

**Instituto Politécnico de Leiria**

**Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar**



**Ensaio para cultivo de amêijoa-macha**

***Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e amêijoa-cão**

***Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) em aquacultura**

**Diogo Pilré da Costa**

2018



**Instituto Politécnico de Leiria**

**Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar**



**Ensaio para cultivo de amêijoa-macha**

***Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e amêijoa-cão**

***Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) em aquacultura**

**Diogo Pilré da Costa**

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação do supervisão científica da Professora Doutora  
Susana Ferreira e da Doutora Dorotea Patiño-Martínez

2018



Instituto Politécnico de Leiria

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar



## Ensaio para cultivo de amêijoia-macha

*Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e amêijoia-cão

*Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) em aquacultura

Direitos de autor © Diogo Pilré da Costa

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar

Instituto Politécnico de Leiria

2018

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm direito, perpetuamente e sem fronteiras geográficas, a arquivar e publicar este trabalho, através de cópias impressas em papel, ou em forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou ainda por ser inventado, e para disseminá-lo através de repositórios científicos e permitir a cópia e distribuição para fins educacionais ou de pesquisa não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e ao editor.



## Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer a todos aqueles que sempre confiaram em mim, desde sempre. À minha família e aos meus verdadeiros amigos.

Aos meus pais, por me terem dado educação, valores e por me terem ensinado a andar. À minha mãe, amor incondicional. A vocês que, muitas vezes, renunciaram aos vossos sonhos para que eu pudesse realizar o meu, partilho a alegria deste momento.

A todos os meus familiares, irmãos, primos, tios, avós. Não citarei nomes, para não me esquecer de ninguém. Mas há aquelas pessoas especiais que diretamente me incentivaram.

À Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar em Peniche, por me ter proporcionado a oportunidade de desenvolver este trabalho em Ribadeo, com a ajuda do programa Erasmus, sem o qual seria impossível.

Ao CIMA – Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo, por me ter dado a oportunidade de realizar este estágio nas suas instalações, com o propósito de finalizar o meu mestrado em aquacultura.

À Professora Susana Ferreira (ESTM – Escola superior de Turismo e Tecnologias do Mar), minha orientadora e exemplo profissional, por não ter permitido que eu interrompesse o processo e pela confiança.

À minha orientadora Doutora Dorotea Martínez-Patiño (CIMA – Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo), por todos os conhecimentos transmitidos e ajuda no desenvolvimento deste estágio, assim como à Justa Ojea Martínez e Susana Nóvoa Vasquez pela ajuda no desenvolvimento da parte prática deste trabalho e, aos restantes colegas que me acompanharam diariamente no decorrer das minhas tarefas.

Aos meus amigos mais chegados, Cristiana Gastão, Daniela Duarte, Rita Jardim, sem vocês não teria sido possível!

A todos o meu muito obrigado!



## Publicações

O presente trabalho resultou diretamente nas seguintes produções científicas:

- Costa, D.P, Nóvoa, S., Ojea, J., Martínez, D. 2017. Desarrollo larvario en criadero de almeja bicuda *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791). XVI Congreso Nacional de Acuicultura, Zaragoza (Espanha). 3 a 5 de Outubro de 2017.0



## Abstract

The pullet carpet shell *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) is a species widely consumed and produced in captivity, both in Portugal and Spain. The golden carpet-shell *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) is a cryptic species, less appreciated and less known in what concerns its biology and possible production in aquaculture.

The present work reports to a curricular internship developed at the CIMA - Marine Production Centre of Ribadeo (Galicia, Spain), where the potential of larval, post-larval, seed and juvenile production of *P. aureus* in captivity was evaluated. A comparative study was made for: the biometric characteristics, visceral and gonadal condition indexes of the breeding clams; the timing of the several larval phases; the larval *versus* post-larval density and survival; as well as the individual growth of the clams *V. corrugata* and *P. aureus*. The reproduction of the clams occurred spontaneously upon arrival at the CIMA. The larval development was carried out in cylindrical-conical tanks of 500 L, at room temperature ( $\approx 17 \pm 3$  °C), with a low intensity aeration and a density of approximately 5 individuals per milliliter.

