



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS COM ÊNFASE EM CIÊNCIAS  
AMBIENTAIS

**ROBSON PEREIRA DE LIMA**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DA OSTRÁ DO MANGUE *Crassostrea rhizophorae*  
(GUILDING, 1828) EM ÁREA PROTEGIDA**

RECIFE  
2022

**ROBSON PEREIRA DE LIMA**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DA OSTRAS DO MANGUE *Crassostrea rhizophorae*  
(GUILDING, 1828) EM ÁREA PROTEGIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

**Orientador:** Prof. Dr. Gilberto Gonçalves Rodrigues

**Coorientador:** MSc. Ivo Raposo Gonçalves Cidreira Neto

RECIFE

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

de Lima, Robson Pereira.

Biologia Reprodutiva da ostra do mangue *Crassostrea rhizophora*  
(GUILDING, 1828) em área protegida / Robson Pereira de Lima. - Recife,  
2022.

50 : il., tab.

Orientador(a): Gilberto Gonçalves Rodrigues

Cooorientador(a): Ivo Raposo Gonçalves Cidreira Neto

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de  
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas /Ciências  
Ambientais - Bacharelado, 2022.

Inclui referências, apêndices.

1. Histologia. 2. Reprodução. 3. Bivalves. 4. Biologia reprodutiva da *C.*  
*rhizophora* . I. Rodrigues, Gilberto Gonçalves. (Orientação). II. Cidreira Neto, Ivo  
Raposo Gonçalves. (Coorientação). III. Título.

570 CDD (22.ed.)

**ROBSON PEREIRA DE LIMA**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DA OSTRÁ DO MANGUE *Crassostrea rhizophorae*  
(GUILDING, 1828) EM ÁREA PROTEGIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Gilberto Gonçalves Rodrigues (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Sônia Pereira Leite (Examinadora)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Dra. Sandrine Maria de Arruda Lima (Examinadora)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Prof. Dr. Gilberto Nicácio Batista (Suplente)  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Dedico este trabalho à minha família, que sempre me deram total suporte em meio a tanta adversidade. Amo vocês incondicionalmente.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria imensamente de agradecer minha família que me deu muito suporte durante toda essa trajetória acadêmica, me incentivando a dar continuidade para que eu pudesse chegar até a reta final. Deixo aqui registrado seus nomes: Dona Luzinete (mãe), Cícero (pai), Rosângela (mana) e minha sobrinha Bella Caetano.

Agradeço a oportunidade que a Universidade Federal de Pernambuco proporcionou, dando-me um ensino de alta qualidade com ótimos profissionais. Uma instituição pública séria, que merece ser valorizada e respeitada.

Ao laboratório ARRE Água deixo meus sinceros agradecimentos. Foram ótimas vivências ao lado de pessoas lindas que compartilharam seus conhecimentos e tive o privilégio de fazer parte desse time. Aprendi um pouco com cada um e isso levarei comigo para sempre. Deixo aqui registrado um enorme abraço para: Rafael, Tulíbia, Marília, Carlos, Neto, Bruninha, Géssica, Renilson, Gilzito, Sandrine e tantos outros que passaram por essa estrada.

Ao meu professor e orientador Gilberto Rodrigues, meu muitíssimo obrigado, por me aguentar e literalmente me ensinar desenhando quando o assunto não entrava na minha cabeça. Por usar meu universo musical como ferramenta para entender a lógica da pesquisa e de fato, tá tudo interligado. Ele me mostrou que um profissional de verdade nem sempre precisa seguir uma cartilha e sim entender como o outro funciona para poder ajudá-lo da melhor forma.

E esse camarada que vou falar agora foi uma revelação para mim. Um ser que não aparenta, mas tem um coração gigante. Finge ser antissocial, mas é só aparência. Falo do meu outro orientador Ivo Raposo. Ivo, eu só tenho que te desejar um caminho repleto de boas conquistas e se possível, quase nada de sofrimento, porque já deu né?! Muito obrigado de verdade por me encorajar a seguir adiante.

“Era um ser minúsculo saltitando bem mais rápido que a vida  
E seu destino mal pintado, estacionado ao meio-fio  
Mas que cruel é o vai e vem de quem me vê e quem me viu”

Robson Faro, 2021

## RESUMO

A ostra *Crassostrea rhizophorae* (GUILDING, 1828) ou ostra do mangue, como é popularmente conhecida, é um bivalve de importante interesse comercial e vem a ocorrer praticamente em todo litoral nordeste do Brasil. O referido trabalho traz como objetivo analisar a biologia reprodutiva do *C. rhizophorae* – organismos hermafroditas, em área protegida. As coletas dos organismos foram feitas nos meses de maio e novembro de 2021, respectivamente em um período chuvoso e outro seco, na Ilha dos Cachorros no Estuário do rio Goiana, Pernambuco, Brasil, área pertencente a Reserva Extrativista Marinha (RESEX) Acaú-Goiana, para realização de biometria e histologia das gônadas. As amostras de tecidos passaram por um procedimento histológico, que inclui uma desidratação sequencial e crescente de álcool. Na sequência, os tecidos foram diafanizados em xilol e por fim impregnados em parafina. A preparação histológica foi corada em Hematoxilina de Harris e Eosina, seguindo as técnicas rotineiras histológicas, para posterior análise em microscópio óptico de luz. Houve predominância de fêmeas em ambos os meses de coleta. 62% de fêmeas predominaram sobre 38% dos machos no mês de maio e 69% de fêmeas sobre 31% dos machos em novembro de 2021, sendo a razão sexual de 0,62 e 0,69 para o período de maio e novembro respectivamente. Foram observados três estágios foliculares para organismos machos: Pré-maturação → maturação → maturo. O estágio de Pré-maturação mostrou-se com o menor tamanho de área em relação aos demais folículos. O estágio de Maturação apresentou um maior tamanho no mês de novembro em comparação a maio. Nos folículos femininos, quatro estágios de maturação estavam presentes: Pré-maturação → maturação → maturo → desova. Não houve presença de estágio de maturação para o mês de novembro. As células reprodutivas de fêmeas da *C. rhizophorae* apresentaram aumento em tamanho de área observados a partir do seu processo de maturação celular, de acordo com a sequência de maturação: ovogônia → pré-vitelogênico → vitelogênico → maduro. A reprodução de *C. rhizophorae* na Ilha dos Cachorros ocorre modo intermitente, com predominância de fêmeas.

**Palavras-chave:** bivalve; reprodução; histologia; reprodução.

## ABSTRACT

The oyster *Crassostrea rhizophorae* (GUILDING, 1828) or mangrove oyster, as it is popularly known, is a bivalve of important commercial interest and occurs practically throughout the northeast coast of Brazil. This work aims to analyze the reproductive biology of *C. rhizophorae* - hermaphroditic organisms, in a protected area. The collections of organisms were carried out in May and November 2021, respectively in a rainy and dry season, on Ilha dos Cachorros in the Goiana River Estuary, Pernambuco, an area belonging to the Marine Extractive Reserve (RESEX) Acaú-Goiana, to biometry and histology of the gonads. The tissue samples underwent a histological procedure, which includes a sequential and increasing alcohol dehydration. Subsequently, the tissues were diaphanized in xylene and finally impregnated in paraffin. The histological preparation was made in Harris Hematoxylin and Eosin, following the rules set forth in the Routine Histological Technique Manual and staining, for further analysis under an optical light microscope. There was a predominance of females in both months of collection. 62% of females predominated over 38% of males in May and 69% of females over 31% of males in November 2021, with a sex ratio of 0.62 and 0.69 for the period of May and November respectively. Three follicular stages were observed for male organisms: Pre-maturation → maturation → mature. The Pre-maturation stage showed the smallest area size in relation to the other follicles. The Maturation stage presented a larger size in the month of November compared to May. In female follicles, four stages of maturation were present: Pre-maturation → maturation → mature → spawning. There was no presence of the maturation stage for the month of November. The reproductive cells of *C. rhizophorae* females showed an increase in area size observed from their cell maturation process, according to the maturation sequence: oogonia → pre-vitellogenic → vitellogenic → mature. Reproduction of *C. rhizophorae* on Ilha dos Cachorros occurs intermittently, with a predominance of females.

**Keywords:** bivalve; reproduction; histology; reproduction.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1</b> – Representação esquemática do ciclo reprodutivo da <i>Crassostrea rhizophorae</i> .....	17
<b>FIGURA 2</b> – (A) Mapa com os limites territoriais brasileiro, (B) Limites entre o estado de Pernambuco e Paraíba, (C) Demarcação da Reserva Extrativista Acaú-Goiana, mostrando a Ilha dos Cachorros como ponto de coleta.....	20
<b>FIGURA 3</b> – (A) Ponto de coleta; (B) Raíz da <i>Rhizophorae</i> mangle repleta de ostras; (C) Ostras removidas da raíz; (D) Cracas encrustadas na ostra <i>C. rhizophorae</i> ; (E) Separação das ostras por tamanho de concha .....	21
<b>FIGURA 4</b> – Comprimento da concha (CC).....	22
<b>FIGURA 5</b> – (A) Preparação para secção trnsversal; (B) Cassete histológico com amostras seccionadas .....	23
<b>FIGURA 6</b> – Esquematização dos processos de desidratação, diafanização e impregnação das amostras.....	24
<b>FIGURA 7</b> – (A) Resfriamento dos cubos de parafina; (B-C) Iniciação dos cortes realizados com micrôtom; (D) Banho maria histológico; (E) Amostra sendo pescada; (F) Lâmina com identificação já com o material pescado .....	25
<b>FIGURA 8</b> – (A) Placa aquecedora; (B) Berço em vidro para as lâminas; (C) Primeira etapa para a coloração com Hematoxilina; (D) Segunda etapa para coloração com Eosina amarelada .....	26
<b>FIGURA 9</b> – (A) Montagem das preparações histológicas com HE; (B) Utilização da Axincam erc5s acoplada ao microscópico para realização da fotomicrografia... ..	27
<b>FIGURA 10</b> – Variação de temperatura e salinidade. ....	28
<b>FIGURA 11</b> – Variação média de oxigênio dissolvido e pH entre os meses de coleta. ....	29
<b>FIGURA 12</b> – Proporção macho (M) e fêmea (F).....	30
<b>FIGURA 13</b> – Estágios foliculares masculino de <i>C. rhizophorae</i> : Pré-maturação (PM); Maturação (MA); Maduro (MT).....	32
<b>FIGURA 14</b> – Estágios foliculares femininos de <i>C. rhizophorae</i> : Pré-maturação (PM); Maturação (MA); Maduro (MT) e Desova (DE).....	33
<b>FIGURA 15</b> – Células reprodutivas femininas da <i>C. rhizophorae</i> em diferentes estágios de maturação: F – Folículo; O – Ovogônia; OM – Ovócito maduro; OV – Ovócito Vitelogênico; OP – Ovócito Pré-vitelogênico .....	33

