

# **CULTIVO LARVAL DA OSTRA DO MANGUE, *Crassostrea rhizophorae* (GUILDING, 1828), EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA, SALINIDADE E DENSIDADE**

Larvae culture of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), under different conditions of temperature, salinity and density

Marcelo Bandecchi Botelho de Miranda<sup>1</sup>, João Guzenski<sup>2</sup>

## **RESUMO**

A larvicultura em escala comercial da ostra do mangue, *Crassostrea rhizophorae*, tem sido objeto de estudo de vários órgãos governamentais e empresas privadas, uma vez que esta pode ser capaz de garantir um suprimento estável de sementes para os cultivos. O presente trabalho foi desenvolvido na tentativa de se estabelecer as condições ideais para o crescimento larval de *C. rhizophorae*. Foram analisados os principais fatores para o cultivo de larvas da espécie: temperatura, salinidade, densidade larval, uso de antibiótico e quantidade de alimento. A contaminação por bactérias é provavelmente o maior problema que deve ser levado em consideração na larvicultura de *C. rhizophorae*. Sem o uso de antibiótico não foi possível concluir os cultivos. Altas temperaturas podem favorecer o crescimento de bactérias no cultivo e baixas temperaturas reduzem o crescimento das larvas. A temperatura de 25°C foi considerada a melhor entre aquelas testadas. *C. rhizophorae* é uma espécie cujas larvas se adaptam melhor a salinidades abaixo da oceânica, entre 25 e 30‰. Altas concentrações larvais são prejudiciais aos cultivos. Densidades entre 5 e 15 larvas/ml são recomendadas para o início dos trabalhos. O cultivo larval de *C. rhizophorae* é tecnicamente viável em escala laboratorial e semi-comercial, mas estudos sobre a viabilidade econômica devem ser realizados.

**Palavras-chaves:** aquicultura, ostra-do-mangue, cultivo larval, temperatura, salinidade.

## **ABSTRACT**

The commercial larvae culture of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*, has been the focus of studies in private and governmental institutions, once it can provide a trustful supply of seeds. The present study was developed in order to establish the best growth conditions for *C. rhizophorae* larvae. The main factors for larvae growth and survival were analyzed: temperature, salinity, larvae density, use of antibiotics and amount of food. Bacteria infections are probably the major problem to be considered in the larvae culture of the species. The absence of antibiotics caused total mortality in all cultures. High temperature values collaborates to bacteria development and low temperature reduces larvae growth rate. The best temperature tested was 25 °C. *C. rhizophorae* larvae are better adapted to salinity between 25 and 30‰. High larvae density proved to be harmful for the cultures. Densities between 5 and 15 larvae/ml are recommended for the beginning of the cultures. The larvae culture of *C. rhizophorae* is technically viable, but studies on the economic feasibility should be also considered.

**Keywords:** aquaculture, mangrove oyster, larvae rearing, temperature, salinity.

<sup>1</sup> Bolsista do CNPq no Mestrado em Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza.

<sup>2</sup> Laboratório de Cultivo de Moluscos Marinhos, Universidade de Santa Catarina, Florianópolis / EPAGRI.

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o cultivo de ostras tem se desenvolvido bastante no mundo inteiro, por ser uma atividade economicamente rentável e geradora de empregos. No Brasil os estudos começaram na década de 70 (Wakamatsu, 1973; Quayle, 1973; Fernandes & Lima, 1976; Nascimento & Lunetta, 1978), porém foi somente nos anos 80 que surgiram os primeiros cultivos comerciais. A viabilidade técnica de cultivos de ostras na costa brasileira foi demonstrada por Nascimento (1983), Pereira (1987) e Pereira *et al.* (1988) e a viabilidade econômica foi comprovada por Fagundes *et al.* (1996).

A espécie com valor comercial que ocorre na costa brasileira é *Crassostrea rhizophorae*, a ostra do mangue. Entretanto, alguns autores se referem a uma outra espécie muito semelhante, *Crassostrea brasiliiana*, presente também nos mangues e muitas vezes coabitando com *C. rhizophorae*, suscitando dúvidas quanto a identificação precisa das diversas populações do Brasil.

Grande parte dos trabalhos focando a possibilidade de cultivo de *C. rhizophorae* na América Latina basearam-se na captação de sementes em ambiente natural. Esse método é pouco oneroso e apresenta ótimos resultados em alguns países como Colômbia e Cuba. Contudo, muitas regiões não dispõem de quantidade suficiente de larvas para cultivos comerciais ou as larvas não estão disponíveis no ambiente o ano inteiro, devido aos picos de desova existentes (Nascimento, 1983).

Segundo Lemos *et al.*, (1994) o cultivo de *C. rhizophorae* oferece uma solução para a atual super exploração dos bancos naturais da espécie, entretanto a confiabilidade do fornecimento de sementes só pode ser assegurada por uma produção de larvas em laboratório, em virtude da imprevisibilidade ambiental em áreas estuarinas.

A metodologia de cultivo larval de ostras de águas temperadas e subtropicais está bem estabelecida para espécies congêneras como *C. virginica* (Loosanoff & Davis, 1963; Dupuy & Rivkin, 1972) e *C. gigas* (Bresse & Malouf, 1975). Nos últimos anos, alguns países têm se dedicado ao desenvolvimento das técnicas de larvicultura de *C. rhizophorae*, com especial destaque para Cuba, que já estabeleceu uma tecnologia de cultivo eficiente (Rodriguez *et al.*, 1990; Rodriguez & Frias, 1992), sendo capaz de produzir em laboratório boa parte das sementes utilizadas nos cultivos. No Brasil, alguns estados desenvolveram recentemente tecnologia de larvicultura, adaptando conhecimentos de Cuba, o que permitiu o início de alguns projetos de cultivo em escala experimental (Cruz *et al.*, 1998; Santos, *et al.*, 1998; Guzinski, 1998). De acordo com Tan & Wong (1996), a transição da fase

experimental para a fase de produção comercial deve ser sustentada por pesquisas que definam as condições ótimas de crescimento e sobrevivência de cada espécie, e que também consigam reduzir o tempo do período larval. Para *C. rhizophorae*, apenas um trabalho analisou o efeito de fatores ambientais sobre as larvas (Lemos *et al.*, 1994), mas somente durante 9 dias, até a fase umbonada, perdendo assim um dos principais referenciais de análise, que é o tempo até a metamorfose. Não existe nenhum trabalho que avalie a influência de fatores ambientais durante todo o período larval. O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de determinar as melhores condições de temperatura, salinidade e densidade para o cultivo larval de *C. rhizophorae*. Com isso será possível estabelecer uma metodologia mais eficiente para cultivos comerciais, que reduza o tempo de larvicultura e consequentemente os custos de produção.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho teve como base os dados obtidos durante uma série de larviculturas da ostra do mangue, *Crassostrea rhizophorae*, realizadas em setembro de 1997, no Laboratório de Cultivo de Moluscos Marinhos (LCMM) da Universidade Federal de Santa Catarina, localizado na Barra da Lagoa, Florianópolis. Os reprodutores utilizados no experimento foram provenientes do estuário do Rio Massiambu, Município de Palhoça, Santa Catarina.