The time elapsed until the benthic recruitment of the larvae was lower for *V. corrugata* than for *P. aureus* (15 and 18 days, respectively). The same was true for the seed stage (27 and 30 days, respectively). Still, both species took the same time until being considered juveniles (55 days). Regarding individual growth, *P. aureus* showed a higher final growth rate ( $24.13 \mu\text{m day}^{-1}$ ) than *V. corrugata* ( $22.80 \mu\text{m day}^{-1}$ ). As for larval and post-larval survival, there were similar proportions (greater than 50%) for both species.

The trials demonstrated that the clam *P. aureus* is a potential species for aquaculture production. Control of the clams' life cycle can enable responding with a continuous production for the high market demand of these animals, irrespective of the state of their natural stocks, and may even contribute to the repopulation of these species, should it be necessary.



## Resumo

A amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) é uma espécie consumida e produzida em cativeiro, em Portugal e Espanha. A amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) é uma espécie críptica, menos apreciada, com poucos conhecimentos à sua biologia e cultivo.

O presente trabalho reporta um estágio curricular desenvolvido no CIMA – Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo (Galiza, Espanha), onde foi avaliado o potencial de cultivo larvar, pós-larvar, de semente e juvenil de *P. aureus* em cativeiro. Para tal, fez-se o estudo comparado das características biométricas e índices de condição de reprodutores, da caracterização temporal do desenvolvimento das várias fases larvares, da densidade e sobrevivência larvar e pós-larvar, bem como do crescimento das amêijoas *V. corrugata* e *P. aureus*. A reprodução das amêijoas ocorreu de forma espontânea na chegada ao CIMA. O desenvolvimento larvar foi realizado em tanques cilíndricos de 500 L, à temperatura ambiente ( $\approx 17 \pm 3$  °C), com um arejamento de baixa intensidade e uma densidade aproximada de 5 indivíduos por mililitro.

O tempo decorrido até ao recrutamento bentónico das larvas foi menor para *V. corrugata* do que para *P. aureus* (15 e 18 dias, respetivamente). O mesmo se verificou até para o estágio de semente (27 e 30 dias, respetivamente). Ainda que, ambas as espécies demorassem o mesmo tempo até serem considerados como juvenis (55 dias). Relativamente ao crescimento individual, *P. aureus* apresentou uma taxa de crescimento final superior ( $24,13 \mu\text{m dia}^{-1}$ ) a *V. corrugata* ( $22,80 \mu\text{m dia}^{-1}$ ). Quanto às sobrevivências larvar e pós-larvar, verificaram-se proporções idênticas (superiores a 50%) para ambas as espécies.

Os ensaios realizados demonstraram que *P. aureus* é uma amêijoia com potencial para a sua produção em aquacultura. Assim, o controlo do ciclo de vida destas espécies poderá permitir responder com uma produção contínua para a sua elevada procura de mercado, independentemente do estado dos seus *stocks* naturais, podendo mesmo vir a contribuir para o repovoamento dos mesmos, na eventualidade de ser necessário.



## Índice

1. Introdução	01
1.1. A importância de moluscos bivalves	01
1.2. Morfologia, reprodução e ciclo de vida de moluscos bivalves	02
1.3. Produção de amêijoas em aquacultura	06
1.4. A amêijoia-macha <i>Venerupis corrugata</i> (Gmelin, 1791) e a amêijoia-cão <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	09
1.5. Objetivos	10
2. Materiais e Metodos	13
2.1. Obtenção e acondicionamento dos reprodutores de amêijoia-macha <i>Venerupis corrugata</i> (Gmelin, 1791) de amêijoia-cão <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	13
2.2. Reprodução e recolha de embriões da amêijoia-macha <i>Venerupis corrugata</i> (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	15
2.3. Crescimento larvar, pós-larvar, de semente e de juvenis da amêijoia-macha <i>Venerupis corrugata</i> (Gmelin, 1791) da amêijoia-cão <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	15
2.4. Produção de microalgas	18
2.5. Análise de dados	20
3. Resultados	23
3.1. Temperatura da água de cultivo larvar das amêijoia-macha <i>Venerupis corrugata</i> (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	23
3.2. Acondicionamento de reprodutores e posturas das amêijoia-macha <i>Venerupis corrugata</i> (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	23
3.3. Desenvolvimento larvar da amêijoia-macha <i>Venerupis corrugata</i> (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	25
3.4. Crescimento individual da amêijoia-macha <i>Venerupis corrugata</i> (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão <i>Polititapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	29