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> – Sexação dos organismos, machos (M) e fêmeas (F), coletados nos meses de maio (período chuvoso) e novembro (período seco) .....	31
<b>TABELA 2</b> – Folículos masculinos nos seguintes estágios de maturação para os meses de maio e novembro: Pré-maturação, Maturação e Maduro .....	31
<b>TABELA 3</b> – Folículos femininos nos seguintes estágios de maturação para os meses de maio e novembro: Pré-maturação, Maturação, Maduro e Desova .....	32
<b>TABELA 4</b> – Estágios celulares em diferentes processos de maturação observados em organismos coletados em maio (período chuvoso) e novembro (período seco) de 2021 .....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APAC	Agência Pernambucana de Águas e Clima
CC	Comprimento da Concha
°C	Grau Celsius
H	Hipótese
ICMBIO	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis
µm	Micrômetros
mm	Milímetros
P	Ponto
PA	Paraíba
PE	Pernambuco
SNUC	Sistema Nacional de Unidades de Conservação
UC	Unidade de Conservação
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
RESEX	Reserva Extrativista

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
ECOSSISTEMA MANGUEAL .....	14
<i>Crassostrea rhizophorae</i> (GUILDING, 1828) .....	15
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
<b>4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS</b> .....	<b>20</b>
4.1 ÁREA DE ESTUDO .....	20
4.2 COLETA DOS ESPÉCIMES.....	21
4.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	22
4.4 ANÁLISE DE DADOS .....	28
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
5.1 RAZÃO SEXUAL .....	31
5.2 ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO FOLICULAR .....	32
5.3 ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO CELULAR.....	34
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>37</b>
<b>APÊNDICI A - ESTÁGIOS E MEDIÇÕES DAS ÁREAS EM MICRÔMETROS DOS FOLÍCULOS MASCULINOS (MAIO/2021)</b> .....	<b>43</b>
<b>APÊNDICE B – ESTÁGIOS E MEDIÇÕES DA ÁREA EM MICRÔMETROS DOS FOLÍCULOS FEMININOS (MAIO/2021)</b> .....	<b>44</b>
<b>APÊNDICE C – ESTÁGIOS E MEDIÇÕES DA ÁREA EM MICRÔMETROS DAS CÉLULAS REPRODUTIVAS DE FÊMEAS (MAIO/2021)</b> .....	<b>45</b>
<b>APÊNDICE D – ESTÁGIOS E MEDIÇÕES DA ÁREA EM MICRÔMETROS DOS FOLÍCULOS DE MACHOS (NOVEMBRO/2021)</b> .....	<b>47</b>
<b>APÊNDICE E - ESTÁGIOS E MÉDIÇÕES EM MICRÔMETROS DOS FOLÍCULOS FEMININOS (NOVEMBRO 2021)</b> .....	<b>48</b>
<b>APÊNDICE F - ESTÁGIOS E MEDIÇÕES EM MICRÔMETROS DAS CÉLULAS REPRODUTIVAS FEMININAS (NOVEMBRO/2021)</b> .....	<b>49</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### ECOSSISTEMA MANGUEZAL

O ecossistema manguezal são ambientes costeiros de transição entre espaços terrestres e marinhos, com características de regiões tropicais e também subtropicais, favorecendo a formação de sedimentos formados a partir de áreas lamosas, arenosas ou argilosas, influenciados pela vazão do rio e pela dinâmica das marés (SCHAEFFER-NOVELLI, 2002). A autora comenta também que a distribuição desses ecossistemas ao longo da costa brasileira é descontínua, e pode apresentar características típicas, dependendo do perfil da linha de costa, frequência e amplitude das marés.

O manguezal agrega diversos serviços ecossistêmicos, como viveiros naturais para o desenvolvimento de uma significativa variedade de flora e fauna, a proteção de zonas costeiras, além de serem áreas propícias para prática do ecoturismo e educação ambiental (MEDEIROS; CARVALHO; PIMENTA, 2014). Este ecossistema tem importantes funções ecológicas, pois fornece abrigo para espécies de peixes e crustáceos além de fornecer alimento e oportunidades de nidificação para a fauna aérea, (KATHIRESAN e BINGHAM, 2001). Ajudam a manter a biodiversidade nas áreas costeiras e protegem as linhas costeiras, prevenindo ou mitigando a erosão e a sedimentação em corpos d'água adjacentes. São também fonte de alimentos e diversos produtos relacionados à subsistência das comunidades tradicionais que vivem em seu entorno (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995)

Esse ecossistema possui elevada deposição de serapilheira, que contribui para a produção de matéria orgânica nos manguezais e habitats adjacentes, colaborando com as teias alimentares e a transferência de energia (VANNUCI, 2001). Também há processos biológicos importantes como o acúmulo de raízes, deposição de serapilheira já mencionada, restos lenhosos e captura de sedimentos por manguezais e tapetes de algas, criando condições adequadas de desenvolvimento para espécies comercialmente valiosas, como camarões, peixes e moluscos (KRAUS et al., 2014).

Os manguezais são considerados importantes conversores de nutrientes em matéria orgânica e produtores de bens e serviços, como também são considerados berçários naturais para uma grande variedade de espécies que abarca desde ambientes marinhos e dulcícolas, passando por estuários e ambientes terrestres, sendo locais de reprodução, santuário e alimentação de inúmeras espécies (SCHAEFFER-NOVELLI 1995). Os manguezais são considerados um ecossistema marginal porque as espécies vegetais e animais que os habitam estão muito próximas do limite de tolerância a condições ambientais extremas e, portanto, são considerados um ambiente único (VANNUCCI, 2001). Para o Brasil, os tipos de mangue mais comuns encontrados são o mangue-branco (*Laguncularia racemosa*), o mangue-preto (*Avicennia shaueriana*) e o mangue-vermelho (*Rhizophora mangle* L.) (PEIRÓ, SALMAZO e SEMPREBOM 2018).

A *R. mangle* pode ser considerada uma espécie generalista, com relevante importância ambiental e econômica nas zonas tropicais, (DEYOE et al., 2020). O habitat característico de *R. mangle*, está nas franjas da zona intertidal ao longo das costas tropicais e subtropicais, onde ela se predomina (NASCIMENTO, 1991). Entretanto, pode ser encontrado em estuários, bancos de maré e lagoas com salinidade elevada secas e estagnadas (CHEN e TWILLEY, 1999; FARNSWORTH e ELLISON, 1996).

### ***Crassostrea rhizophorae* (GUILDING, 1828)**

A ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) é utilizada para o consumo humano e possui uma ampla distribuição por toda a extensão da costa oeste tropical do Oceano Atlântico que vai do Caribe até o Brasil (AGUIRRE-RUBÍ et al., 2018). Dentre as ostras do Brasil, duas espécies se destacam pelo interesse econômico relacionado à sua exploração comercial: *Crassostrea brasiliiana* e *C. rhizophorae*. Essas espécies, comumente chamadas de ostras de mangue, são exploradas pela extração de animais das margens naturais dos rios ou pelo cultivo de suas larvas e constituem uma importante alternativa econômica às populações tradicionais costeiras (Pereira et al., 2001).

As ostras-do-mangue, como é popularmente conhecida, se distribui por toda a costa brasileira habitando as regiões de manguezal em enseadas, baías e estuários, fixando-se em rochas e substratos consolidados (RIOS, 1994). Nos manguezais, encontra-se geralmente fixas aos rizóforos do mangue vermelho, *Rhizophora mangle*, ocupando a região entremarés (MATTOX, 1949; BACON, 1971; NASCIMENTO, 1983), principalmente em áreas com alta salinidade.

Ao se fixar, é realizado seu assentamento por meio da liberação de uma substância contida na glândula do bisso chamada cimento (WAKAMATSU, 1973), tornando-se sésseis, fazendo com que sua fixação seja de forma definitiva ao substrato escolhido, formando assim um conjunto natural (ANDREWS, 1979). No decorrer de sua transformação, desaparecerá o velum, o pé será reabsorvido, finalizando sua fase larval (CHRISTO, 2006). A *Crassostrea*, assim como outros bivalves, tem seus corpos formados por duas valves, conhecidas como conchas, que estão conectadas por articulações, formadas por ligamentos, de elastina e proteína secretadas pelo manto desses moluscos (WAKAMATSU, 1973).

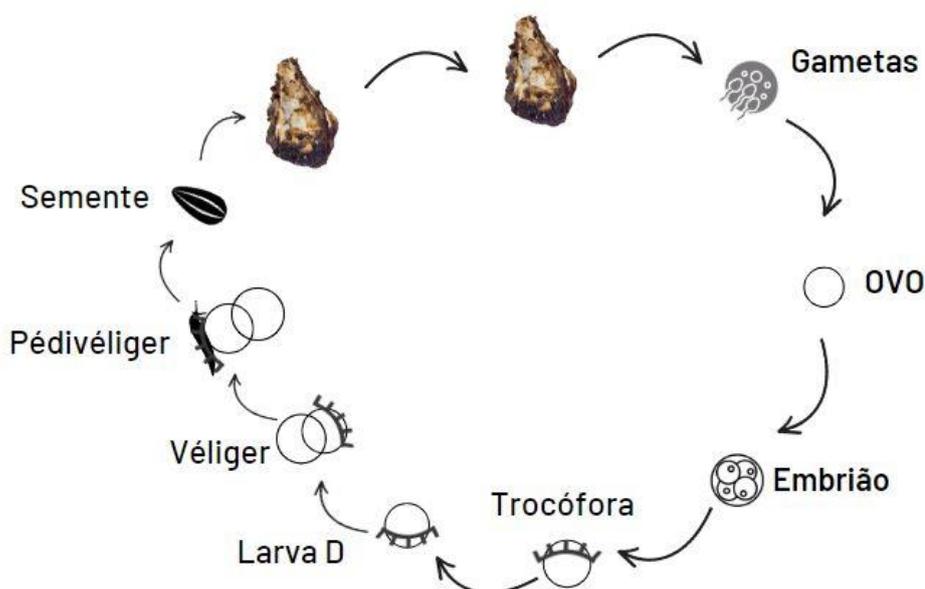
A concha das ostras do gênero *Crassostrea* possuem uma estrutura moderadamente fina, dispendo de uma valva direita em maior proporção e côncava, enquanto que a parte esquerda irá se conectar a ela através do único músculo adutor presente, localizado nas imediações do dorso da concha (GALTSOFF, 1964; COSTA, 1985). O sistema reprodutivo das ostras é bastante simples, consiste em um sistema de túbulos ou folículos envolvidos por tecido conjuntivo, para machos e fêmeas, respectivamente (GOSLING, 2003). Pinto (2012) e Nascimento et al., (2018) descrevem os moluscos como excelentes indicadores biológicos, porque são organismos que atuam como filtros para a matéria orgânica dissolvida na água.

Esses bivalves possuem uma importância econômica, isso se deve pelo estimado valor alimentício de sua carne, além da utilização de sua concha, matéria prima que serve para elaboração de produtos tanto industriais como medicinais (WAKAMATSU, 1973). Ainda segundo o autor, a ostra é tida como um organismo de alto nível nutricional, em razão da quantidade de minerais, vitaminas e proteínas.