A metodologia de maturação utilizada foi adaptada de Rodriguez & Frias (1992). Os animais foram mantidos em tanques com 450 litros a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e salinidade de 35‰ por 68 dias. Colocou-se uma média de 1.800 g de ostras em cada tanque. A alimentação diária foi de aproximadamente 37.800 células de *Tetraselmis tetrathele* por ml. A cada dois dias foi feita a troca de 100% da água dos tanques e a desinfecção dos mesmos com hipoclorito de sódio (5%). As desovas foram realizadas através de choque térmico. Inicialmente, 104 reprodutores foram deixados a seco por um período aproximado de 20 horas a uma temperatura de  $18^\circ\text{C}$ . A seguir, tiveram as cracas e outros animais incrustantes retirados com o auxílio de uma espátula, foram cuidadosamente lavados com água doce e submetidos a uma imersão em solução de formol (20 ppm) por 20 minutos. Após esta etapa, os animais foram mantidos por um período de 2 horas sem alimentação em água a  $24^\circ\text{C}$  e salinidade de 35‰ para eliminação das fezes. Finalmente, os reprodutores foram divididos em 3 tanques com fundo cônico contendo 200 litros de água marinha tratada com EDTA. A temperatura inicial foi de  $27^\circ\text{C}$ , sendo elevada até  $28^\circ\text{C}$ , quando a maior parte das desovas ocorreram.

Durante o processo de eliminação dos gametas, alguns machos foram retirados do tanque para evitar poliespermia.

Após 24 horas da desova, os tanques foram drenados e as larvas retidas em peneiras de 36 µm. O lote de larvas utilizado no experimento (aproximadamente 480.000 larvas) foi separado e colocado para aclimação por 48 horas, numa densidade de 5 larvas/ml, em um tanque de 95 litros de água com salinidade de 35‰, temperatura de 25°C e levemente aerado. Após esse período, as larvas foram peneiradas novamente e distribuídas em 27 bequers de polipropileno com 2 litros de água marinha para o início do experimento.

O experimento consistiu em testar de forma independente os efeitos da temperatura, salinidade, densidade larval, uso de antibiótico e quantidade de alimento sobre as larvas de ostra. Foram adotados três tratamentos de temperatura, três de salinidade, três de densidade larval, dois tratamentos de antibiótico e dois de alimentação, conforme delineamento experimental apresentado na Tabela I. Todos os tratamentos foram feitos em triplicata, submetidas exatamente as mesmas condições. Os bequers foram colocados aleatoriamente dentro de um tanque de 450 litros de capacidade, de modo que pudesse ser realizado um banho-maria. A temperatura da água do banho-maria

foi mantida constante através de aquecedores providos de termostato automático com margem de flutuação de ± 0,3°C. Somente os tratamentos com temperatura diferenciada (22 e 28°C) foram mantidos em tanques isolados. Os tratamentos com salinidade de 25 e 28‰ foram preparados com adição de água destilada para atingir a concentração desejada. Todos os bequers receberam aeração contínua e suave. Também foram realizadas larviculturas em escala semi-comercial em dois tanques de 80 litros de água a 25°C, 35‰ e 5 larvas/ml para saber se os resultados do experimento poderiam ser extrapolados para volumes maiores.

A metodologia de cultivo utilizada foi adaptada de Loosanoff & Davis (1963) e Perera (1997). Toda a água utilizada no experimento foi filtrada a 1µm e esterilizada com ultra-violeta. Foi feita a troca de 100% da água dos bequers 3 vezes por semana (tabela II). Nestas, as larvas eram retidas em peneiras e lavadas com pissetas. O diâmetro das malhas das peneiras variou de 36 a 110 µm, conforme o tamanho mínimo das larvas. Após lavadas, as larvas eram retornadas aos bequers de cultivo, que haviam sido desinfetados com hipoclorito de sódio (0,5%). A alimentação foi fornecida 2 vezes ao dia (tabela II). As microalgas utilizadas foram cultivadas em meio Guillard modificado e coletadas na fase exponencial. As amostragens, em um total de seis, foram

Tabela I – Resumo da metodologia de larvicultura utilizada no experimento.

Dia	Observações	Troca de água	Amostra	Antibiótico	Alimento (x 10 <sup>3</sup> cél./ml) *					
					Cc	T-ISO	Cm	3H	TS	Total
0	Desova									
1	Adaptação	X		X	10					10
2			X	X	7					7
3	Início do exper.	X	X	X	10	5				15
4				X	7	3				10
5		X	X	X	10	7				17
6				X	6	6				12
7				X	6	6				12
8	Fim do antibiótico	X			8	8	4			20
9					5	5	5			15
10		X	X		7	7	7	4		25
11					5	5	8			18
12		X			7	7	7	4		25
13					5	5	5	2		17
14		X	X		10	10	10			30
15					5	6	5	4		20
16		X			10	10	10	5		35
17	Larvas pedivéliger				7	7	7			21
18					6	6	5			17
19		X	X		10	10	10	4	3	37
20	1 <sup>as</sup> larvas fixadas				8	8	5		3	24
21					8	8	5		3	24
22		X			10	10	10	5	5	40
23					10	10	10	4	3	37
24	Final do exper.	X	X		15	15	10	5	5	50

\* Cc = *Chaetoceros calcitrans*; T-ISO = *Isochrysis galbana* var. Tahiti;  
Cm = *Chaetoceros muerelli*; 3H = *Thalassiosira pseudonana* clone 3H;  
TS = *Tetraselmis tetrahele*

**Tabela II** - Delineamento experimental utilizado nos tratamentos com larvas de *Crassostrea rhizophorae*.

Fatores	Tratamentos												
	Temperatura (°C)			Salinidade (‰)			Densidade (larvas/ml)			Antibiótico <sup>(1)</sup>		Alimento <sup>(2)</sup> (x10 <sup>7</sup> cél./ml)	
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	I	II
Temp. (°C)	22	25	28	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Salin. (‰)	35	35	35	25	28	35	35	35	35	35	35	35	35
Dens. (larv/ml)	5	5	5	5	5	5	5	15	30	5	5	5	5
Antibiótico <sup>(1)</sup>	com	com	com	com	com	com	com	com	com	com	sem	com	com
Alimento <sup>(2)</sup>	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	20

<sup>(1)</sup> refere-se a 0,8 ppm de cloranfenicol + 0,8 ppm de nitrofurazona.

<sup>(2)</sup> refere-se à quantidade inicial de microalgas utilizadas (tabela II).

realizadas durante as trocas de água com intervalos de 4 a 5 dias entre elas. A metodologia de amostragem utilizada foi adaptada de Millican (1997). As observações de crescimento foram baseadas nas medidas de 35 larvas de cada bequer, em câmara de Sedwick-Rafter com microscópio ótico (Olympus) utilizando-se ocular micrométrica.

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa para computador SPSS 7.5 for windows. Os dados de crescimento das larvas foram submetidos ao Teste de Especificidade de Mauchl's, na matriz de correlação residual, para verificar a necessidade de correção dos graus de liberdade dos testes (segundo Greenhouse-Geisser e Huynh-Feldt). Também foi realizado o teste de Kolmogorov Smirnov para verificar se o crescimento médio das larvas segue uma distribuição normal, para a variável em estudo. A análise de variância utilizou-se do Teste de Tukey para a comparação das médias dos tratamentos, em cada período de tempo. A análise de perfil do crescimento das larvas de ostras, em função do período de observação para cada tipo de tratamento, foi realizada segundo o modelo de regressão linear, levando em consideração os resultados obtidos na análise de cada um dos tratamentos. O teste de Durbin-Watson foi efetuado para verificar a existência de auto correlação residual. O cálculo do ajuste do modelo ( $R^2$ ) também foi realizado. A análise foi efetuada segundo a estatística F-Snedecor do quadro de análise de variância. Os testes dos parâmetros individuais foram realizados segundo o teste t-Student. Para a análise de sobrevivência foi efetuada a análise de variância do arco-seno da raiz da proporção das larvas sobreviventes no final do experimento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As metodologias de maturação e desova utilizadas mostraram-se satisfatórias. Do total de 104 reprodutores induzidos, desovaram 27 machos e 12

fêmeas, produzindo aproximadamente 11.885.200 larvas "D". A utilização de uma única espécie de microalga na maturação, *Tetraselmis tetrahele*, provou-se eficiente, porém a utilização de várias espécies de microalgas provavelmente produziria uma desova de maior qualidade como sugerem Utting & Millican (1997). A metodologia de desova adotada apresenta a desvantagem do desenvolvimento embrionário ocorrer no mesmo tanque no qual os reprodutores desovaram. Isto acarreta a presença de fezes, que favorece o desenvolvimento de bactérias prejudiciais ao cultivo, além de não permitir um controle preciso sobre a poliespermia. Elston (1990) coloca que os reprodutores são uma das principais fontes de introdução de bactérias nas larviculturas. A metodologia de desova sugerida por Millican (1997) é capaz de reduzir estes problemas, uma vez que os indivíduos desovam em recipientes isolados e os gametas podem ser lavados e contados antes da fecundação.