4. Discussão	35
5. Conclusão	45
6. Referências bibliográficas	47

## Índice de Figuras

- Figura 1 – Morfologia interna de moluscos bivalves [adaptado de Castro & Huber (2006)]. 03
- Figura 2 - Ciclo de vida de *Mya arenaria* [adaptado de Abraham & Dillon (1986)]. 06
- Figura 3 – Ciclo de produção de bivalves em aquacultura [retirado de FAO (2006)]. 07
- Figura 4 – Morfologia externa e interna das conchas da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (do lado esquerdo) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (do lado direito) [adaptado de World Register of Marine Species]. 10
- Figura 5 – Sistema aberto para acondicionamento de reprodutores da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), com a saída de água para o interior de uma pilha de crivos, com vista à retenção de fezes e embriões, separadamente. 14
- Figura 6 – Tanques cilindro-cônicos de 500 litros, utilizados nos cultivos larvares realizados para a amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e a amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791). 16
- Figura 7 – Esquema de cultivo de microalgas no CIMA - Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo. 19
- Figura 8 - Temperatura da água do cultivo larvar da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), ao longo dos meses em que decorreu o presente estudo (média ± desvio-padrão). 23
- Figura 9 - Variação de a) densidade e b) taxa de mortalidade instantânea (*Z*) de amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), desde o estágio de larva trocófora até ao estágio de juvenil. \* Valor sobrestimado da taxa de mortalidade instantânea. 26
- Figura 10 – Sobrevivência a) total e b) larvar *versus* pós-larvar da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e dos ensaios 1 e 2 da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) 28
- Figura 11 – Observação ao microscópio óptico composto das larvas umbuladas (a) e e)), larvas pedivelíferas (b) e f)), das sementes (c) e g)) e dos juvenis (d) e h)) das espécies

dos cultivos do presente, amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791). Nas figuras a), b), c), e), f) e g) utilizou-se uma ampliação de 40 vezes e nas figuras d) e h) uma ampliação de 10 vezes. 30

Figura 12 – a) Tempo que decorreu desde a fecundação até aparecimento dos diferentes estádios do desenvolvimento larvar da amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791). b) Tempo de duração dos mesmos estádios. 31

Figura 13 – Taxas de crescimento individual larvar, pós-larvar, de semente e final, com base na largura da amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoa-cão *Polititapes aureus* (primeiro e segundo ensaios). 32

Figura 14 – Modelos de crescimento individual, com base na largura a) da amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e de b) primeiro e c) ensaio da amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) ao longo do cultivo larvar (até 1), pós-larvar (de 1 a 2), semente (de 2 a 3) e juvenil (depois de 3).  $n$  – Número de réplicas nas medições;  $R^2$  – Coeficiente de determinação;  $p$  – valor de significância;  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $x_0$  e  $p$  – Parâmetros da função logística 33

## Índice de Tabelas

Tabela I – Dados biométricos, índices de condição visceral e gonadal (média  $\pm$  desvio-padrão) de reprodutores amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), medidos a 27 de Abril de 2017, e da amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791), referente a organismos de 25 de Fevereiro de 2005 (Cerviño-Otero, 2011). \* - Os índices de condição visceral e gonadal de *V. corrugata* foram apenas apresentados como valores médios por Cerviño-Otero (2011). 24

Tabela II – Datas de receção de reprodutores e de ocorrência de reprodução da amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), bem como das temperaturas da água na altura das respetivas posturas 24