A fecundação e o desenvolvimento das larvas vêm a ocorrer na água, com liberação em cerca de 30 a 50 milhões de ovos. Cada ovo vai sofrer clivagem e em

um período 24h irá originar a larva “D”, no 14º dia perderá este formato e passa a denominar-se véliger. No estágio pé-de-véliger, quando o pé se encontra bem desenvolvido as ostras procuram um substrato adequado, rochas ou raízes de plantas (mangue) e ou substratos consolidados (rochas), para fixação e continuar a metamorfose. Este ciclo dura um total de 21 dias (LIMA, 2015). As *Crassostreas* são hermafroditas sequências, não possuindo dimorfismo sexual, esses organismos podem expressar um ou outro sexo e se alternam dependendo da idade e das condições ambientais predominantes.

**Figura 1** – Representação esquemática do ciclo reprodutivo da *Crassostrea rhizophorae*.



Fonte: Adaptado de Lima, 2015.

Estudos realizados em unidades de conservação indicam que o uso de recursos naturais ou pesqueiros, necessitam de conhecimento empírico e do conhecimento ecológico local e/ou tradicional para o desenvolvimento de técnica e/ou manejo dos usos destes organismos (RODRIGUES et al. 2017), principalmente para a realização de planos de manejo e acordos de gestão entre os beneficiários das UCS. A Reserva Extrativista Ácaú-Goiana (RESEX) é uma UC de uso sustentável, que

apresenta seis comunidades de pescadores e pescadoras que atuam junto do Conselho Gestor da UC (LIMA, RODRIGUES & SELVA, 2016).

A problemática é que ainda não se tem estudos previstos para a elaboração do plano de manejo na Unidade de Conservação RESEX Acaú-Goiana para entender como esses organismos estão se reproduzindo no local (sazonalidade) e quando ocorre a primeira reprodução destes, a fim de não interferir na dinâmica populacional dos indivíduos. Conseqüentemente é necessário que se determine medidas de tamanho adequadas para coleta/captura dessas espécies, seja para o próprio consumo ou comercialização.

Este estudo tem como hipótese que a reprodução do *C. rhizophorae* é influenciada positivamente pela sazonalidade, ou seja, na estação chuvosa os organismos investem mais metabolismos para a maturação de suas células reprodutivas. Assim temos:

H0: A sazonalidade caracterizada não tem influência na determinação dos sexos dos organismos;

H1: O período chuvoso influencia positivamente nos tamanhos dos folículos e célula reprodutivas da *C. rhizophorae*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a biologia reprodutiva do *Crassostrea rhizophorae* em área protegida.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a sexação dos organismos coletados nos meses de maio (período chuvoso) e novembro (período seco);
- Determinar os estágios reprodutivos dos folículos da *C. rhizophorae*;
- Caracterizar as células reprodutivas de fêmeas, a partir da análise histomorfométrica.

## 4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

### 4.1 ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo foi a Reserva Extrativista Acaú-Goiana (RESEX), sendo uma Unidade de Conservação (UC) federal, unidade essa, inserida no Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC) lei federal 9.985/2000 (BRASIL, 2000) e pertencente ao grupo de uso sustentável (ICMBio, 2020).

As áreas da Reserva Extrativista, são utilizadas por comunidades tradicionais, em outras palavras, são pessoas que usufruem da terra para sua subsistência, através dos recursos naturais que ali estão, mas além desse fator, a criação de uma UC, visa a proteção do modo de vida desses povos, dando-lhes continuidade à manutenção de sua cultura, ancestralidade e economia (ICMBio, 2021).

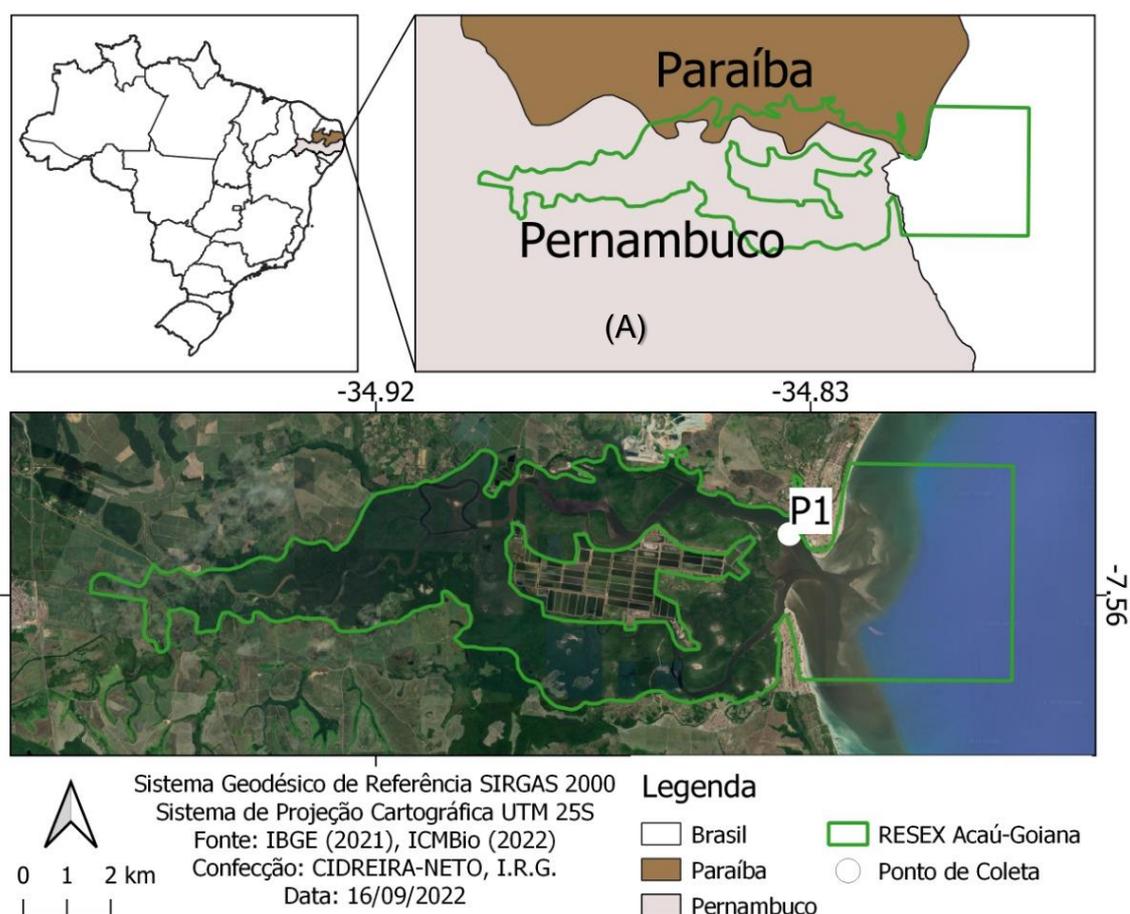
A área adotada para estudo pertence a Reserva Extrativista Marinha (RESEX) Acaú-Goiana, que foi criada por meio de um decreto em 26 de setembro de 2007 (BRASIL 2007). Situada entre o Estado de Pernambuco - PE, no município de Goiana e o Estado da Paraíba - PB, nos municípios de Pitimbu e Caaporã no Nordeste do Brasil (FADIGAS; GARCIA, 2010), a RESEX possui uma área de aproximadamente 6.676,69 ha (ICMBio, 2021).

A área escolhida para realização do estudo, abrange o estuário situado no rio Goiana e de acordo com a Agência Pernambucana de Águas e Climas - APAC (2021), o referido rio, possui uma extensão aproximada de 18 km que vai até a foz do Oceano Atlântico, apresentando um regime fluvial intermitente, ou seja, quando em tempos de chuva, irá apresentar água em seu curso, mas nos períodos de estiagem, há um desaparecimento temporário de suas águas. O Rio Goiana está localizado em uma área marinha protegida, a RESEX Acaú-Goiana, área de proteção ambiental que é gerida pelo ICMBIO (Instituto de Conservação da Biodiversidade Chico Mendes). A Resex Acaú-Goiana abrange 6.678 hectares e está dividida em três municípios, Goiana-PE, Pitimbu-PB e Caaporã-PB, com a maior parte de seu perímetro incluindo a área estuarina (FADIGAS, 2020).

## 4.2 COLETA DOS ESPÉCIMES

Os organismos foram coletados nos meses de maio e novembro de 2021, correspondentes respectivamente a uma estação chuvosa e seca. O ponto de aquisição das amostras fica na Ilha dos Cachorros, em região de estuário, nas coordenadas 7°32'54"S e 34°50'09"W (Figura 1).

**Figura 2** - (A) Mapa com os limites territoriais brasileiro; (B) Limites entre o estado de Pernambuco e Paraíba; (C) Demarcação da Reserva Extrativista Acaú-Goiana, mostrando a Ilha dos Cachorros como ponto de coleta.



A coleta ocorreu durante a maré baixa, facilitando desse modo, a aquisição do *C. rhizophorae*. Foi necessário realizar o corte da raiz da espécie *Rhizophorae mangle* para a obtenção dos organismos. Logo em seguida, houve a remoção das ostras que estavam aderidas ao substrato, como também a retirada da fauna incrustante que se encontrava nos exemplares. Em seguida foi realizado a separação das ostras por tamanho (Figura 3).

Foi realizada aferição de Temperatura (C°), Salinidade e Oxigênio Dissolvido (mg/L) no ponto de coleta, utilizando uma sonda multiparâmetros para obtenção desses valores, dessa maneira, foi possível observar as variáveis da água.

**Figura 3** - (A) Ponto de coleta; (B) Raiz da *Rhizophorae mangle* repleta de ostras; (C) Ostras removidas da raiz; (D) Cracas encrustadas na ostra *C. rhizophorae*; (E) separação das ostras por tamanho da concha.



Fonte: CIDREIRA-NETO

#### 4.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Todas as coletas realizadas nos meses de maio e novembro foram fixadas em Solução Davidson, composto por álcool, formaldeído e ácido acético. Em seguida os organismos passaram por medição morfométrica da concha. Após 24 horas, foram transferidas para solução de álcool 70%, contendo em cada recipiente, dois organismos de cada tamanho morfométrico e lá permaneceram até que fosse iniciado o protocolo de análise histológica.

**Figura 4** - Comprimento da concha (CC)

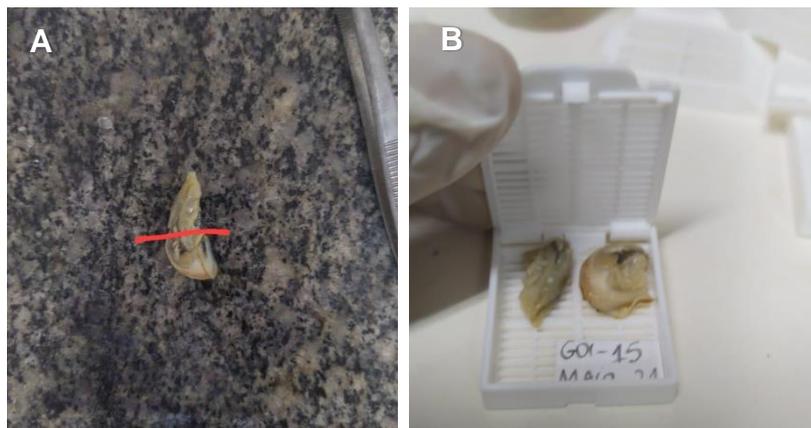


Fonte: Robson Lima (2022)

Os procedimentos histológicos foram executados no Laboratório de Histotécnica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no departamento de Histologia e Embriologia do Centro de Biociências, seguindo as normas que trata o Manual de Técnica Histológica de Rotina e Colorações, proposto por SANTOS et al., (2021).