O uso de antibiótico na larvicultura de moluscos é ainda um assunto bastante controverso. Se por um lado eles são capazes de garantir a sobrevivência larval nos cultivos, por outro lado podem produzir bactérias mais resistentes e também retardar o crescimento das larvas. O controle da proliferação de bactérias é um dos principais fatores para o sucesso de uma larvicultura (Elston, 1984).

No presente trabalho comparou-se um tratamento sem nenhum antibiótico com outro utilizando a combinação de 0,8 ppm de nitrofurazona mais 0,8 ppm de cloranfenicol durante os 8 primeiros dias de cultivo. As três repetições do tratamento sem nenhum antibiótico apresentaram mortalidade total antes do 7º. dia de cultivo, enquanto o tratamento com antibiótico apresentou crescimento normal e sobrevivência média de 38,6% no final do experimento. Nos tratamentos onde variaram temperatura, salinidade, densidade larval e quantidade de alimento, foram observadas altas mortalidades exatamente naqueles tratamentos onde as condições de uma maneira ou outra favoreciam a propagação de bactérias. Observou-se altas mortalidades e evidências de contaminação por *Pseudomonas* (manchas com coloração rosa) em uma repetição do tratamento com temperatura máxima (28°C) e nas 3 repetições com o dobro de alimento. Larvas moribundas com dificuldade de natação e anormalidades no velum também foram observadas em grande quantidade nessas unidades, indicando os sintomas de vibriose descritos por Jeffries (1982).

Lodeiros (1988) aponta *Vibrio* e *Pseudomonas* como os gêneros mais frequentes e patogênicos em larviculturas de moluscos. A patogênicidade de determinadas bactérias muitas vezes apresenta relação direta com determinada espécie de molusco. Segundo Elston (1990), as vibrioses são mais frequentemente observadas em *Crassostrea virginica* do que em

*Crassostrea gigas*. Este fato pode estar relacionado ao grande conhecimento dos requerimentos de *C. gigas* em laboratório, permitindo cultivos próximos ao ideal, evitando assim patógenos oportunistas ou ainda a uma seleção genética devido ao longo tempo de utilização da espécie em cultivo. Por ser considerada bastante resistente em condições de laboratório, o termo "domesticação" tem sido utilizado para ilustrar esse caráter em *C. gigas*. Para *C. rhizophorae* nenhuma das duas suposições pode ser aplicada, pois a espécie ainda não tem sua tecnologia de cultivo em escala comercial amplamente difundida, tendo seu cultivo iniciado recentemente, muito menos suas necessidades em laboratório estão precisamente estabelecidas. Assim, é muito provável que cultivos de *C. rhizophorae* sejam na atualidade mais susceptíveis a contaminações por bactérias que outras espécies, podendo o fato estar relacionado tanto com características da própria espécie, quanto às condições de cultivo. A atual realidade é que a maioria dos laboratórios utilizam antibióticos na larvicultura de *C. rhizophorae*. Na Estação de Aquicultura "Almirante Paulo Moreira" no Rio de Janeiro, utiliza-se cloranfenicol como medida de precaução (FIPERJ, 1997b). Em Cuba, Perera (1997) recomenda o uso de estreptomicina ou tetraciclina e Zayas *et al.*, (1995) afirma que o uso de 0,2 mg/l de cloranfenicol permitiu elevar a sobrevivência larval até 47%, valor acima da média nacional que é 20%. Lemos *et al.*, (1994) sugerem que os cultivos devem ser feitos sem antibiótico, porém a uma temperatura de 20°C. Contudo, esta temperatura é condição rara na região Nordeste, o que aumentaria os custos de produção para resfriar a água.

Sabe-se que a temperatura é um dos fatores mais importantes na larvicultura de moluscos. Loosanoff & Davis (1963) estabeleceram os limites de tolerância para várias espécies de moluscos com interesse comercial. De um modo geral, ocorre um aumento na taxa de crescimento larval conforme a temperatura aumenta, desde que dentro da faixa do limite de tolerância da espécie (ou da população), que para ostras do gênero *Crassostrea* está entre 20 e 30°C. O presente trabalho comprovou que, com a elevação da temperatura, o crescimento das larvas de *C. rhizophorae* é acelerado. Entretanto, apesar do crescimento a 28°C ter sido sensivelmente maior do que a 25°C, durante a maior parte do período larval, nos últimos dias observou-se um decréscimo na taxa de crescimento. O fato está provavelmente relacionado à contaminação bacteriana ocorrida no 16º dia, que teria interferido no crescimento larval nos últimos dias. Outra hipótese é que 28°C é uma temperatura próxima ao limite fisiológico da espécie (ou da população em questão), interferindo na capacidade de crescimento, devido às condições adversas que as larvas se encontravam. O teste de Tukey para o crescimento das larvas de cada tra-

tamento em função do período mostrou que os tamanhos finais das larvas a 28 e 25°C não apresentaram diferenças estatisticamente significativas a 5%. Já a 22°C o crescimento foi inferior e significativamente diferente na mesma probabilidade (figura 1).

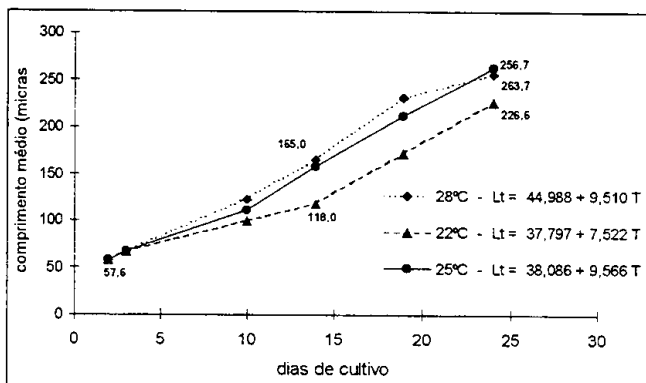


Figura 1 – Crescimento observado das larvas de *Crassostrea rhizophorae*, sob diferentes tratamentos de temperatura.

O resultado de crescimento encontrado no presente trabalho está de acordo com Lemos *et al.*, (1994), que obtiveram maior incremento em comprimento e peso na mais alta temperatura testada e menor crescimento na mais baixa temperatura utilizada. Calabrese & Davis (1970) observaram um crescimento de *Mercenaria mercenaria* diretamente proporcional ao aumento da temperatura, até um limite de 30°C, a partir do qual o crescimento e a sobrevivência ficaram comprometidos. Calabrese (1969), Brenko & Calabrese (1969), Helm & Millican (1977), Tettelbach & Rhodes (1981) e His *et al.*, (1989) obtiveram resultados bastante semelhantes para várias outras espécies de moluscos, variando apenas a temperatura a partir da qual a taxa de crescimento de cada espécie começa a cair. De um modo geral esta temperatura se encontra entre 28 e 32°C.

Quanto ao número de larvas que haviam se fixado no 24º dia, notou-se uma quantidade bastante superior em 28°C do que a 25°C, enquanto que a 22°C nenhuma larva tinha iniciado a metamorfose, reforçando a idéia de que na maior temperatura estudada o crescimento de larvas *C. rhizophorae* também é maior.