Tabela VII – Comparação entre largura (L), tempo que decorre entre a fecundação e o surgir dos diferentes estádios de vida (T), sobrevivência larvar (S<sub>1</sub>) e pós-larvar (S<sub>2</sub>) em diferentes estudos de cultivo de bivalves. 38



## 1. Introdução

### 1.1 A importância de moluscos bivalves

Os moluscos bivalves são o segundo grupo de animais mais produzido em aquacultura, a seguir aos peixes (FAO, 2015). De entre os principais motivos para a sua produção, destaca-se o facto de: serem indivíduos filtradores, que se alimentam principalmente de fitoplâncton; a facilidade do seu cultivo; a sua tolerância a flutuações de vários fatores ambientais; e por serem apreciados gastronomicamente em diversos países (Melo et al., 2016).

Inicialmente, o cultivo de bivalves dependia da apanha de sementes (indivíduos juvenis morfológicamente idênticos aos adultos), para crescimento e engorda das mesmas. Atualmente, tem vindo a depender-se cada vez mais de maternidades, para a produção de novos indivíduos. Esta produção é essencial para que haja um fornecimento constante de organismos, capaz de satisfazer as necessidades de mercado e, assim, depender-se cada vez menos da exploração de *stocks* naturais (Rico-Villa *et al.*, 2008). Para além do interesse económico, estes cultivos comprometem-se também a fomentar a sustentabilidade dos ecossistemas, onde ocorre sobre-exploração de muitas espécies de bivalves (Joaquim *et al.*, 2011).

Os moluscos bivalves fazem parte da dieta humana desde tempos ancestrais. Originalmente, eram consumidos em populações das orlas costeiras. Atualmente, os bivalves são degustados e apreciados como uma iguaria gastronómica, um pouco por todo o Mundo, sendo mesmo utilizados como atração turística. De acordo com estatísticas da FAO, o consumo médio de produtos piscícolas *per capita* na Europa situa-se entre 20 e 25 Kg, tendo um valor superior a 50 Kg em Portugal (CBI, 2015). Dentro da União Europeia, os países com mais consumo de bivalves *per capita* são localizados no sul da Europa, nomeadamente Espanha, França, Portugal, Itália e Grécia, havendo um consumo de 2,5 Kg *per capita* em Portugal (Anacleto *et al.*, 2014; CBI, 2015).

A produção mundial de bivalves em aquacultura tem vindo a crescer constantemente ao longo dos anos, desde uma produção de 7,1 milhões de toneladas em 1995 até mais de 14 milhões de toneladas atualmente (Anacleto *et al.*, 2014; FAO, 2017). As principais espécies de bivalves cultivadas em aquacultura pertencem as famílias

Mytilidae, Ostreidae, Veneridae e Pectinidae (Guerra et al., 2011). A China é o país que lidera a produção mundial, numa proporção superior a 80 % (FAO, 2018).

A produção de amêijoas assume um grande interesse económico ao longo das costas Espanholas (Fernández-Pardo et al., 2016). Em Portugal, a produção de bivalves é maioritariamente composta por amêijoas, numa proporção de 61%. (Anacleto *et al.*, 2014). Em 2015, as capturas nominais de amêijoas em Portugal atingiram valores de 1021 toneladas e 2,7 milhões de euros, enquanto a sua produção em aquacultura atingiu as 2300 toneladas e 26 milhões de euros (INE, 2016).

As amêijoas são um produto alimentar muito relevante, especialmente nos países do Mar Mediterrâneo (FAO, 2018). Com exceção das vieiras e ostras, todos os outros bivalves têm preços muito altos, o que se reflete principalmente na forte demanda sazonal. A produção de mexilhões e amêijoas não acompanham as exigências do mercado durante o verão. É provável que os países em desenvolvimento invistam em boas infra-estruturas e controlo de qualidade para se exportar para o mercado de bivalves na União Europeia (FAO, 2017).