A primeira etapa foi a de secção transversal dos indivíduos (Figura 5A), com o objetivo não só de reduzir o tamanho do material biológico que seria analisado, facilitando a ação do fixador e evitando a autólise, mas também de analisar a localização das gônadas. Em seguida, o material foi acondicionado em cassetes histológicos identificados (Figura 5B).

**Figura 5** – (A) Preparação para secção transversal; (B) Cassete histológico com as amostras seccionadas.



Fonte: Robson Lima (2022)

O processo de emblocamento em parafina do material histológico é iniciado pela desidratação das amostras, quando ocorre então a retirada da água dos tecidos através da substituição por álcool etílico. Para cada etapa crescente de álcool, uma hora de banho.

Em sequência, o material foi diafanizado com a substituição do álcool, agora presente nos tecidos, por xilol, solvente que é ao mesmo tempo miscível em álcool e parafina. Nesta etapa, as amostras ficam uma hora em cada banho de xilol. E por fim, na impregnação, a última etapa desse processo, o xilol é substituído por parafina fundida a 60°C, necessitando de uma hora para cada banho de parafina (Figura 6).

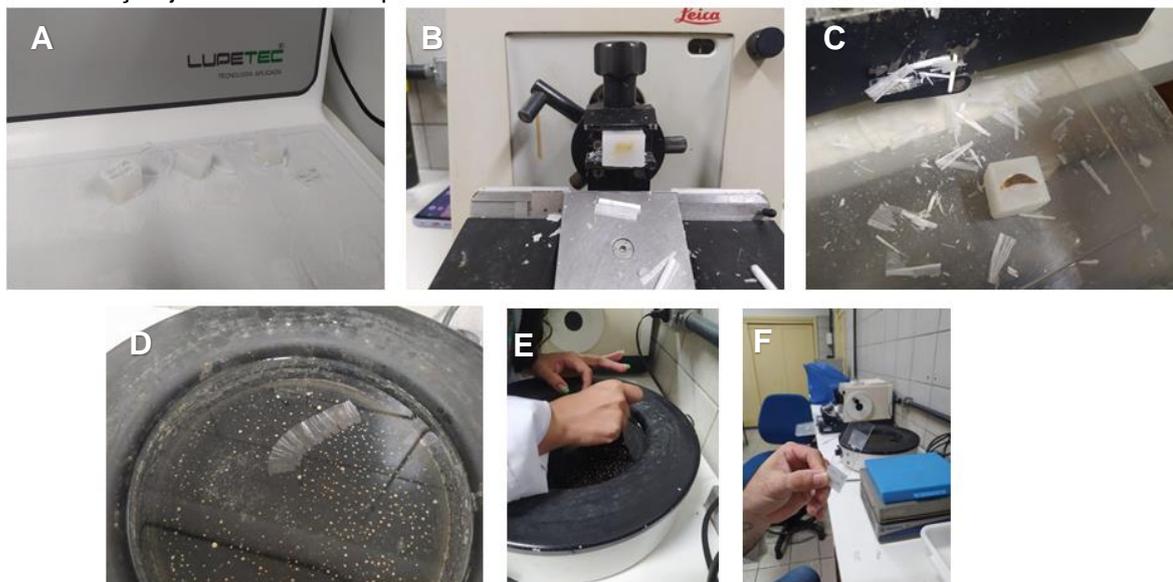
**Figura 6** – Esquemática dos processos de desidratação, diafanização e impregnação das amostras



Fonte: Robson Lima (2022)

Antes de ser colocado no equipamento para o corte, o bloco de parafina precisa estar resfriado, isso fará com que a parafina endureça mais e também deixará úmido a superfície do tecido. Esse resfriamento aconteceu colocando os blocos na Placa Refrigerada PR2010 (Figura 7A). A microtomia (Figura 7B-7C), realizada no experimento, teve como resultado cortes com espessura de 5  $\mu\text{m}$ , o que facilita a passagem de luz pelo material ao ser analisado pelo microscópio. Após a obtenção das finas amostras, elas foram levadas ao banho-maria histológico (Figura 7D), com o auxílio de uma pinça à temperatura média de 40°C a 50°C, cuja finalidade é o estiramento das fitas de parafina sobre a água destilada, evitando a formação de possíveis dobras no tecido. Na sequência, os cortes foram pescados (Figura 7E) com lâminas previamente limpas e identificadas (Figura 7F).

**Figura 7**– (A) Resfriamento dos cubos de parafina; (B-C) Iniciação dos cortes realizados com o micrótomo; (D) Banho maria histológico; (E) Amostra sendo pescada; (F) Lâmina com identificação já com o material pescado.



Fonte: Robson Lima (2022)

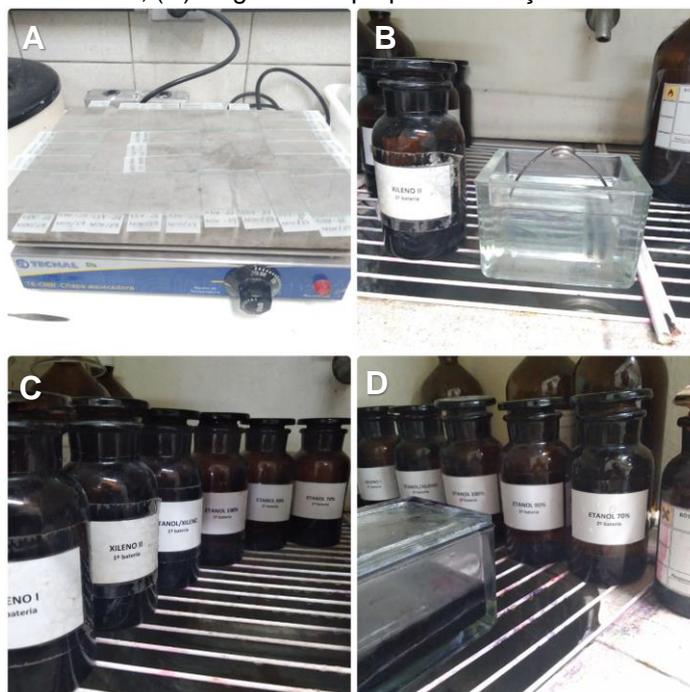
Como as seções de parafina não possuem cor, nesta fase de elaboração, as amostras, elas ainda não estavam adequadas para microscopia de luz. Por esse motivo, primeiramente foram aquecidas por alguns segundos em uma chapa aquecedora TE-0181 da Tecnal (Figura 8A).

As lâminas com as amostras, foram colocadas em berços de vidro (Figura 8B) e passaram por um processo de reidratação, tendo início com dois banhos de xilol com um tempo de 10 minutos cada, e em seguida, uma série de soluções de álcool em concentrações decrescentes, finalizando essa etapa mergulhando as lâminas em água por um tempo de 5 minutos.

Uma vez que a parafina foi dissolvida e removida, as amostras foram coradas com hematoxilina, pelas suas propriedades básicas a hematoxilina vai corar os ácidos nucleicos que existem no núcleo, nesse processo, as amostras permaneceram mergulhadas por um período de 4 minutos (Figura 8C). Em seguida, as lâminas foram lavadas em água destilada para remoção do excesso de hematoxilina e coradas com a eosina amarelada, um corante ácido que cora os principais componentes básicos do citoplasma, por um tempo de 7 minutos. Finalizando essa etapa de coloração, as

lâminas foram banhadas em uma sequência crescente de álcool, após esse processo, permanecerem mergulhadas em xilol para montagem das mesmas (figura 8D).

**Figura 8** – (A) Placa aquecedora; (B) Berço e, vidro para as lâminas; (C) Primeira etapa para coloração com Hematoxilina; (D) Segunda etapa para coloração com Eosina amarelada.



Fonte: Robson Lima (2022)

A montagem foi realizada com lamínulas fixadas em resina Entellan (Merk) (Figura 9A). Já finalizado todo processo de preparação das amostras, aguardaram até a resina fixar bem e foram guardadas em um porta lâminas para serem analisadas por microscopia.

A etapa final consistiu em fotomicrografar os folículos e células dos organismos utilizando a Axincam erc5s acoplada ao microscópio, obtendo as imagens através do software axiovision rel.4.8 (Figura 9D).

**Figura 9**– (A) Montagem das preparações histológicas com HE; (B) Utilização da Axincam erc5s acoplada ao microscópio para realização da fotomicrografia.



Fonte: Robson Lima (2022)

#### 4.4 ANÁLISE DE DADOS

Para a análise das variáveis físicas e químicas da água, foi utilizado o teste Mann-Whitney, os dados não seguem uma distribuição normal para testar a diferença de salinidade. Todas análises foram desenvolvidas utilizando o programa R.

Para calcular a razão sexual foi utilizado o número de machos ou fêmeas dividido pela soma dois dos sexos:  $R = M \text{ ou } F / M + F$ , onde:

R = razão sexualmente  
M = machos  
F = fêmeas

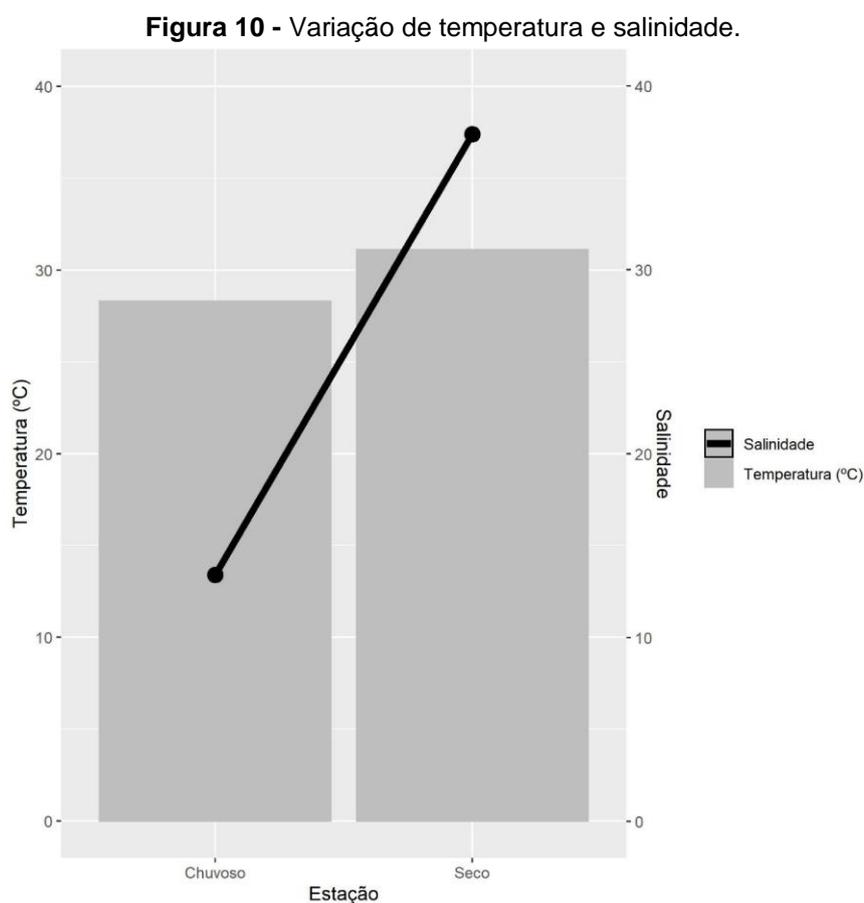
A utilização da metodologia para classificação dos estágios de maturação das gônadas, teve como referência, o tamanho dos ácinos gonádicos de machos e fêmeas e também do estágio das células germinativas femininas. Para que isso fosse realizado, a classificação utilizou como referência a metodologia proposta por Galvão et al., (2000).