Em relação à sobrevivência das larvas, a temperatura exerce importante papel, geralmente causando maiores mortalidades conforme a temperatura vai aumentando. Neste experimento a sobrevivência apresentou resultados contraditórios. A maior sobrevivência foi observada a 25°C (38,6%). A 28°C a sobrevivência foi menor (31,7%), provavelmente em função da contaminação bacteriana ocorrida. Contudo, a 22°C, quando se esperava a mais alta taxa de sobrevivência, observou-se o contrário, a mais baixa taxa, correspondente a 27,3% (figura 2). Santos & Nascimento (1985) não encontraram diferença significativa entre a quantidade de embriões normais de *C.*

*rhizophorae* a 20 e 25°C, entretanto a 30°C apenas 1,7% dos embriões se desenvolveram em larvas "D" normais, em salinidade de 30‰. Utting & Spencer (1991) obtiveram as menores taxas de sobrevivência de *C. gigas* durante o verão, associando o resultado às altas temperaturas e infecções por bactérias. Esta é uma questão relevante a ser discutida, já que com o aumento da temperatura, o desenvolvimento de bactérias torna-se favorecido (Rodríguez *et al.*, 1990). Portanto, se por um lado tem-se um crescimento mais rápido em altas temperaturas, por outro, corre-se o risco de contaminação por bactérias e consequentemente de maiores mortalidades. Isto pôde ser comprovado no presente experimento, quando no 16º. dia de cultivo observou-se evidências de contaminação por *Pseudomonas* em uma das repetições do tratamento a 28°C. Loosanoff & Davis (1963) concluíram que temperaturas ao redor de 30°C favorecem o crescimento de bactérias que são responsáveis pelas mortalidades em massa dos cultivos. Elston (1990) afirma que vibriose é um problema típico em laboratórios de cultivo de moluscos, normalmente associado a altas temperaturas.

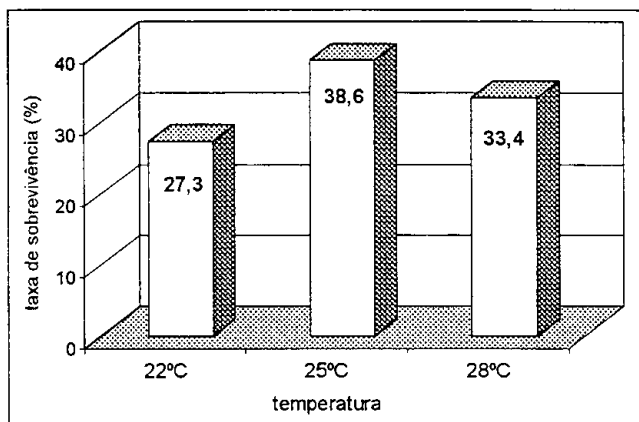


Figura 2 – Sobrevivência final das larvas de *Crassostrea rhizophorae*, sob diferentes tratamentos de temperatura.

É importante ressaltar que o comprometimento na sobrevivência das larvas em altas temperaturas esta relacionado não somente à temperatura, mas também a uma complexa interação entre vários outros fatores como salinidade, quantidade de alimento e manejo correto do cultivo. Se estas outras condições não estiverem adequadas, aumenta-se a possibilidade da ação patógena das bactérias.

Lemos *et al.* (1994) observaram sobrevivência extremamente baixa de larvas de *C. rhizophorae* mantidas a 30°C, mas contrariamente ao presente trabalho, a mais alta sobrevivência ocorreu na mais baixa temperatura (20°C). Uma das possíveis explicações para a diferença nos resultados com a mais baixa temperatura neste trabalho e o de Lemos *et al.* (1994) é que distintas populações da mesma espécie podem

ser fisiologicamente diferentes, sendo influenciadas principalmente pelas condições ambientais e herança genética. É possível que, para a população utilizada neste experimento, proveniente de Santa Catarina, a temperatura de 22°C esteja perto do limite fisiológico das larvas e por isso observou-se uma maior mortalidade. Contudo, esta é apenas uma hipótese que merece estudos mais aprofundados. Tetellbach & Rhodes (1981) sugerem que diferenças no limite de tolerância de temperatura e salinidade de larvas de *Argopecten irradians* podem ser causadas por influência do ambiente ou herança genética. Outros trabalhos como Innes & Haley (1977) e Newkirk *et al.*, (1977) incorporam as influências ambientais e genéticas como explicação para a variação de tolerância de temperatura e salinidade de larvas de bivalves.

Lemos *et al.* (1994) chegaram a conclusão de que 20°C é a melhor condição de temperatura para a larvicultura de *C. rhizophorae* após terem assumido a biomassa como indicativo de produção, uma vez que integra peso individual e sobrevivência. Contrariamente, o presente trabalho, levando em consideração o crescimento em comprimento e a sobrevivência obteve, nas condições que foi realizado o experimento, como melhor resultado para o cultivo larval de *C. rhizophorae* a temperatura de 25°C. Além do mais, tal temperatura é mais facilmente encontrada na costa brasileira, sendo que 22°C é condição rara na região Nordeste. Em Cuba, Rodríguez & Frias (1992) obtiveram sucesso na larvicultura de *C. rhizophorae* com temperatura entre 23,8 e 28,5°C. A FIPERJ (1997a) recomenda temperatura entre 25 e 28°C.

Deve-se considerar também que para o cultivo comercial de larvas de moluscos, o tempo que as larvas levam até a metamorfose é fundamental, uma vez que estão envolvidos altos custos diários de produção de microalgas, mão-de-obra e manutenção de equipamentos. Como era objetivo específico deste trabalho tentar diminuir o tempo de larvicultura, pode-se concluir em vista dos resultados, que não é recomendável, em primeira instância, a tentativa de incentivar o crescimento larval através do aumento da temperatura. Conclui-se que larvas de *C. rhizophorae* toleram e crescem em temperatura de 28°C, porém considera-se esta como situação de risco e não aconselhável para o cultivo, devido à possibilidade de contaminação bacteriana. Contudo, havendo um ajuste preciso de todas as outras condições de cultivo para a espécie que se está trabalhando e controlando ao máximo as vias de entrada de bactérias no cultivo, um laboratório pode tentar como passo seguinte, um aumento racional e controlado da temperatura com o objetivo de diminuir tempo e custos.

Confirmou-se também que larvas de *C. rhizophorae*, como as de outros moluscos são bastante

resistentes a mudanças de temperatura. Isto foi comprovado, quando todas as larvas do experimento, antes de serem colocadas para a fixação, passaram por um período de 24 a 48 horas na geladeira (8°C) sem nenhum prejuízo quando retornadas a 27°C para o assentamento. Metodologia semelhante foi utilizada e recomendada por Holiday *et al.*, (1991) também sem nenhum efeito negativo para as larvas.