## 1.2 Morfologia, reprodução e ciclo de vida de moluscos bivalves

Como todos os moluscos, as amêijoas apresentam o seu corpo principalmente formado pela massa visceral, pé, manto e concha (Gosling, 2015). A concha é a parte exterior do bivalve, constituída por 2 valvas inequilaterais, com um plano de simetria paralelo à charneira - zona do umbo, onde as valvas articulam uma com a outra. Estas encontram-se unidas por ligamentos e músculos adutores, que permitem a contração e a retração do organismo, encerrando-o no interior da concha (da Costa, 2012).

A massa visceral das amêijoas é onde se encontram todos os sistemas de órgãos destes animais (figura 1). O manto é a estrutura responsável pela produção da concha e executa também trocas gasosas. Localiza-se internamente à concha, aderido à face interna de cada valva (Lesser, 2011), deixando uma impressão marcada junto à margem ventral - a linha paleal, que corresponde ao bordo terminal do manto. Na região posterior do corpo do animal, o bordo do manto une-se formando dois sifões - o exalante e o inalante, responsáveis pela circulação de água no interior da concha, necessária para obtenção de alimento, trocas gasosas, bem como para a eliminação de fezes e produtos de excreção

(Hickman *et al.*, 2016; Gosling, 2015). Estes poderão ser mais ou menos desenvolvidos, consoante os bivalves vivam mais ou menos enterrados profundamente no sedimento. Consequentemente, os sífões causam uma deflexão do bordo do manto, que se reflete na impressão deixada pelo mesmo na face interna das valvas – o sinus palial. Internamente, junto da massa visceral, existe também o pé – um órgão muito musculado, usado para a locomoção e fixação no substrato (Bouchet & Rocroi, 2010).

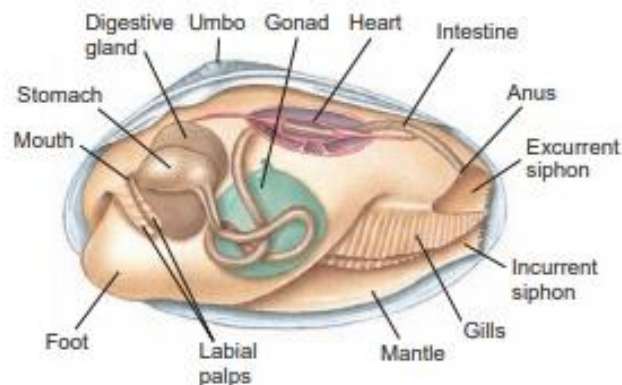


Figura 2 – Morfologia interna de moluscos bivalves [adaptado de Castro & Huber (2006)].

As amêijoas apresentam um sistema circulatório de estrutura simples, com circulação aberta. O coração posiciona-se na região dorsal da massa visceral e é formado por duas aurículas e um ventrículo (Cerviño-Otero, 2011). A hemolinfa é bombeada pelas aortas, para a cavidade do corpo, e volta a ser recolhida por seios venosos até ao ventrículo. O elemento metálico do pigmento respiratório, responsável pela ligação e transporte de oxigénio/dióxido de carbono, é o cobre (Helm *et al.*, 2004; Gosling, 2015)

O sistema nervoso dos bivalves também é considerado muito simples, formado por três pares de gânglios principais - cerebrais, viscerais e pedulares, que se encontram unidos através de um cordão neural. (Castro & Huber, 2006; Hickman *et al.*, 2016)

O sistema respiratório destes espécimes é composto por um par de brânquias em cada lado da massa visceral, formadas por lamelas ciliadas, sobrepostas paralelamente. Estas estruturas têm funções respiratória e de filtração de alimento (Helm *et al.*, 2004; Lesser *et al.*, 2011). A água e o alimento são recolhidos pelo sífon inalante e são conduzidos até às brânquias. A água é forçada a passar entre os espaços das lamelas, ao

passo que o alimento é retido pelas mesmas. Dois músculos – os palpos labiais, recolhem o alimento e conduzem-no até à boca.