As medições tanto da área dos folículos como das células reprodutivas foram realizadas por meio do Programa ImageJ V 1.8., para o cálculo das áreas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CONDIÇÕES AMBIENTAIS DA ÁREA DE ESTUDO

A temperatura para maio foi 28,3 e 31,1 para o mês de novembro de 2021. A salinidade apresentou uma variação entre os meses de coleta, sendo 13,4% no mês de maio e para o mês de novembro uma média de 37,4% (Figura 10), característico de áreas estuarinas com variação de marés.



Fonte: Próprios Autores

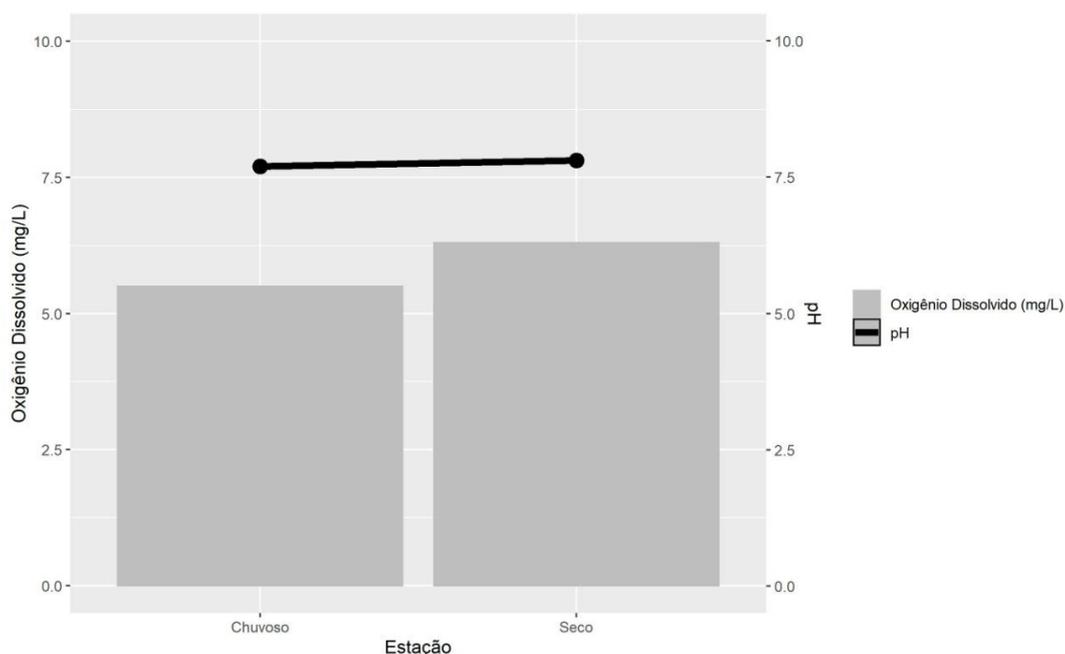
Em novembro, o estudo apontou representatividade do período mais seco, onde a salinidade teve maior expressividade, e segundo estudos de Guimarães et al., (2008), taxas de salinidade entre 8 e 34% propiciam o desenvolvimento das ostras-do-mangue. Quanto maior for a salinidade, maior será a reprodução desses indivíduos

(VILANOVA e CHAVES, 1998). Há um outro estudo realizado por Zamora et al., (2003) com a ostra *C. virginica* no México, onde eles descobriram uma ligação significativa entre os estágios foliculares de gametogênese e desova com a salinidade.

A temperatura registrada para o local de pesquisa no mês de novembro, vai de encontro aos estudos realizados por Rodríguez-Jaramillo et al., (2008), onde afirmam que, apenas nos meses mais quentes do ano em áreas temperadas ocorre a desova, principalmente por conta de uma maior amplitude térmica. Roegner et al., (1990) complementam que a desova da *Crassostrea* depende de um ambiente que seja favorável para o desenvolvimento de suas larvas, quando as condições de salinidade e temperatura proporcionam sobrevivência, crescimento e uma boa presença de alimentos. Há uma importante atuação da temperatura no metabolismo desses organismos, que pode exercer um efeito na sobrevivência e desenvolvimento de forma significativa de ostras (COTTER et al., 2010).

O pH apresentou para maio o valor de 7,7, enquanto que para novembro o valor foi de 7,81. O oxigênio dissolvido foi de 5,5mg/L para o mês de maio e 6,3mg/L para novembro. (Figura 11)

**Figura 11** - Variação média de oxigênio dissolvido e pH entre os meses de coleta.

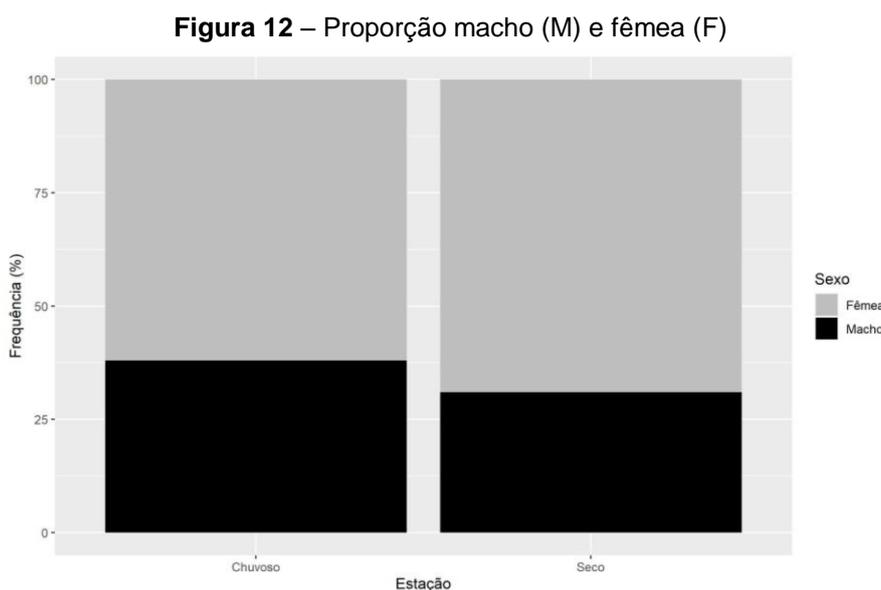


Fonte: Próprios Autores

Em alguns casos, verificou-se que algumas variáveis, dependendo do ambiente, não afetaram significativamente a sobrevivência desses moluscos bivalves. Isso se deve a mudanças na área de ocorrência da espécie, que devem ser insignificantes, ou mesmo devido à alta resistência das ostras a essas mudanças específicas. (VILLA NOVA e CHAVES, 1998). Para as águas estuarinas que possuem como atividade a pesca, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estipula um teor mínimo de 4 mg/L de oxigênio dissolvido para que o local tenha boa qualidade ambiental (Resolução nº 357 de 2005).

## 5.2 RAZÃO SEXUAL DE *C. RHIZOPHORAE*

Não foi verificada alteração na razão sexual de ostras do mangue nos períodos amostrados (maio e novembro), tendo as fêmeas apresentando maior proporção de indivíduos em relação aos machos (Figura 12; Tabela 1).



Fonte: Próprios Autores

**Tabela 1** - Sexação dos organismos, machos (M) e fêmeas (F), coletados nos meses de maio (período chuvoso) e novembro (período seco).

Sexo	Maio/2021	Razão Sexual (R)	Novembro/2021	Razão Sexual (R)	Total
F	13	0,62	9	0,69	22
M	8	0,38	4	0,30	12
Total	21		13		34

Fonte: Próprios Autores

Referente a razão e proporção sexual das ostras *C. rhizophorae*, neste estudo, mostrou a predominância de fêmeas para ambos os meses, outros pesquisadores como Lee et al. (2010) e Christo (2008) por exemplo, também observaram razões sexuais entre os grupos analisados em espécimes do gênero *Crassostrea*, sugerindo uma predominância de fêmeas em relação a outras classes. Por outro lado, uma menor proporção de machos em relação às fêmeas, não vem constituir uma ameaça a conservação da população no ambiente, porque segundo Lenz (2008), os machos liberam seus gametas com uma frequência maior em comparação às fêmeas, isso por conta que suas gônadas possuem uma forte recuperação.

### 5.3 ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO FOLICULAR

Referente ao estágio de maturação, foi identificado três estágios para os folículos masculinos, sendo eles: Pré-maturação → maturação → maturo. O estágio de Pré-maturação mostrou-se com o menor tamanho de área em relação aos demais folículos. O estágio de maturação apresentou um maior tamanho no mês de novembro em comparação a maio ( $p < 0,05$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2** - Folículos masculinos nos seguintes estágios de maturação para os meses de maio e novembro: PE → Pré-maturação; MA → Maturação; MT → Maturo.

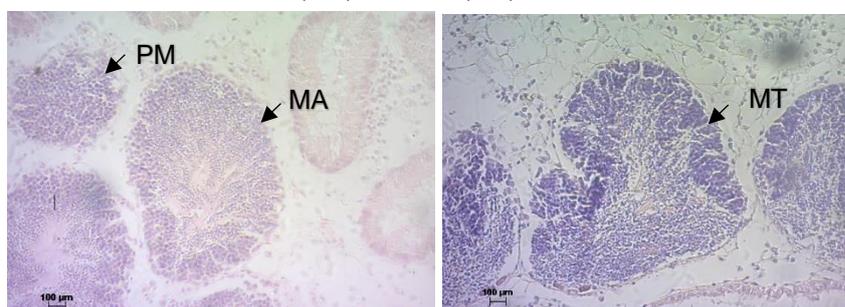
Estágio	N	Chuvoso Min-Max (média±dp)	N	Seco Min-Max (média±dp)	Mann-Whitney
Pré-maturação	21	3.042-4.5042 (13.926±12.193)	15	1.726-22.084 (9.258±6.091)	$p > 0,05$
Maturação	12	9.073-107.463 (26.719±26.402)	19	15.651-171.164 (71.685±53.877)	$p < 0,05^*$
Maturo	20	8.689-58037 (26.202±15.369)	9	12.038-15.479 (44.804±47.992)	$p > 0,05$

Fonte: Próprios Autores

\* dados significativos

A Figura 13 mostra os estágios observados de maturação folicular masculino: PM: Pré-maturação → MA: Maturação → MT: Maduro.