A salinidade também é considerada um dos fatores cruciais na larvicultura de moluscos bivalves. Segundo Bayne (1983), a taxa de crescimento de larvas de moluscos respondem a mudanças na salinidade. A tolerância varia conforme a espécie, mas a amplitude de salinidade tolerada é normalmente grande e acompanha as variações que ocorrem no meio ambiente. Para espécies de áreas estuarinas, além da determinação dos valores mínimo, máximo e ótimo de salinidade, deve-se levar também em consideração o local onde a população se encontra (Lossanoff & Davis, 1963). A salinidade na qual as gônadas dos reprodutores são maturadas em laboratório também tem influência direta sobre o desenvolvimento das larvas (Helm & Millican, 1977). No presente trabalho os reprodutores foram maturados em salinidade de 35 a 37‰ e as larvas cultivadas a 25, 28 e 35‰. O crescimento larval observado foi bastante semelhante entre os diferentes tratamentos de salinidade, constatando o caráter eurihalino da espécie (figura 3). Um crescimento sensivelmente maior foi observado a 28‰, apesar de não ter havido diferença significativa (a 5%) entre nenhum dos tratamentos, segundo o teste de Tukey. Quanto à sobrevivência não houve diferença significativa entre os três tratamentos, porém uma média maior foi observada nos tratamentos a 25‰ (45,3%) e 28‰ (42,8%) em relação a 35‰ (38,6%) (figura 4). Um resultado bastante esclarecedor é o número de larvas que se fixaram até o 24º dia do experimento. Em salinidade de 25‰ houve um número bastante superior de larvas fixadas no final do experimento (média de 329 larvas) em relação a 28‰ (média de 254 larvas) e 35‰ (média de 33 larvas), reforçando que as salinidades mais baixas apresentaram melhores resultados. Os melhores resultados obtidos neste experimen-

to com salinidades abaixo da ocorrência estão de acordo com grande parte dos trabalhos existentes, que confirmam essa característica peculiar à maioria das espécies do gênero *Crassostrea* (Loosanoff & Davis, 1963; Breese & Malouf, 1975; Breese & Malouf 1977; His *et al.*, 1989; Tan & Wong, 1986).

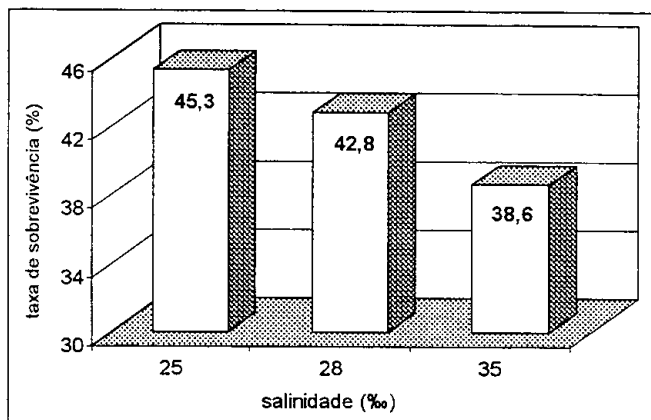


Figura 4 – Sobrevivência final das larvas de *Crassostrea rhizophorae*, sob diferentes tratamentos de salinidade.

Helm & Millican (1977) concluíram que larvas de *Crassostrea gigas* crescem melhor em salinidade de 25‰. Os autores analisaram os efeitos da salinidade e temperatura em conjunto e concluíram que na temperatura ideal de crescimento (28°C), a variação na salinidade faz pouca diferença, porém conforme a temperatura se afasta do ideal, a influência da salinidade torna-se cada vez mais significativa. Tettelbach & Rhodes (1981) chegaram a conclusão bastante semelhante para *Argopecten irradians* e Brenko & Calabrese (1969) para *Mytilus edulis*. Lemos *et al.* (1994) confirmaram esta observação para *C. rhizophorae*, concluindo que dentro de uma amplitude de salinidade tolerável, o crescimento de *C. rhizophorae* depende principalmente da temperatura. Tal fato apenas torna mais evidente o caráter eurihalino da espécie, conhecida como ostra do mangue devido ao habitat que geralmente ocupa, onde normalmente ocorrem grandes flutuações na salinidade em decorrência dos períodos chuvosos e variações das marés. De acordo com Lemos *et al.*, (1994) a explicação para a dominância da temperatura sobre a salinidade é justamente o fato das populações naturais de *C. rhizophorae* estarem bem adaptadas a variações na salinidade, mas não a extremos de temperatura. Os autores sugerem que salinidades entre 25 e 35‰ sejam as ideais para o cultivo larval da espécie. Tais dados estão de acordo com o presente experimento, no qual observou-se crescimento e sobrevivência satisfatórios nas três salinidades testadas. Contudo, a faixa ótima apresentada por Lemos *et al.* (1994) é relativamente ampla, sendo que no presente trabalho observou-se uma tendência a melhor adaptação das larvas a salinidades abaixo da oceânica.

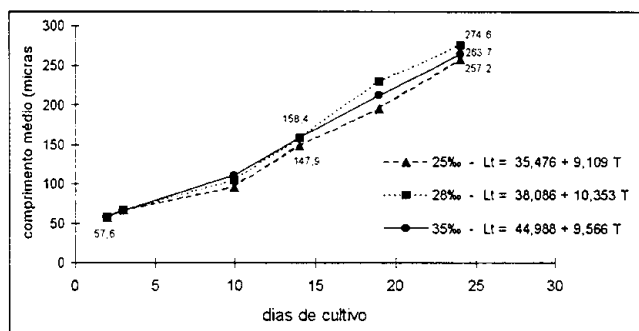


Figura 3 – Crescimento observado das larvas de *Crassostrea rhizophorae*, sob diferentes tratamentos de salinidade.

Larvas de *C. rhizophorae* foram cultivadas com sucesso na Costa Rica em salinidade de 25‰ (Yukihira & Alarcon, 1987), em Trinidad entre 20 e 25‰ (Rampersad & Ammons, 1992) e em Cuba entre 28 e 30‰ (Rodriguez & Frias, 1992). A FIPERJ (1997a) ressalta esse fato afirmando que os melhores resultados obtidos foram com salinidade variando de 24 a 30‰. Com isso, conclui-se que a salinidade na qual se vinha tentando realizar as larviculturas de *C. rhizophorae* no LCMM (36‰) apesar de ser adequada, não é a ideal. Entretanto, deve-se levar sempre em consideração o local onde a população se encontra, uma vez que fatores genéticos e ecológicos podem interferir nos limites de tolerância de salinidade, em diferentes populações da mesma espécie, como bem observaram Newkirk *et al.*, (1977).

A densidade das larvas é considerado outro fator muito importante para se conseguir uma boa produtividade nos cultivos. Davis (1953) e Loosanoff & Davis (1963) realizaram extensos estudos com larvas de moluscos e chegaram a conclusões bem claras sobre o efeito da densidade das larvas. Os últimos autores observaram que existe uma relação inversa entre a taxa de crescimento e a densidade de larvas no cultivo. Porém a sobrevivência não é fortemente afetada. A concentração ótima de cada espécie tem relação direta com a quantidade e qualidade de alimento fornecidas durante o cultivo.

No presente trabalho, três tratamentos com diferentes densidades foram comparados (5, 15 e 30 larvas/ml). O teste de Tukey mostrou diferença significativa (a 5%) entre os três tratamentos para o tamanho das larvas durante todo o período de cultivo. A menor densidade (5 larvas/ml) resultou no melhor crescimento e sobrevivência, enquanto a maior densidade (30 larvas/ml) resultou no pior crescimento e sobrevivência (figuras 5 e 6).

Os resultados de crescimento estão de acordo com o esperado e refletem exatamente o comportamento verificado por Davis (1953). Contudo, os resul-

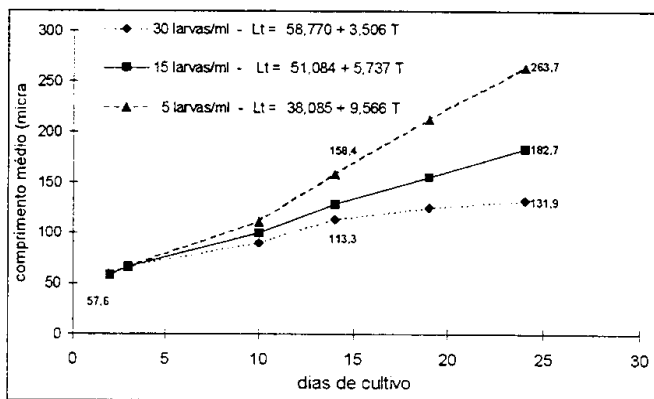


Figura 5 – Crescimento observado das larvas de *Crassostrea rhizophorae*, sob diferentes tratamentos de densidade.