O sistema digestivo é completo, sendo formado pela boca, um curto esófago, o estômago (onde ocorre a transformação das substâncias alimentares em compostos mais simples e absorvíveis), prosseguindo para o intestino que irá formar as fezes que serão expulsas pelo ânus, através do sifão exalante (Gosling, 2015; Hickman *et al.*, 2016).

A reprodução das amêijoas varia consoante as reservas alimentares, temperatura e da localização geográfica destes organismos (Gozler & Tarkan, 2000; Delgado & Pérez-Camacho, 2005; Matias *et al.*, 2009; Pereira, 2011). Nas primeiras desovas da vida das amêijoas, o número de gâmetas pode ser reduzido e não existir viabilidade dos mesmos, sendo que a fecundidade e a fertilidade aumentam ao longo das posturas seguintes (Chung *et al.*, 2005; Moore, 2006). Na maioria dos bivalves, a maturidade sexual depende mais do tamanho do que da idade do indivíduo, sendo que na amêijoas-boa *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) ocorre aos 20 mm de largura da concha (Machado, 2015).

Embora haja espécies de bivalves hermafroditas, as amêijoas exibem apenas um tipo de gónada por indivíduo (feminina ou masculina), sendo assim organismos gonocóricos. Ao longo do ano, o período de gametogénese e libertação dos gâmetas varia entre as diferentes espécies de amêijoas, em que estas podem ser reprodutores contínuos ou sazonais. Assim, estudos sobre os ciclos reprodutivos das espécies assumem uma grande importância, especialmente no que respeita àquelas que apresentam potencial para serem produzidas em aquacultura (Ojea *et al.*, 2004; Joaquim *et al.*, 2008; Luz & Boehs, 2011; Matias *et al.*, 2013).

Inicialmente, as gónadas ocupam pouco espaço na parte ventral da massa visceral, sendo que aumentam de tamanho à medida que se completa a maturação sexual. As gónadas são uma rede tridimensional de ductos ciliados, que se iniciam nos folículos – a unidade funcional das gónadas. Os folículos são formados pela parede folicular, que consiste numa fina camada de fibroblastos. Esta rodeia uma massa de células de diferentes tipos (muitas delas com funções desconhecidas), das quais se destacam as células germinais, a partir das quais se desenvolvem os espermatozoides ou os oócitos. No final da gametogénese, as gónadas apresentam um aspeto granuloso ou leitoso (Moscoso, 2000).

A fecundação dos gâmetas ocorre externamente ao corpo dos bivalves, sendo os mesmos expelidos para a coluna de água através do sifão exalante (Gosling, 2015). A duração do desenvolvimento embrionário dos bivalves é específico para cada espécie, dependente da temperatura e dos nutrientes/energia disponíveis nos oócitos (Helm *et al.*, 2004; Matias *et al.*, 2011). Em 24 horas, a maioria das espécies passa pelos estádios de zigoto, mórula, blástula e gástrula, em função das sucessivas mitoses que permitem a rápida proliferação celular (Helm *et al.*, 2004). Entre as 24 e as 26 horas, o embrião dará lugar à larva trocófora. Esta é uma larva planctónica, de forma aproximadamente oval, com tamanho entre os 60 e os 80  $\mu\text{m}$ . Caracteriza-se por apresentar uma banda de cílios na região equatorial e tufo de flagelos apicais, responsáveis pelos movimentos de natação e suspensão na coluna de água (Helm *et al.*, 2004). Nesta fase, os organismos já apresentam valvas rudimentares, de natureza calcária (Aranda *et al.*, 2014).

Posteriormente as larvas de bivalves assumem a forma da letra “D” – larva velígera (larva D ou prodissoconcha I), com largura máxima entre os 80 e os 100  $\mu\text{m}$  (figura 2; Helm *et al.*, 2004). Nesta etapa, a concha é composta por duas valvas com charneira reta, com sistema digestivo completo. A larva velígera apresenta o velum como característica particular - estrutura circular que se projeta para o exterior entre as valvas, apresentando cílios ao longo da sua margem exterior, que é responsável pela natação e captura de fitoplâncton na coluna de água.