**Figura 13** – Estágios foliculares masculino de *C. rhizophorae*: Pré-maturação (PM); Maturação (MA); Maduro (MT) 40x



Fonte: Próprios Autores

Nos folículos femininos, quatro estágios de maturação estavam presentes: Pré-maturação → maturação → maduro → desova. Não houve presença do estágio de maturação para o mês de novembro. (Tabela 3; Figura 14).

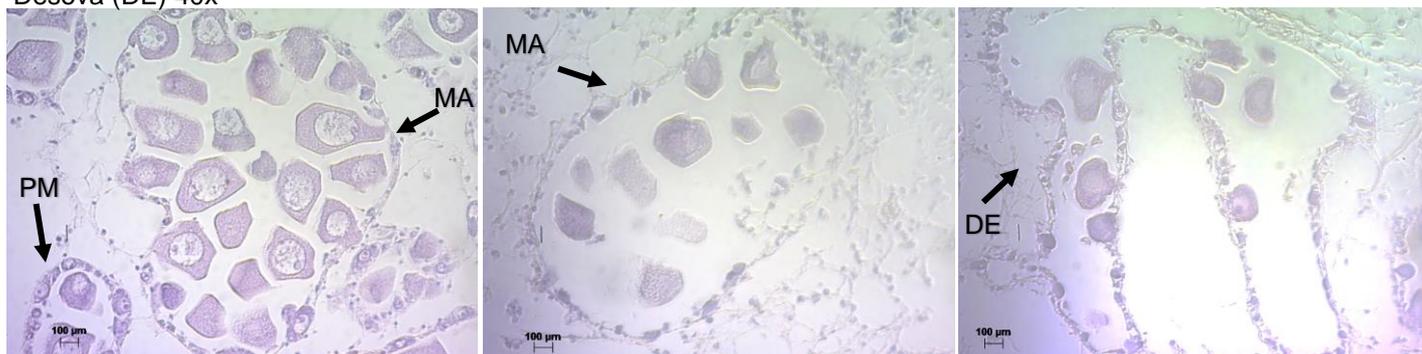
**Tabela 3** – Folículos femininos nos seguintes estágios de maturação para os meses de maio e novembro: Pré-maturação; Maturação, Maduro e Desova.

Estágio	N	Chuvoso Min-Max (média±dp)	N	Seco Min-Max (média±dp)	Mann-Whitney
Pré-maturação	14	7.262-28.846 (7.262±6.436)	13	16.85-11.034 (4.360±2.555)	<b>p&lt;0,05*</b>
Maturação	11	11.985-34.359 (19.350±7.023)	--	--	--
Maduro	15	9.714-51.921 (22.345±10.335)	25	8.067-140.300 (50.468±35.660)	<b>p&lt;0,05*</b>
Desova	7	8.807-19.907 (12.570±4.693)	20	3.739-76.129 (28.352±23.157)	p>0,05

Fonte: Próprios Autores

\* dados significativos

**Figura 14** – Estágios foliculares femininos de *C. rhizophorae*: Pré-maturação (PM); Maturação (MA); Maduro (MT) e Desova (DE) 40x

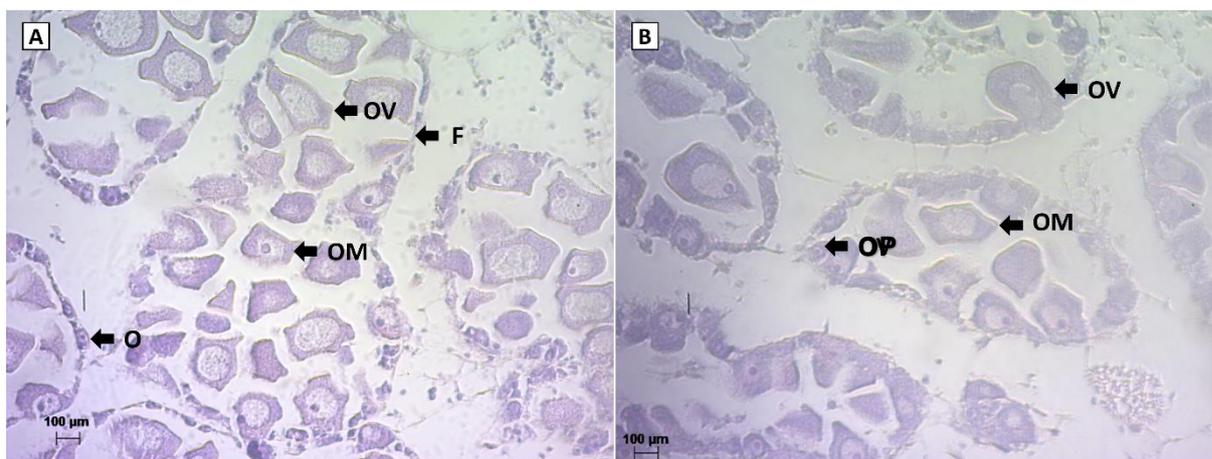


Fonte: Próprios Autores

### 5.3 ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO CELULAR

Os estágios de maturação celular identificados nos folículos femininos nos períodos chuvoso e seco foram: Ovogônia, Pré-vitelogênico, Vitelogênico e Maduro (Figura 15).

**Figura 15**– Células reprodutivas femininas da *C. rhizophorae* em diferentes estágios de maturação. F- Folículo; O – Ovogônia; OM – Ovócito maduro; OV – Ovócito vitelogênico; OP – Ovócito pré-vitelogênico.



Fonte: Próprios Autores

As células reprodutivas de fêmeas da *C. rhizophorae* apresentaram aumento em tamanho de área observados a partir do seu processo de maturação celular. (Tabela 3), de acordo com a sequência de maturação: ovogônia → pré-vitelogênico → vitelogênico → maduro (Tabela 4).

**Tabela 4**– Estágios celulares em diferentes processos de maturação observados em organismos coletados em maio (período chuvoso) e novembro (período seco) de 2021.

Estágio celular	N	Chuvoso Min-Max (média±dp)	N	Seco Min-Max (média±dp)	Mann-Whitney
Ovogônia	11	331-564 (438±81)	16	201-844 (442±204)	p>0,05
Pré-vitelogênico	23	450-1815 (691±107)	17	520-1271 (767±530)	p>0,05
Vitelogênico	30	1.026-3130 (1.760±435)	26	1563-43114 (11.488±14.477)	p<0,05
Maduro	36	1466-45015 (4.155±7.037)	41	1569-69881 (15.046±19.553)	p<0,05

Fonte: Próprios Autores

As variações na temperatura da água têm um grande impacto no processo reprodutivo na maioria dos invertebrados (LOOSANOFF, 1945). Eles também desempenham um grande papel no desenvolvimento estrutural e fisiológico de seus óvulos e células reprodutivas portadoras de esperma na maioria dos animais (BAYNE, 1976). Além disso, temperaturas altas ou baixas da água influenciam o início do desenvolvimento sexual, que envolve acúmulo de reservas, gametogênese, maturação e eliminação de óvulos e espermatozoides respectivamente (ALVAREZ, 1991). Esses fenômenos, que causam mudanças significativas na temperatura corporal, muitas vezes se correlacionam com o início das atividades gametogênicas nos moluscos.

## 7 CONCLUSÃO

(i) Não foi verificada alteração na razão sexual de ostras do mangue nos períodos amostrados (maio e novembro), tendo as fêmeas apresentando maior proporção de indivíduos em relação aos machos.

(ii) Dentre as hipóteses observou-se que a sazonalidade caracterizada pela estação chuvosa e seca (temperatura, salinidade pH e oxigênio dissolvido) não influenciou na determinação dos sexos, predominando a maior proporção de fêmeas.

(iii) Nos folículos masculinos foram encontrados três estágios foliculares: Pré-maturação → maturação → maturo. O estágio de Pré-maturação mostrou-se com o menor tamanho de área em relação aos demais folículos. O estágio de Maturação apresentou um maior tamanho no mês de novembro em comparação a maio.

(iv) Nos folículos femininos, quatro estágios de maturação estavam presentes: Pré-maturação → maturação → maturo → desova. Não houve presença do estágio de maturação para o mês de novembro.

(v) A partir da caracterização das células reprodutivas de fêmeas foram observados os seguintes estágios de maturação Ovogônia, Pré-vitelogênico, Vitelogênico e Maduro.

(vi) Observou-se que o período seco influenciou a presença do estágio de maturação dos folículos para os machos.

(vii) Observou-se que o período chuvoso mostrou variação entre os estágios foliculares de fêmeas, estando os estágios Pré-maturação e maturação, porém foram observados em ambas as estações os mesmos estágios de maturação celular reprodutiva.

## 8 REFERÊNCIAS

ANDREWS, J.D. 1979. Pelecypoda: Ostreidae. *In*: GIESE, A.C. & PIERSE, J.S. ed **Reproducton of Marine Invertebrate**. New York, Academic Press. P. 293-341.

Agência Pernambucana de Águas e Climas (APAC). Bacias Hidrográficas, Rio Goiana. Disponível em: < <https://www.apac.pe.gov.br/bacias-hidrograficas/40-bacias-hidrograficas/194-bacia-do-rio-goiana>>. Acesso em 27 ago. 22.

AGUIRRE-RUBÍ, J. R.; LUNA-COSTA, A.; ETXEBARRÍA, N.; SOTO, M.; ESPINOSA, F.; AHRENS, M. J.; MARIGÓMES, I. Chemical contamination assessment in mangrove-lined Caribbean coastal systems using the oyster *Crassostrea rhizophorae* as biomonitor species. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, p.13396-13415, 2018.

AMARAL, V.S.; SIMONE, L.R. Revision of genus *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) of Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v.94, n.4, p.811-836, 2014.

BACON, P. R. Studies on the biology and cultivation of the mangrove oyster *In*:Trinidad with notes on the other shellfish resource. **Tropical Science**, v. 12, n. 4, p. 265-278, 1971.

BRASIL. Decreto de 26 de setembro de 2007. Cria a Reserva Extrativista Acaú-Goiana, nos Municípios de Pitimbu e Caaporã, no Estado da Paraíba, e Goiana, no Estado de Pernambuco. 2007.

CHRISTO, S. W. 2006. **Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897 na baía de Guaratuba (Paraná – Brasil): um subsídio ao cultivo**. Curitiba, 146 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas- Zoologia), Universidade Federal do Paraná.

CIDREIRA-NETO, I.R.G.; RODRIGUES, G.G. Productive chain of artisanal mollusk fishing and the role of fisherwomen. **Revista Etnobiología**, v.19, n.1, p.172-188, 2021.

CÓDIGO FLORESTAL - Lei Nº 12.651 de 25 de maio de 2012 (2012), Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa e dá outras providencias, DOU de 28 de maio de 2012.

Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (CIRM) (1981), III Plano Básico de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, *in*: I Plano Setorial para os Recursos do Mar (1982-1985), Brasília, pp. 1-105.

