazon coast. The growth comparison was made using the Relative Growth Index – RGI and its significance tested in a *t-student* test ($\alpha = 0.05$). The results indicate a higher RGI of *C. tulipa* estimated by MMP for the three commercial sizes, which is attested as overestimated by the comparison between the methods. In this sense, it is observed that the use of a particular method is directly related to the approach and/or the research objectives, concluding that the use of MMP is indicated only in studies that seek to characterize, in general, the growth of oysters in cultivated regions. In research aimed at determining absolute growth or growth parameters, MFC is most effective.

Key words: Growth dynamics. Bivalves. *Crassostrea tulipa*. RGI

O extrativismo descontrolado ocasionou uma redução significativa dos estoques naturais de ostras (Beck et al., 2011; Castilho-Westphal & Ostrensky, 2016). Neste sentido, a ostreicultura - cultivo de ostras, surge como a principal alternativa a fim de mitigar esse declínio (Shumway et al., 2003). Para isso, o conhecimento da dinâmica de crescimento desses moluscos bivalves e suas respectivas metodologias de aferição ganharam importância, pois além de balizar o manejo na aquicultura, são fundamentais no estabelecimento de medidas de ordenamento para o extrativismo (Gosling, 2015). Neste sentido, diversos métodos de estimação

de crescimento são utilizados (e.g. médias morfométricas periódicas, análise de frequência de comprimento e experimentos de marcação-recaptura) (Chagas et al., 2018c).

Os estudos de crescimento de ostras em ambiente de cultivo, geralmente, utilizam-se de médias periódicas (geralmente mensais) como metodologia (Quayle, 1988; Grizzle et al., 2016; Legat et al., 2017), entretanto, outras abordagens são sugeridas, tais como experimentos que utilizam marcadores externos (e.g., etiqueta plástica) (Fontoura-da-Silva et al., 2013) e internos (e.g., substâncias fluorescentes) (Gosling, 2015; Chagas & Herrmann, 2016).

Neste sentido, objetivou, comparar o crescimento da ostra *Crassostrea tulipa* (Lamarck, 1819) – taxonomia atualizada de *Crassostrea gasar* (Deshayes, 1830) segundo *World Register of Marine Species* (WoRMS) – cultivada no litoral amazônico, a partir de duas metodologias de estimação de crescimento: (1) médias morfométricas periódicas [MMP] e (2) marcação com fluorocromo calceína [MFC]. Nossa hipótese é que há diferença significativa entre as duas metodologias utilizadas, ocorrendo uma sobrestimação na metodologia MMP, ocasionada provavelmente devido a subjetividade na determinação morfométrica.

Este estudo foi realizado na ostricultura da Associação dos Agricultores, Pecuaristas e Aquicultores da Vila Santo Antônio de Urindeua (ASAPAQ), situado na zona estuarina da bacia hidrográfica do rio Urindeua, município de Salinópolis, estado do Pará, região Norte do Brasil (Figura 1).

Figura 1. Localização geográfica do cultivo de ostras da ASAPAQ, na vila de Santo Antônio de Urindeua, situado as margens do rio Urindeua, Salinópolis, Amazônia Oriental. Fonte: Chagas et al. (2018d)

Para a realização do estudo, em abril de 2016 selecionou-se 270 ostras *C. tulipa* de três classes de tamanhos comerciais (semente: 15 a 29 mm de comprimento; juvenil: 30 a 59 mm e baby: 60 a 79 mm). Ressalta-se que para a melhor comparação, utilizou-se a mesma ostra nas duas metodologias de determinação de crescimento.

Deste modo, primeiramente realizou-se a marcação das ostras com fluorocromo calceína, seguindo metodologia proposta por Chagas & Herrmann (2016). Nesta metodologia, imerge-se as ostras em solução de calceína (150mg l^{-1}) por 14 horas, tempo necessário para que as ostras absorvam a calceína no carbonato de cálcio em suas conchas. Posteriormente, dispôs-se as ostras marcadas em três lanternas, separadas por classes de tamanho, amarradas nas estruturas do cultivo.

As amostragens foram realizadas na maré de sizígia de cada mês, por um período de oito meses, totalizando 248 dias de experimento. Em casa coleta eram amostradas 15 ostras (cinco de cada classe de tamanho), realizando primeiramente a limpeza das conchas, codificando-as e transportando ao laboratório de Ecologia Bentônica Tropical (www.benthos.eu), localizado na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém – PA.