tados de sobrevivência foram diferentes dos encontrados por Loosanoff & Davis (1963). Enquanto esses autores concluíram que o aumento da densidade não influi na sobrevivência, neste trabalho observou-se uma relação direta entre a mortalidade e a densidade larval. O fato de ter sido utilizada a mesma quantidade de alimento nos três tratamentos pode ter sido o responsável pelo resultado. É possível que as larvas nas concentrações mais altas tenham sido subnutridas, o que teria influenciado na sobrevivência e no crescimento dos indivíduos. Loosanoff & Davis (1963), ao depararem-se com o mesmo questionamento, realizaram um segundo experimento ajustando a quantidade de alimento proporcionalmente à densidade de larvas. Os autores observaram que nas maiores densidades houve mortalidade total e concluíram que o aumento proporcional na quantidade de alimento nem sempre é capaz de suportar o aumento na densidade larval. Existem limites de saturação de alimento para cada espécie de molusco, a partir dos quais a taxa de crescimento e sobrevivência começam a cair. Uma menor taxa de crescimento nos cultivos em altas densidade pode ser atribuída a uma maior colisão entre as larvas e aos efeitos prejudiciais da maior concentração de produtos tóxicos excretados pelas mesmas (Loosanoff & Davis, 1963).

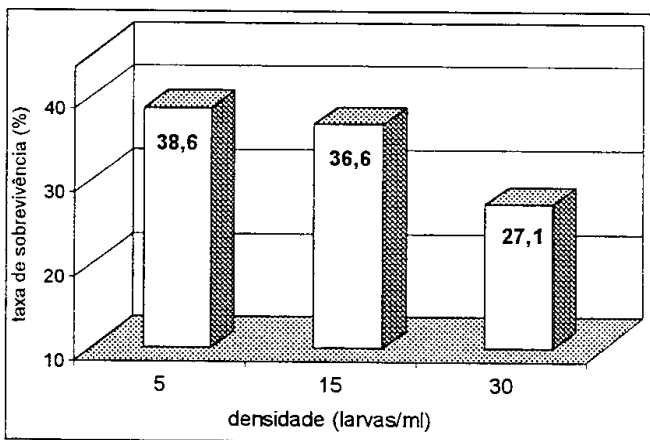


Figura 6 – Sobrevivência final das larvas de *Crassostrea rhizophorae*, sob diferentes tratamentos de densidade.

Millican (1997) recomenda a utilização de densidades entre 8 e 10 larvas/ml para *Pecten maximus* e afirma que maiores densidades de estocagem podem diminuir a taxa de crescimento e a sobrevivência. Loosanoff & Davis (1963) conseguiram cultivar larvas de *M. mercenaria* em concentrações de até 100 larvas/ml, mas os autores também colocam que altas concentrações afetam o crescimento. Para *C. rhizophorae*, Rodriguez *et al.*, (1990) utilizaram densidade inicial de 10 larvas/ml em Cuba, a mesma utilizada por Yukihira & Alarcon (1987) na Costa Rica.

A densidade de estocagem que cada laboratório utiliza é função direta do espaço disponível e dos



custos. Dificuldade em obtenção de água marinha, disponibilidade de sistema de filtragem e capacidade de produção de microalgas são alguns dos fatores que fazem os produtores optarem por uma maior densidade. Sem dúvida, se forem conseguidos os mesmos resultados de produtividade em altas densidades, os custos de produção serão reduzidos. Entretanto, o que tem sido observado é que a utilização de altas densidades pode deteriorar a qualidade da água, causar maiores mortalidades e conseqüentemente tornam o laboratório mais susceptível a contaminações por bactérias. Por isso é recomendável, no início das atividades de cultivo, a utilização de baixas densidades larvais (5 a 10 larvas/ml). Conforme ocorra um ajustamento das técnicas de cultivo para a espécie e as condições do laboratório, pode-se tentar um aumento da densidade como forma de reduzir custos.

Na tentativa de se averiguar a adequação da quantidade de alimento à densidade larval, comparou-se um tratamento com a alimentação padrão utilizada em todo o experimento (tabela II) com um tratamento com o dobro desta alimentação, mantendo-se a mesma densidade em ambos (5 larvas/ml). Não foi observada diferença significativa a 5% entre os dois tratamentos para o crescimento das larvas (figura 7). Entretanto, a mortalidade apresentou diferenças marcantes (Figura 8). Observou-se também, nas três repetições do tratamento com o dobro de alimento, um total de 6 contaminações por *Pseudomonas* durante os cultivos. Rodrigues *et al.*, (1990) afirmam que as densidades de alimentação recomendadas para *C. rhizophorae* em Cuba são em geral mais baixas do que aquelas apresentadas para outras espécies, exatamente para evitar possíveis contaminações por bactérias.

Além da possibilidade de contaminação, o aumento da concentração algal gera uma diminuição na taxa de filtração de larvas de moluscos (Gerdes, 1983). Utilizando concentrações algais de 100, 75 e 50 x 10<sup>3</sup> céls/ml de *Isochrysis galbana*, o autor percebeu que a quantidade de algas consumida por larvas de *C. gigas*

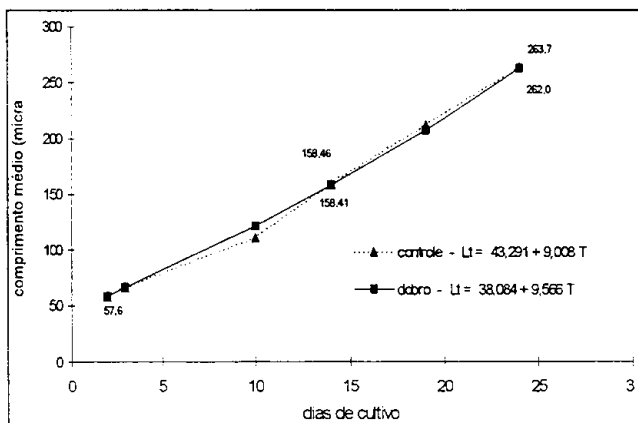


Figura 7 – Crescimento observado das larvas de *Crassostrea rhizophorae*, sob diferentes tratamentos de alimentação.

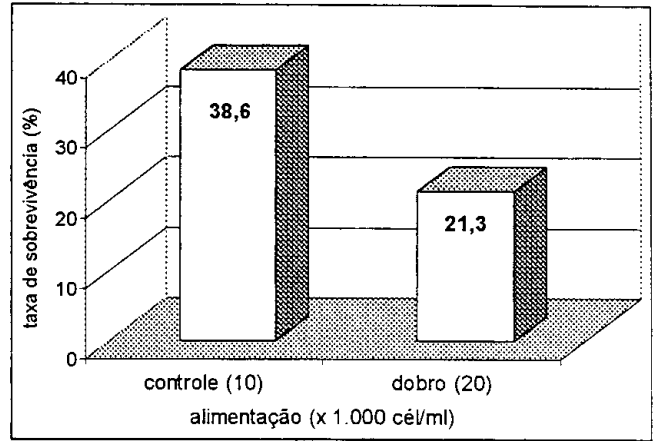


Figura 8 – Sobrevivência final das larvas de *Crassostrea rhizophorae*, sob diferentes tratamentos de alimentação.

foi a mesma nos três casos. Isto é explicado pelas diferenças na taxa de filtração. Em altas concentrações de algas, a larva diminui a taxa de filtração, tornando a assimilação semelhante àquela em baixas concentrações. Cary *et al.*, (1981) também testando três concentrações de *I. galbana* para larvas de *Hinrites multirugosus*, obtiveram um melhor crescimento com a menor concentração algal utilizada e uma maior mortalidade com a maior concentração empregada. Em vista dos resultados do presente trabalho, pode-se concluir que o tratamento com o dobro de alimento ultrapassou os limites de saturação da espécie para as condições do experimento. A contaminação bacteriana também sugere que houve excesso de alimento neste tratamento. A taxa de crescimento das larvas não chegou a diminuir em função do excesso de alimento, porém a baixa sobrevivência mostra que o tratamento com o dobro de alimento foi comprometido como um todo.