COSTA, P. F. Biologia e tecnologia para o cultivo de ostras. *In*: Brasil. Ministério da Marinha. Instituto Nacional de Estudos do Mar, **Manual de Maricultura**. Rio de Janeiro, cap. VIII, parte B, 1985. 36 p.

Chen, R. e Twilley, RR, 1999. Padrões de floresta de mangue estrutura e dinâmica de nutrientes do solo ao longo do estuário do rio Shark, Flórida. *Estuários*, 22(4), 955-970.

DeYoe, H.; Lonard, R.I.; Judd, F.W.; Stalter, R., and Feller, I., 2020. **Biological flora of the tropical and subtropical intertidal zone**: Literature review for *Rhizophora mangle* L. *Journal of Coastal Research*, 36(4), 857–884. Coconut Creek (Florida), ISSN 0749-0208.

FADIGAS, A. B. M.; GARCIA, L. G. Uma análise do processo participativo para a conservação do ambiente na criação da Reserva Extrativista Acaú-Goiana. **Sociedade e Natureza**, v.22, n.3, p.561-576, 2010.

GALTSOFF, P. S. The Fecundity of the Oyster. **Science**, New Series. v. 72, n. 1856, p. 97-98, 1930.

GALTSOFF, P.S. 1964. The American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). **Fishery Bull. natn. mar.** Fish Serv., US, 64:1-430.

GALVÃO, M.S.N.; PEREIRA, O.M.; MACHADO, I.C. & HENRIQUE, M.B. 2000. Aspectos reprodutivos da ostra *Crassostrea brasiliiana* de manguezais do estuário de Cananéia, SP (25°S; 48°W). **B. Inst. Pesca**, 26(2):147-162.

GALVÃO M. S. N.; PEREIRA O. M.; MACHADO, I. C.; HENRIQUE M. B. Aspectos reprodutivos da ostra *Crassostrea brasiliiana* de manguezais do estuário de Cananéia, SP (25°S; 48°W). **Boletim do Instituto de Pesca**, v.26, p.147-162, 2000.

GOMES, C. H. A. M. A; SILVA, F. C. A; LOPES, G. R. A; MELO, C. M. R. A. The reproductive cycle of the oyster *Crassostrea gasar*. **Brazilian Journal of Biology**, v.74, n. 4, p. 967-976. 2014.

GRABOWSKI, J.H.; PETERSEN, C.H. (2007), Restoring Oyster Reefs to Recover Ecosystem Services, **Theoretical Ecology Series**, Vol. 4, pp. 281-298. DOI: 10.1016/S1875- 306X(07)80017-7.

Farnsworth, EJ e Ellison, AM, 1996. Adaptabilidade de sombra solar de o mangue vermelho *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): Mudanças por ontogenia de vários níveis de organização biológica. *Jornal Americano de Botânica*, 83(9), 1131-1143.

HARGIS Jr., W.J.; HAVEN, D.S. (1999), Chesapeake oyster reefs, their importance, destruction and guidelines for restoring them, in Luckenbach, M.W., Mann, R. and Wesson, J.A. (Eds), *Oyster reef habitat restoration: a synopsis of approaches*, Virginia Inst Mar Sci Press, Gloucester Point, VA, pp. 329-358.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBio. Disponível em: < <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/unidade-de-conservacao/o-que-sao>>. Acesso em 27 ago. 22.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBio. Disponível em: <<https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/unidade-de-conservacao/unidades-de-biomas/marinho/lista-de-ucs/resex-acau-goiana/resex-acau-goiana>>. Acesso em 27 ago. 22.

Jackson, J.B.C., Kirby, M.X., Berger, W.H, Bjorndal, K.A., Botsford, L.W., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R., Erlandson, J., Estes, J.A., Hughes, T.P., Kidwell, S., Lange, C.B., Lenihan, H.S., Pandolfi, J.M., Peterson, C.H., Steneck, R.S., Tegner, M.J. and Warner, R.R. (2001), Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems, **Science**, Vol. 293, pp. 629-638. DOI:10.1126/science.1059199.

JUNQUEIRA, Luiz C.U.; JUNQUEIRA, Luzia M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, 1983.

KATHIRESAN, K.; BINGHAM, B. L. Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. *Advances in marine biology*, v. 40, p. 81-251, 2001.

Kraus, K.W.; McKee, K.L.; Lovelock, C.E.; Cahoon, D.R.; Saintilan, N.; Reef, R., and Chen, L. 2014. How mangrove forests adjust to rising sea level. *New Phytologist*, 202(1), 1–44.

LIMA, Maria de Nazaré Bentes de. *Biologia Reprodutiva e Crescimento da Ostra-do-Mangue *Crassostrea gasar* Adanson (1757) (MOLLUSCA: BIVALVIA) cultivada em manguezais da Costa Amazônica (Curuçá e São Caetano de Odivelas)*. 2015. Tese (Doutorado) – Curso de Ecologia Aquática e Pesca, Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

LOPÉZ-ROCHA, J.A.; MELO, F.J.F.R.; GASTÉLUM-NAVA, E.; LARIOS-CASTRO, E.Mann, R. (1982), *Ecology of Coastal Waters: a System Approach*, University of California Press, Verkeley, CA, 322p.

Manual de técnica histológica de rotina e de colorações/ Katharine Raquel Pereira dos Santos [et al.] - Vitória de Santo Antão, 2021. 32 p. (1,51 MB); il.

MARTINEZ, R.H. ; Rusch, E. (2014), Understanding the connection between coastal waters and ocean ecosystem series and human health, Workshop Summary 2014, Institute of Medicine of National Academy – versão eletrônica, National Academic Press, available at: [http://www.nap.edu/catalog.php?record\\_id=18552](http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=18552).

MATTOX, N. T. Studies on the biology of the edible oyster, *Ostrea rhizophorae* Guilding, in Puerto Rico. **Ecological Monographs**, v. 19, n. 4, p. 339-356, 1949.

MEDEIROS, S. R. M.; CARVALHO, R. G.; PIMENTA. M. R. C. A proteção do ecossistema manguezal a luz da lei: 12.651/2012: novos desafios para a sustentabilidade dos manguezais do rio grande do norte. **GEOTemas**, Pau dos Ferros, Rio Grande do Norte, Brasil, v .4, n. 2, p. 59-78, 2014.

MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M. ; Kjerfve, B. (2002), Princípios de Oceanografia Física de Estuários, Ed. da Universidade de São Paulo, 424p.

NASCIMENTO, C. H. V.; CIDREIRA-NETO, I. R. G.; SILVA, R. P.; ASSIS, J. E., GUSMÃO, N. B., & RODRIGUES, G. G. Caracterização morfológica e microbiota endógena de populações do marisco *Anomalocardia flexuosa* Linnaeus, 1767 (Bivalvia: Veneridae). **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 3, n. 3, p. 275-286, 2018.

NASCIMENTO, I. A.; SILVA, E. M.; RAMOS, M. I. S.; SANTOS, A. E. Desenvolvimento da gônada primária em ostras do mangue *Crassostrea rhizophorae*: idade e tamanho mínimo de maturação sexual. **Ciência e Cultura**, v.32, n. 6, p. 736-742, 1980.

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. *Crassostrea rhizophorae* (Guilding) and *C. brasiliiana* (Lamarck) in South and Central America. In. MENZEL, W. **Estuarine and marine bivalve mollusk culture**. CRPR Press: Taylor & FrancisGroup, 1991.

NEWELL, R.I.E., CORNWELL, J.C.; OWENS, M.S. (2002), Influence of simulated bivalve biodeposition and microphytobenthos on sediment nitrogen dynamics: A laboratory study, *Limnology and Oceanography*, Vol. 47, n. 5, pp. 1367-1379. DOI: <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.5.1367>.

Núcleo de Estudos em Economia do Meio Ambiente (NEEMA) (2008), Difusão de Tecnologias Sustentáveis, Inovações para o Desenvolvimento, *Ostreicultura*, em: <http://www.neema.ufc.br>.

PEIRÓ, Douglas F.; SALMAZO, Julia. R. & SEMPREGOM, Thais R. **Revista Biologia Marinha de Divulgação Científica**. Ubatuba-SP, Brasil, Editora: Bióicos. Vol 1, p. 32-42, 2018.

PEREIRA, O. M.; MACHADO, I. C.; HENRIQUES, M. B.; GALVÃO, M. S. N.; YAMANAKA, N. 2001. Avaliação do estoque da ostra *Crassostrea brasiliiana* em rios e gamboas da região estuarino-lagunar de Cananéia (São Paulo, Brasil). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 27 (1): 85 – 95.

PEREIRA, O. M.; HENRIQUES, M. B.; MACHADO, I. C. 2003. Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* em bosques de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 29(1):19- 28.

PEZZUTO, P.R.; SOUZA, D.S. A pesca e o manejo do berbigão (*Anomalocardia brasiliiana*) (Bivalvia: Veneridae) na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé, SC, Brasil. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*, v.34, p.169-189, 2015.

PINTO, Stefane de Lyra. **Os moluscos *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) e *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) como bioindicadores de poluição orgânica no estuário da baía do Pina, Recife-PE, Brasil.** 2012.

QUAYLE, D.R. 1988. Pacific oyster culture in British Columbia. **Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.**, 218:1-241.

RIOS, E. 1994. **Seashells of Brazil.** Rio Grande, RS, Ed. FURG 368p.

Rios, E. C. 1985. Seashells of Brazil. Rio Grande, Fundação Universidade do Rio Grande, 330 p.

RIOS, E.C. **Seashells of Brazil.** Ed. Da Fundação Universidade do Rio Grande. 1994.

Roegner, G., Curtis, A. and Mann, R. (1990), Settlement Patterns of *Crassostrea virginica* (Gmelin) Larvae in Relation to Tidal Zonation, VIMS Articles, 1283, em: <https://scholarworks.wm.edu/vimsarticles/1283>.

SANTANA; MEDEIROS. Características biométricas e índices de condição da ostra-de-mangue *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) do estuário do rio Ipojuca, PE, Brasil. **Tropical Oceanography**, Recife, v. 48, n. 1, p. 20-38, 2020.

oysters *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* farmed in an offshore environment (North Sea, Germany). **Aquaculture**, v. 319, n. 3-4, p. 484-492, 2011.

POWELL, E.N., BOCHENEK, E.A., KLINCK, J.M.; HOFMANN, E.E. **Influence of food quality and quantity on the growth and development of *Crassostrea gigas* larvae: a modelling approach.** **Aquaculture**, v.210, p. 89-117, 2002.

PRITCHARD, D.W. **Estuarine Hydrography. Advances in Geophysics.** New York, Academic Press, v.1, p243-280. 1952.

PRITCHARD, D.W. **What is an estuary: Physical viewpoint.** In: Estuaries. Lauf, G. H. (Ed). American Association for the Advancement, Washington, D.C., v. 83, p. 3-6. 1967.

REBELO, M. F.; AMARAL, M. C. R.; PFEIFFER, W, C. Oyster condition index in *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) from a heavy-metal polluted coastal lagoon. **Brazilian Journal of Biology**, v. 65, n. 2, p. 345-351, 2005.

RIOS, E.C. **Seashells of Brazil.** Rio Grande, RS, Ed. FURG 368p. 1994.