Para a caracterização do crescimento de *C. tulipa* pelo método tradicional (MMP), mensurou-se o comprimento total da concha das ostras amostradas, segundo Quayle (1988), utilizando um paquímetro digital (TESA – Datadirect, precisão: 0,01 mm). Sequentemente, estimou-se a taxa média de crescimento mensal (T_{cm}), conforme equação 1 abaixo:

$$T_{cm} = \frac{\sum(C_1 - C_2)}{N_{ostra}} \quad (1)$$

Onde, C_1 o comprimento total de cada ostra mensurada no mês atual, C_2 média do comprimento total das ostras no mês anterior e N_{ostra} o número de ostras mensuradas.

Para a caracterização do crescimento das ostras por MFC, realizou-se em laboratório o procedimento descrito por Chagas & Herrmann (2016). Com base nisso, a estimação de taxa de crescimento absoluto (T_{cab}) de *C. tulipa* ocorreu a partir das medidas micrométricas da distância entre a marca do fluorocromo calceína e a margem do crescimento, conforme Herrmann et al. (2009), utilizando a equação 2 abaixo:

$$T_{cab} = \frac{C_2 - C_1}{t_2 - t_1} = \frac{\Delta C}{\Delta t} \quad (2)$$

Onde, C_1 o comprimento inicial da ostra no início do experimento (t_1), C_2 o comprimento total das ostras no mês atual (t_2), ΔC o incremento de crescimento do tempo Δt .

A comparação dos métodos utilizados na estimação do crescimento de *C. tulipa* foi realizada por classe de tamanho comercial, determinando previamente o Índice de Crescimento Relativo – *RGI* (do inglês: *Relative Growth Index*), proposto por Beal et al. (1999), descrito na equação 3 abaixo, onde C_i o comprimento médio inicial e C_f o crescimento médio final.

$$RGI = \frac{C_f - C_i}{C_i} \cdot 100 \quad (3)$$

Os dados brutos, referentes a morfometria mensal de *C. tulipa* das duas metodologias utilizadas estão disponíveis na plataforma *Data Publisher for Earth & Environmental Science* - Pangaea (<https://www.pangaea.de/>) (Chagas et al., 2018b, 2018a).

Ao comparar o crescimento de *C. tulipa*, a partir dos valores de *RGI*, evidencia-se um maior crescimento estimado por MMP nas três classes de tamanho comercial de ostra por tempo de cultivo (Figura 2). Tal resultado é confirmado pelo teste *t-student* realizado: semente ($T_{cal}=10,82$ e $p<0,0001$), juvenil ($T_{cal}=6,16$ e $p<0,0001$) e baby ($T_{cal}=11,28$ e $p<0,0001$). Os maiores valores de *RGI* encontrado por MMP advém da determinação da taxa de crescimento que tem como base a média do comprimento das ostras da respectiva classe de tamanho. Esse maior crescimento pelo método de MMP na verdade é uma sobrestimação de crescimento, visto que o MFC estima o crescimento absoluto do indivíduo.

Ao nível mundial, o método de estimação de crescimento de moluscos bivalves a partir de MMP é o mais utilizado (Chagas et al., 2018c), principalmente em estudos realizados em áreas de cultivo, por apresentar como principal objetivo a estimação do crescimento da espécie cultivada em um determinado período. Todavia, o uso do MFC é descrito como o método mais indicado, por apresentar-se estatisticamente significativo e não influenciar nas taxas de sobrevivência (Herrmann et al., 2009). No entanto, observa-se que, a utilização de um determinado método de estimação de crescimento está diretamente relacionada a abordagem e/ou aos objetivos da pesquisa.

Assim, a utilização de MMP é um método eficaz na estimação de crescimento no âmbito de cultivos de ostras, cujo objetivo delimita-se apenas a avaliar o crescimento em um determinado período (Legat et al., 2017). Entretanto, em estudos nos quais objetiva-se determinar os parâmetros de crescimento (e.g., K e L_∞) e a estimação de crescimento absoluto, os resultados deste trabalho, corroboram com as recomendações de Chagas & Herrmann (2016), que indicam a utilização do MFC (com destaque a calceína).

Neste estudo confirmou-se a hipótese de que há diferença significativa entre as duas metodologias utilizadas, ocorrendo uma sobrestimação na metodologia de médias morfométricas periódicas [MMP], ocasionada provavelmente devido a subjetividade na determinação morfométrica. No entanto, destaca-se que o uso de uma metodologia ou outra deve ser distinto, ou seja, recomenda-se a utilização de MMP apenas em estudos nos quais procuram caracterizar, de modo geral, o crescimento de ostras em áreas de cultivo e a utilização do método de marcação com fluorocromo calceína [MFC] quando o objetivo for determinar um crescimento absoluto ou os parâmetros de crescimento, devido esse método ser mais eficaz.