Entre os com 100 a 150  $\mu\text{m}$ , formam-se os umbos (Aranda-Burgos *et al.*, 2014) – vagamente explicados como sendo uma grande protuberância para a extremidade anterior do lado dorsal da concha, em ambas as valvas. As larvas umbuladas (prodissoconcha II) dispõem ainda de velum, mas apresentam formas muito variadas e distintas, consoante a espécie. À medida que crescem, os bivalves desenvolvem o pé - estrutura que irá desempenhar funções de reconhecimento de substratos e locomoção, e designam-se por larva pedivelígera (Pereira, 2011). Nesta fase, surgem as lamelas branquiais para a recolha de alimento e execução das trocas respiratórias, os sifões e a concha definitiva (dissoconcha). Nesta etapa, as larvas perdem o velum totalmente e descem para junto do substrato. Usam o pé para se locomoverem e/ou enterrarem. Este evento representa o recrutamento bentónico ou fixação dos bivalves. Ao terminarem todas as metamorfoses larvares e pós-larvares, os bivalves alcançam uma largura aproximada de 300  $\mu\text{m}$ . Já são

organismos morfológicamente semelhantes aos adultos, tanto interna como externamente, sendo chamados de “sementes” (Castro & Huber, 2006; Cerviño-Otero, 2011).

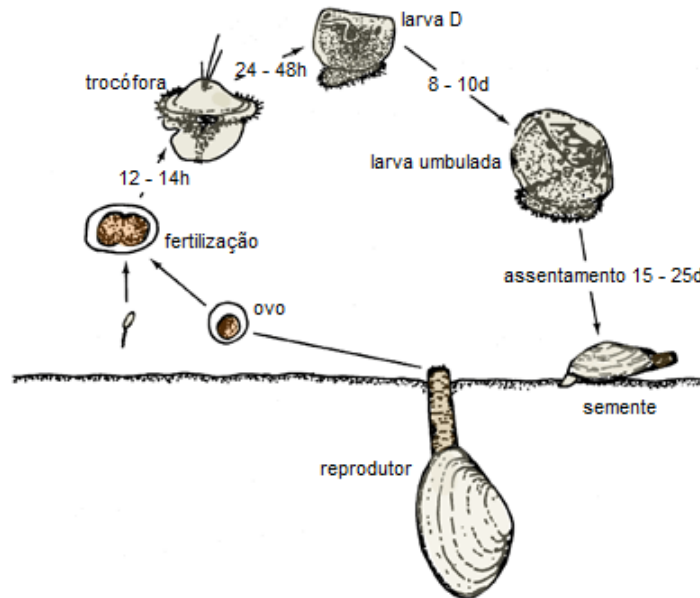


Figura 2 - Ciclo de vida de *Mya arenaria* [adaptado de Abraham & Dillon (1986)].

### 1.3 Produção de amêijoas em aquacultura

O cultivo de amêijoas não apresenta grandes variações entre espécies (FAO, 2012). Este divide-se no acondicionamento de reprodutores, maternidade, pré-engorda e engorda (figura 3). A reprodução artificial de bivalves requer uma manipulação dos fatores físico-químicos do meio de cultivo e abundância de alimento (Matias *et al.*, 2009). Ao providenciar condições ideais à sobrevivência, crescimento e maturação sexual dos organismos, procura contorna-se assim o problema da sazonalidade de reprodução natural das amêijoas, que limita a sua produção em cativeiro. Ao longo do acondicionamento, podem ocorrer reproduções espontâneas, como também se pode induzir a libertação dos gametas. Para tal, recorre-se à técnica de indução de “choques térmicos”, em que se aumenta a temperatura da água do sistema de cultivo, durante um curto período de tempo, para retornar à temperatura original logo de seguida (por exemplo: aumentar 10 °C durante 30 minutos; Cerviño-Otero, 2011; Aranda-Burgos, 2017). Por outro lado, é possível usar a adição de espermatozoides à água de cultivo, para estimular e sincronizar a libertação de gametas em algumas espécies de bivalves (FAO, 2006).