Deve-se ressaltar que o modelo de alimentação, utilizado com sucesso neste experimento, apresenta relação direta com a concentração larval (5 larvas/ml) e alterações na densidade larval, também podem e devem ser seguidas de ajustes na densidade de alimento. Contudo, estudos prévios devem ser feitos, porque ambos não guardam uma relação proporcional segundo Loosanoff & Davis (1963). A ostra do mangue, *C. rhizophorae*, necessita de estudos mais aprofundados, visando definir melhor suas necessidades nutricionais, podendo-se com isso melhorar a produtividade em sistemas de cultivo. Contudo, os resultados sobre alimentação apresentados no presente estudo mostram produtividade satisfatória no tratamento controle, estando de acordo com as melhores performances registradas para a espécie, como por exemplo Zayas *et al.*, (1995), que utilizou dieta semelhante.

A produção comercial de larvas de qualquer espécie depende da aplicação em grandes volumes dos conhecimentos adquiridos em escala laboratorial. Este é um processo básico em aquicultura; primeiro conse-

gue-se a viabilidade técnica de produção para depois avaliar-se a viabilidade econômica (Benetti & Feeley, 1998). Para que os resultados de experimentos possam ser utilizados, estes devem ser testados também em maiores escalas como um passo intermediário até a produção comercial. O presente trabalho contou também com 2 larviculturas em 80 litros com larvas provenientes da mesma desova que aquelas utilizadas em todos os tratamentos experimentais. Com exceção da relação entre números de larvas que haviam se fixado por litro de água no final do experimento, os resultados obtidos em escala semi-comercial foram bastante semelhantes à escala experimental. Observou-se uma sobrevivência um pouco superior e um tamanho final maior das larvas nos tanques de 80 litros (tabela III). A fixação das larvas no final do experimento é um bom referencial para análise. Nos tanques de 80 litros as primeiras larvas fixadas foram observadas no 19°. dia, enquanto que em 2 litros elas ocorreram somente no 21°. dia. No 22°. dia de cultivo os tanques com 80 litros já continham uma média de 1800 larvas fixadas.

Tabela III – Resultado do tamanho médio final, sobrevivência e o número de larvas fixadas no final do cultivo em 80 e 2 litros.

Tipos de cultivo	Volume (litros)	Tamanho final das larvas (µm)	Sobrevivência (%)	Larvas fixadas (n°)	Larvas fixadas/litro
Semi-comercial	80	268,4	41,3	1800	22,5
Experimental	2	263,7	38,6	33	16,5

Com base nestes resultados preliminares, pode-se concluir que o cultivo em escala semi-comercial responde de maneira igual ou melhor do que em escala laboratorial. O bom resultado obtido no tratamento controle e repetido no tanque de maior volume constata a viabilidade técnica do cultivo larval de *C. rhizophorae* e a coloca a um passo da viabilidade comercial.

## CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Considerando-se as condições em que o experimento foi realizado e os resultados obtidos com o cultivo larval da ostra do mangue, *Crassostrea rhizophorae*, pode-se concluir que a contaminação por bactérias é provavelmente o maior problema que deve ser levado em consideração na larvicultura. O uso de antibiótico resulta em maior sobrevivência, porém sua utilização deve ser feita com ponderação e se possível evitada. Uma dieta com várias algas é eficiente para um bom crescimento e a quantidade utilizada no tratamento controle mostrou-se adequada. Altas temperaturas favorecem o crescimento de bactérias no cultivo e baixas temperaturas reduzem o

crescimento das larvas. A temperatura de 25°C foi considerada a melhor entre aquelas testadas para o cultivo larval da espécie. A espécie estudada se adapta melhor a salinidades abaixo da oceânica, sendo recomendada salinidade entre 25 e 30‰. Altas concentrações larvais são prejudiciais aos cultivos. Densidades entre 5 e 15 larvas/ml são recomendadas para o início dos trabalhos. O cultivo larval da ostra do mangue é tecnicamente viável em escala laboratorial e semi-comercial, mas estudos sobre a viabilidade econômica precisam ainda ser realizados.

Ao que tudo indica o cultivo da ostra do mangue no Brasil é uma atividade que tende a se desenvolver rapidamente em vários pontos do litoral. Para isso, estudos básicos sobre a fisiologia da espécie devem ser feitos em cada região. O levantamento da possibilidade de captação de sementes em ambiente natural deve ser realizado antes da investida em técnicas de larvicultura, que de uma maneira geral são mais custosas.

Neste momento, um estudo genético das diferentes populações da costa brasileira se faz imprescindível. Isto porque, dados sobre a taxa de crescimento da ostra do mangue no Brasil são muito variáveis, indo desde 6cm em 18 meses (Nascimento, 1983) até 6cm em 5 meses (Singarajah, 1980). Provavelmente existem diferenças marcantes entre as várias populações e é possível até que se esteja trabalhando e comparando espécies diferentes, uma vez que a posição sistemática de *C. rhizophorae* é ainda duvidosa. Muitos autores utilizam a nomenclatura *C. brasiliiana* no Paraná e em São Paulo e Singarajah (1980) defende a descoberta de uma nova espécie de rápido crescimento denominada *C. paraibanensis*. Tais diferenças merecem especial atenção para aquicultura, já que existe esta grande variação nos dados referentes ao tempo de crescimento, fator primordial para o sucesso do cultivo.

Finalmente, é preciso que ocorra um maior desenvolvimento e apoio à atividade de cultivo de ostras no país para que se justifique a produção de sementes em laboratório através da larvicultura. Um estímulo à demanda reprimida do produto, melhores condições higiênicas de comercialização e um plano adequado de marketing são medidas necessárias para o fortalecimento e expansão da atividade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bayne, B. L. Physiological ecology of marine molluscan larvae, p.299-337, in Wilburn, E. (ed.), *The Mollusca*. Academic Press, vol. 3, 1983.
- Benetti, D. D. & Feeley, M. W. *Recent progress in marine fish aquaculture*. Anais do Simpósio Brasileiro de Aquicultura, p. 183-198, Recife, 1998.
- Breese, W. P. & Malouf, R. E. *Hatchery manual for the Pacific oyster*. Oregon State University Sea Grant