Figura 2. Variação do Índice de Crescimento Relativo - RGI das ostras *Crassostrea tulipa*, realizados entre classes de tamanho comercial por tempo de cultivo.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais (PPGAqRAT/UFRA) pelo apoio na realização do projeto de mestrado e pela bolsa concedida, respectivamente pelo autor Rafael A. das Chagas. À Associação dos Agricultores, Pecuáristas e Aquicultores (ASAPAQ) da Vila de Santo Antônio de Urindeua, em destaque a Dona Maria, presidente em exercício, pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa. A Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) e ao Instituto Socioambiental e dos Recursos Hídricos, pelo apoio logístico na cessão do transporte ao deslocamento dos autores ao local da pesquisa.

Referências

- Beal, B.F., Bayer, R., Kraus, G.M. & Chapman, S.R. (1999). A unique shell marker in juvenile, hatchery-reared individuals of the softshell clam, *Mya arenaria* L. *Fish. Bull.*, 97(2): 380-86.
- Beck, M.W., Brumbaugh, R.D., Airoidi, L., Carranza, A., Coe, L.D., Crawford, C., et al. (2011). Oyster reefs at risk and recommendations for conservation, restoration, and management. *BioScience*, 61(2): 107-16.
- Castilho-Westphal, G.G. & Ostrensky, A. (2016). Use of side-scan sonar for estimations of *Crassostrea brasiliensis* (Lamarck, 1819) stocks in subtidal banks on the south coast of Brazil. *Braz. J. Oceanogr.*, 64(1): 49-56.
- Chagas, R.A.d., Abreu, V.S., Silva, R.E.O.d., Assis, A.S.d., Passos, T.A.F.d., Barros, M.R.F., et al. (2018a). Micro-growth data of *Crassostrea tulipa* cultivated on the Amazonian coast. *PANGAEA - Publishing Network for Geoscientific & Environmental Data*. <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.890707>.
- Chagas, R.A.d., Abreu, V.S., Silva, R.E.O.d., Assis, A.S.d., Passos, T.A.F.d., Barros, M.R.F., et al. (2018b). Morphometric data of *Crassostrea tulipa* cultivated on the Amazonian coast. *PANGAEA - Data Publisher for Earth & Environmental Science*. <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.890779>.

- Chagas, R.A.d., Barros, M.R.F. & Herrmann, M. (2018c). Review of methods of growth estimates for bivalve molluscs. *PANGAEA - Data Publisher for Earth & Environmental Science*. <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.889594>.
- Chagas, R.A.d., Barros, M.R.F., Santos, W.C.R.d. & Herrmann, M. (2018d). Composition of the biofouling community associated with oyster culture in an Amazon estuary, Para state, Northern Brazil. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 53(1): 9-17.
- Chagas, R.A.d. & Herrmann, M. (2016). Estimativas de crescimento de bivalves tropicais e subtropicais: recomendação para um método padronizado. *Acta Fish. Aquat. Res.*, 4(2): 28-38.
- Fontoura-da-Silva, V., Carneiro, J.B., Miyahira, I.C., Santos, S.B.d. & Caetano, C.H.S. (2013). Mark-recapture methodology: a simple and inexpensive technique for the study of bivalves and gastropods in Brasil. 21): 13-16.
- Gosling, E. (2015). *Marine Bivalve Molluscs*. 2. ed. ed.: John Wiley & Sons, Ltd. v.
- Grizzle, R.E., Ward, K.M., Peter, C.R., Cantwell, M., Katz, D. & Sullivan, J. (2016). Growth, morphometrics and nutrient content of farmed eastern oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin), in New Hampshire, USA. 1-13.
- Herrmann, M., Lepore, M.L., Laudien, J., Arntz, W.E. & Penchaszadeh, P.E. (2009). Growth estimations of the Argentinean wedge clam *Donax hanleyanus*: A comparison between length-frequency distribution and size-increment analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 379(1-2): 8-15.
- Legat, J.F.A., Puchnick-Legat, A., Fogaça, F.H.d.S., Tureck, C.R., Suhnel, S. & Melo, C.M.R.d. (2017). Growth and survival of bottom oyster *Crassostrea gasar* cultured in the northeast and south of Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(2): 172-84.
- Quayle, D.B. (1988). *Pacific oyster culture in British Columbia*. ed. Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences 218. v.
- Shumway, S.E., Davis, C., Downey, R., Karney, R., Kraeuter, J., Parsons, J., et al. (2003). Shellfish aquaculture in praise of sustainable economies and environments. 34(4): 15-18.