RIOS, E.C. 2009. **Compendium of Brazilian Sea Shells.** Rio Grande: Evangraf. 668p. 2009. ROEGNER, G.; CURTIS, A.; MANN, R. **Settlement Patterns of *Crassostrea virginica* (Gmelin) Larvae in Relation to Tidal Zonation.** VIMS Articles. 1283. <https://scholarworks.wm.edu/vimsarticles/1283>, 1990.

SANDISON, E. E. The Effect of Salinity Fluctuations on the Life Cycle of *Gryphaeagasar* (Adanson) in Dautzenberg) in Lagos Harbour, Niger. **Journal of Animal Ecology**, v.35, n. 2, p. 79-389, 1966.

SATO, K. Studies on the protective functions of the mangrove forest against erosion and destruction. (1) The morphological characteristics of the root system of Yaeyamahirugi (*Rhizophora mucronata* LAMK.). **Sci. Bull. Coll. Agri. Univ. Ryukyus**, v. 25, p. 615–630. 1978.

SATO, K. Reality of sedimentation in mangrove forest by the tide and discharge— Investigation on trapped amount of deposit in a serial of high tides—. A summary on the Mangrove Study in Okinawa (FY2000-2002), **Research Institute for Subtropics**.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y., **Manguezal: Ecosistema entre a Terra e o Mar**. Caribbean Ecological Research, São Paulo, 64 p. 1995.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Manguezal: ecossistema que ultrapassa suas próprias fronteiras**. In: Congresso Nacional de Botânica, 53, 2002, Recife, p. 34-37. 2002.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y; CINTRÓN, G. **Guia para estudo de áreas de mangue**. São Paulo, 150p. + 3 apêndices. 1986.

VANNUCCI, M. What is so special about mangroves?. *Brazilian Journal of Biology*, v. 61, n. 4, p. 599-603, 2001

VÉLEZ, A. Crecimiento, edad y madurez sexual del ostión *Crassostrea rhizophorae* de Bahía de Mochima. **Boletín Instituto Oceanográfico Universidad del Oriente**, Venezuela, v. 15, n. 1, p. 65-72, 1976.

VILANOVA, M. F. V. e CHAVES, E. M. B. Contribuição para o conhecimento da viabilidade do cultivo de ostra-do-mangue, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Mollusca: Bivalvia) no estuário do Rio Ceará, Ceará, Brasil. *Arquivos de Ciências do Mar*, 27: 111-125. 1988.

WAKAMATSU, T. 1973. **A ostra de Cananéia e seu cultivo**. São Paulo, Superintendência do Desenvolvimento do Litoral Paulista/Instituto Oceanográfico USP, 141p.

ZAMORA, A.; HERNÁNDEZ, M. L. S.; ARANDA, D. A. 2003. Ciclo gonádico del ostión americano *Crassostrea virginica* (Lamellibranchia: Ostreidae) em Mecocacán, Tabasco, México. *Revista Biología Tropical*, v. 51, n. 4, p. 109-117, 2003.

YONGUE, C.M. 1960. **Oysters**. London, Collins. 209p.

**APÊNDICI A - ESTÁGIOS E MEDIÇÕES DAS ÁREAS EM MICRÔMETROS DOS  
FOLÍCULOS MASCULINOS (MAIO/2021)**

<b>Etágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>
	9034,92		16594,43		34299,3
	6429,66		16761,39		22659,13
	8347,69		10776,04		58037,45
	30663,7		28461,94		40470,54
	15927,9		21063,34		42976,18
	12998,7		107463,9		10978,69
	4418,49		9073,75		8689,97
	3818,5		21420,56		10509,82
	10728,4		18639,11		9442,52
	4156,42		13398,93		31085,53
Pré-maturação	3042,33	Maturação	22626,79	Maturo	43136,21
	15045,6		34359,55		39370,04
	18994,2				39426,82
	43416,7				44717,01
	45042,1				13059,47
	21961,8				16477,49
	11978,7				13437,95
	4510,53				9714,61
	9489,29				17330,26
	6700,82				18237,17
	5758,27				
<b>MÉDIA</b>	<b>13926,9</b>		<b>26719,98</b>		<b>26202,81</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>12193</b>		<b>26402,24</b>		<b>15369,2</b>

**APÊNDICE B – ESTÁGIOS E MEDIÇÕES DA ÁREA EM MICRÔMETROS DOS FOLÍCULOS FEMININOS (MAIO/2021)**

Estágio	Área	Estágio	Área	Estágio	Area	Estágio	Área
	28846,1		22116,31		51921,41		19907,07
	6679,4		17582,59		19044,82		13482,08
	7247,6		29177,16		28060,62		9155,97
	8277,59		13237,22		28104,58		18033,53
	3529,41		20049,98		30422,91		9798,66
	6983,63		19034,99		28012,3		8807,57
	6700,82		15884,72		18539,36		8807,57
Pré-maturação	5758,27	Maturação	34359,55	Maturo	13218,31	Desova	
	2825,05		11985,17		9714,61		
	5112,17		17314,06		17330,26		
	7190,33		12114,79		18237,17		
	3607,17				18583,39		
	3642,23				17863,59		
	5274,41				11884,95		
					24237,36		
<b>MÉDIA</b>	<b>7262,44</b>		<b>19350,59</b>		<b>22345,04</b>		<b>12570,35</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>6436,4</b>		<b>7023,77</b>		<b>10335,17</b>		<b>4693,3</b>

**APÊNDICE C – ESTÁGIOS E MEDIÇÕES DA ÁREA EM MICRÔMETROS DAS CÉLULAS REPRODUTIVAS DE FÊMEAS  
(MAIO/2021)**

<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>
	348,99		732,87		2415,45		3760,42
	439,17		717,28		2239		3109,5
	439,17		995,59		1592		3587,88
	331,56		842,59		1241,39		3717,28
	382,88		798,04		1491,95		2815,1
	392,16		570,98		3130,13		2941,15
	542,1		647,14		1124,95		3613,41
	372,93		865,31		1365,73		3044,28
	540,9		975,52		1586,77		2637,21
	471,36		1815		2226,22		2473,6
Ovogônia	564,08	Pré-Vitelogênico	525,18	Vitelogênese	1295,66	Maduro	2539,82
			715,52		1499,42		3406,43
			1060,36		1026,53		2190,69
			648,59		2222,22		2597,25
			714,38		1295,66		3078,81
			862,54		1068,82		3189,33
			654,74		1180,32		2589,36
			776,2		1253,36		3064,21
			913,54		1114,54		2695,12
			650,92		1493,79		3794,69
			450,53		1576,35		3391
			693,32		1781,12		3990,77

		751,55		2437,52	3552,59
				1045,75	2000,75
				2569,63	1559,58
				3035	1466,7
				2799,73	45015
				1517,5	2624,67
				1811,59	2453,83
				2364,47	4072,23
					3141,1
					1986,04
					2941,99
					2875,66
					3140,98
					4537,84
<b>MÉDIA</b>	<b>438,66</b>	<b>831,86</b>		<b>1650,97</b>	<b>4155,45</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>81,89</b>	<b>293,79</b>		<b>573,07</b>	<b>7037,68</b>

**APÊNDICE D – ESTÁGIOS E MEDIÇÕES DA ÁREA EM MICRÔMETROS DOS  
FOLÍCULOS DE MACHOS (NOVEMBRO/2021)**

<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>
	12181,01		15651,84		23497,23
	9306,18		23197,28		16368,59
	11346,25		22605,18		23191,51
	16870,87		26535,66		13092,83
	17068,88		95859,01		12038,04
	6262,13		112369,5		18843,1
	5042,64		119319,8		80249,74
	5971,96		28636,41		156479,4
	6826,78		36482,7		59480,97
	3805,85		48873,64		
Pré-maturação	1726,69	Maturação	33047,74	Maturo	
	4649,39		23880,6		
	2035,59		42652,41		
	13702,42		34371,43		
	22084,56		165094,2		
			171164,9		
			148371,1		
			82587,17		
			131315,3		
<b>MÉDIA</b>	<b>9258,75</b>		<b>71685,05</b>		<b>44804,6</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>6091,26</b>		<b>53877,28</b>		<b>47992,23</b>

**APÊNDICE E - ESTÁGIOS E MÉDIÇÕES EM MICRÔMETROS DOS FOLÍCULOS  
FEMININOS (NOVEMBRO 2021)**

Estágio	Área	Estágio	Área	Estágio	Área
	4409,63		33536,79		21803,17
	3412,4		49310,62		22960,28
	6600,5		8067,43		3739,61
	5994,81		8453,08		30493,42
	3500,9		13329,13		6247,18
	3659,32		16633,26		8803,74
	2732,61		15484		7116,66
	3089,03		41967,28		10419,54
	6162,22		17445,11		38973,77
	11034,22		76580,25		5892,92
	1685,07		55716,33		64652,06
	2158,75		67636,34		47162,63
Pré-maturação	2246,41	Maturo	60073,05	Desova	76129,79
			54928,87		38905,99
			140300		8137,17
			134828		17199,57
			112916		8290,7
			58261,76		35514,1
			49991,72		41221,18
			40007,31		73384,89
			65933,36		
			38232,72		
			44501,87		
			26086,48		
			31337,84		
<b>MÉDIA</b>	<b>4360,45</b>		<b>50462,34</b>		<b>28352,42</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>2555,17</b>		<b>35660,17</b>		<b>23157,13</b>

**APÊNDICE F - ESTÁGIOS E MEDIÇÕES EM MICRÔMETROS DAS CÉLULAS REPRODUTIVAS FEMININAS  
(NOVEMBRO/2021)**

<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>	<b>Estágio</b>	<b>Área</b>
	476,74		538,02		2698,96		1737,79
	330,64		641,71		4209,92		2979,62
	269,13		921,88		1753,17		3275,66
	230,68		855,95		1864,67		4136,87
	580,55		910,18		1945,41		3091,12
	372,93		668,59		1830,07		3498,65
	340,55		772,43		2468,28		29535,29
	267,02		860,84		3383,31		24368,93
	201,24		824,96		3271,82		33807,73
	841,41		618,35		30510,51		69881,15
	529,78		1271		9821,88		34190,61
	405,12		544,71		7855,95		25740,76
Ovogônia	332,81	Pré - Vitelogênico	709,88	Vitelogênio	41781,06	Maduro	3196,56
	844,7		937,99		42507,35		3123,03
	698,65		520,96		29255,83		4725,18
	360,31		594,54		17963,18		3537,11
			856,08		3819,62		3366,84
					2715,11		1569,86
					4748,53		3233,21
					3155,3		2528,13
					2072,28		3416,29
					3272,22		2777,44
					1563,09		4534,28
					43114,19		3990,61
					1967,19		2995,92

29142,14

3007,76

3252,49

3615,63

2999,87

2628,83

48369,86

40507,5

33986,93

1967,19

2282,72

3548,74

3248,79

34494,54

29414,5

57832,03

66509,74

<b>MÉDIA</b>	<b>442,64</b>	<b>767,53</b>	<b>11488,12</b>	<b>15046,48</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>204,32</b>	<b>224,9</b>	<b>14477,02</b>	<b>19553,33</b>