- College Program, Publ. No ORESU-H-75-002., 22. p., Corvallis, 1975.
- Brenko, M. H. & Calabrese, A. The combined effects of salinity and temperature on larvae of the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, v. 4, p. 224-226, 1969.
- Calabrese, A. Individual and combined effects of salinity and temperature on embryos and larvae of the coot clam, *Mulinia lateralis*. *Biol. Bull.*, v. 137, n. 3, p. 417-428, 1969.
- Calabrese, A. & Davis, H. C. Tolerances and requirements of embryos and larvae of bivalve molluscs. *Hel. Wiis. Meeres.*, v. 20, p. 553-564, 1970.
- Cary, S. C.; Leighton, D. L. & Phleger, C. F. Food and feeding strategies in culture of larval and early juvenile purple-hinge rock scallops, *Hinnites multirugosus* (Gale). *J. World Maricul. Soc.*, v.12, n. 1, p. 156-169. 1981.
- Cruz, G. M.; Triani, L.; Fonseca, L. Z.; Santos, F. M. & Borges, A. P. *Reprodução e larvicultura da ostra do mangue Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) na Estação de Aquicultura Almirante Paulo Moreira - FIPERJ, Rio de Janeiro. Anais do Simpósio Brasileiro de Aquicultura, p. 278, Recife, 1998.
- Davis, H. C. On the food and feeding of larvae of the American oyster, *C. virginica*. *Biol. Bull.*, v. 104, p. 334-350, 1953.
- Dupuy, J. L. & Rivkin, S. The development of laboratory techniques for the production of cultch-free spat of the oyster *C. virginica*. *Chesapeake Sci.*, v. 13, p. 45-52, 1972.
- Elston, R. A. Prevention and management of infectious diseases in intensive mollusc husbandary. *J. World Maricul. Soc.*, v. 15, p. 284-300, 1984.
- Elston, R. A. *Mollusc diseases*. Washington Seagrant Publ., 71p., Washington, 1990.
- Fagundes, L.; Pereira, O. M.; Henriques, M. B. & Eguchi, J. N. Aspectos econômicos e produtivos na criação de ostra, na região de Cananéia, Estado de São Paulo. *Infor. Econ.*, v. 26, n.4, 1996.
- Fernandes, L. M. B. & Lima, A. M. Possibilidade do cultivo da ostra de mangue, *Crassostrea rhizophorae*, em Pernambuco. *SUDENE, Estudos da Pesca*, n. 5, p. 5-19, 1976.
- FIPERJ. *Manual para iniciação em ostreicultura*.:FIPERJ, 36p., Rio de Janeiro, 1997a.
- FIPERJ. *Reprodução e cultivo da ostra de mangue (Crassostrea rhizophorae)*. FIPERJ, 4 p., Rio de Janeiro, 1997b.
- Gerdes, D. The Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part I. Feeding behavior of larvae and adults. *Aquaculture*, v.31, p. 195-219, 1983.
- Guzenski, J.; Perera, C. & Pereira, A. *Técnicas para indução a desova e reprodução artificial de larvas de ostra do mangue Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). Anais do Simpósio Brasileiro de Aquicultura, p. 295, Recife, 1998.
- Helm, M. M. & Millican, P. F. Experiments in the hatchery rearing of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, v. 11, p. 1-12, 1977.
- His, E.; Robert, R. & Dinet, A. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Biol.*, v. 100, p. 455-463, 1989.
- Holiday, J. E.; Allan, G. L. & Frances, J. Cold storage effects on setting of larvae of the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis*, and the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, v. 92, p. 179-185. 1991.
- Innes, D. J., Halley, L. E. Genetics aspects of larval growth under reduced salinity in *Mytilus edulis*. *Biol. Bull.*, v. 153, p. 312-321, 1977.
- Jeffries, V. E. Three *Vibrio* strains pathogenic to larvae of *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*. *Aquaculture*, v. 29, p. 201-226, 1982.
- Lemos, M. B. N.; Nascimento, I. A.; Araujo, M. M. S.; Pereira, S. A.; Bahia, I. & Smith, D. H. The combined effects of salinity, temperature, antibiotic and aeration on larval growth and survival of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*. *J. Shellfish Res.*, v. 13, n 1, p. 187-192, 1994.
- Lodeiros, C. J. S. Analisis cuantitativo e cualitativo de la flora bacteriana en hatchery de *Ostrea edulis* y su posible relacion com la patogenidad a nivel larvario. *Microb. Acta Cien. Venez.*, v. 39, p. 249-256, 1988.
- Loosanoff, V. L. & Davis, H. C. Rearing of bivalve mollusks, p. 1-136. in Russel, F. S. (ed.), *Advances in marine biology*. Academic Press, v. 1, p 1-136, 1963.
- Millican, P. F. *The hatchery rearing of king scallop (Pecten maximus)*. Lowestoft: CEFAS-MAFF, 40 p. Lowestoft, 1997.
- Nascimento, I. A. Cultivo de ostras no Brasil: problemas e perspectivas. *Ciência e Cultura*, v. 35, n. 7, p. 871-876, 1983.
- Nascimento, I. A. & Lunetta, J. E. Ciclo sexual da ostra do mangue e sua importância para o cultivo. *Bol. Fisiol. Anim.*, São. Paulo, v. 2, p. 63-98, 1978.
- Newkirk, G. F.; Waugh, D. L. & Haley, L. E. Genetics of larval tolerance to reduced salinities in two populations of oysters *Crassostrea virginica*. *J. Fish Res. Board Can.* v. 34, p. 384-387, 1977.
- Pereira, O. M. Evolução da tecnologia de produção de ostra *Crassostrea brasiliiana*, em Cananéia, São Paulo, Brasil, p. 253-330. Anais do Simpósio sobre

- Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira, ACIESP, v.3, p. 235-330, São Paulo, 1987.
- Pereira, O. M.; Akaboshi, S. & Soares, F. C. Cultivo experimental de *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819) no Canal de Bertioga, São Paulo, Brasil. *Bol. Inst. Pesca*, v.15, n. 1, p. 55-65, 1988.
- Perera, C. C. Cultivo de ostion de mangle (*Crassostrea rhizophorae*) en Cuba. Informe Técnico del Ministerio de la Industria Pesquera, 8 p., Havana, 1997.
- Quayle, D. B. Possibilidade para o cultivo de ostras em algumas áreas estuarinas do estado do Ceará. CESO DO BRASIL, 12 p., Fortaleza, 1973.
- Rampersad, J. N. & Ammons, D. R. Production of *Crassostrea rhizophorae* (Guilding) spat from hatchery-reared larvae. *Aquaculture*, v.106, p. 253-260, 1992.
- Rodriguez, J. & Frias, J. A. Tropical mangrove oyster production from hatchery-raised seed in Cuba. *J. Shellfish Res.*, v.11, n. 2, p. 455-460, 1992.
- Rodriguez, J.; Frias, J. A.; Perera, C.; Rubio, R., Felipe, C. L.; Molina, E.; Zayas, C. R. & Morales A. *Manual para el cultivo del ostión Crassostrea rhizophorae Guilding, 1828*. CIP-MIP, 42 p., Havana, 1990.
- Santos, A. E. & Nascimento, I. A. Influence of gamete density, salinity and temperature on the normal embryonic development of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828. *Aquaculture*, v. 47, p. 335-352, 1985.
- Santos, S. M.; Rosa, F. J. S.; Fraga, R. T. & Dias da Silva, A. C. C. Obtenção de sementes e cultivo larval de ostras *Crassostrea rhizophorae* em laboratório. Anais do Simpósio Brasileiro de Aquicultura, p. 181, Recife, 1998.
- Singarajah, K. V. On the taxonomy, ecology and physiology of a giant oyster, *Crassostrea parai-banensis*, new species. *Bull. Mar. Sci.* v. 30, n. 4, p. 833-447, 1980.
- Tan, S. & Wong, T. Effect of salinity on hatching, larval growth, survival and settling in the tropical oyster *Crassostrea belcheri* (Sowerby). *Aquaculture*, v. 145, p. 129-139, 1996.
- Tettelbach, S. T. & Rhodes, E. W. Combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of the Northern Bay scallop *Argopecten irradians irradians*. *Mar. Biol.*, v. 63, p. 249-256, 1981.
- Utting, S. D. & Spencer, B. E. *Culture of bivalve molluscs larvae and juvenile*. MAFF, Fisheries Laboratory Leaflet, Lowestof, n. 68, 1991.
- Utting, S. D. & Millican, P. F. Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstocks and the subsequent effect on egg quality and larval viability. *Aquaculture*, v.155, p. 45-54, 1997.
- Wakamatsu, T. *A ostra de Cananéia e seu cultivo*. SUDELPA, São Paulo, 1973.
- Yukihira, H. & Alarcon, F. A. *Guia ilustrada de produccion artificial de semilla del ostion de mangle a nivel experimental*. CIT-UNA-JOCV, 53 p., San José, 1987.
- Zayas, L. F.; Ortiz, J. L. & Herrera, A. R. *Nuevas experiencias en el cultivo artificial del ostion de mangle (Crassostrea rhizophorae)*. Informe Técnico, p. 8-9, Havana, 1995.