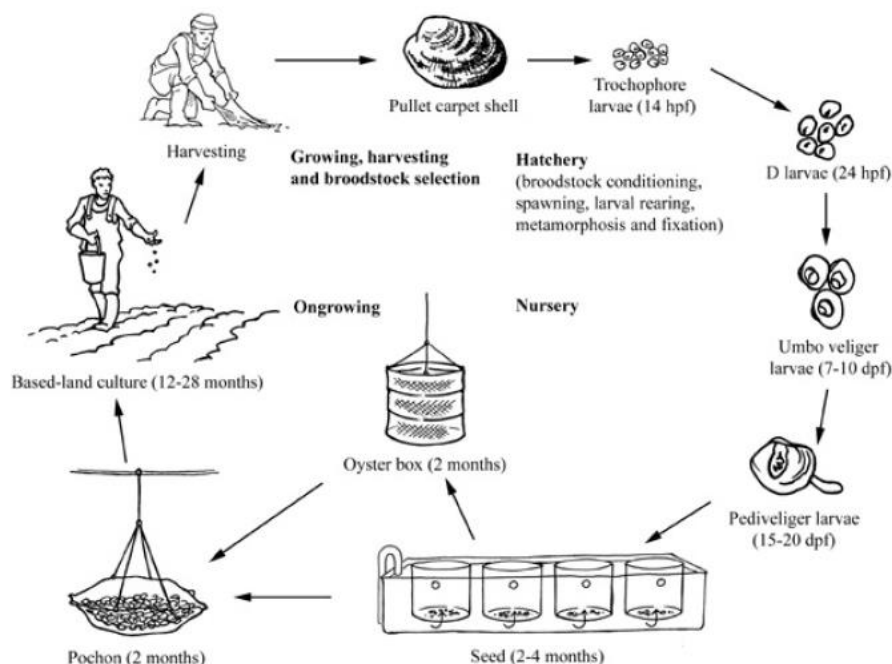


Figura 3 – Ciclo de produção de bivalves em aquicultura [retirado de FAO (2006)].

Os processos de fecundação, desenvolvimentos embrionário e larvar, metamorfoses e recrutamento de bivalves são já possíveis de ocorrer em cativeiro. Neste sector, a qualidade da água e a correta nutrição são de extrema relevância para a sobrevivência dos indivíduos (Jara-Jara *et al.*, 1997). Nos sistemas de acondicionamento de reprodutores, deve recolher-se os gâmetas libertados, através de filtração dos mesmos, preferencialmente de forma a mantê-los isolados. Estes deverão ser transferidos para tanques idealmente cilindro-cónicos, de pequeno volume ( $\approx 50$  L), de forma a executar os procedimentos necessários para obter taxas de fecundação ideais. Posteriormente, as larvas devem ser transferidas para tanques cilindro-cónicos de maiores volumes. Ao longo do crescimento larvar, deve separar-se as larvas por diferentes classes de tamanho. Na altura do recrutamento bentónico, estas deverão ser colocadas dentro de um recipiente com fundo em rede, com uma malha de tamanho apropriado, mergulhado num sistema de cultivo aquático.

Quando os juvenis chegam ao tamanho de 1 mm de largura máxima de concha, estes podem ser transferidos para sistemas de pré-engorda. Serão mantidos até que tenham um tamanho suficiente para serem transferidos para os sistemas de engorda, que geralmente é aos 3 mm. Tanto a pré-engorda como a engorda de amêijoas são processos

simples, que podem decorrer no meio ambiente natural, em infra-estruturas flutuantes (como *long-lines* e bandejas), em que é necessário a manutenção regular do substrato e oxigenação do meio de cultivo (Moscoso, 2000).

As diversas metamorfoses no ciclo de vida dos bivalves, desde a fase de larva planctónica até ao recrutamento bentónico das mesmas, variam entre as espécies cultivadas e dependem essencialmente do valor e qualidade nutricional da dieta fornecida, bem como da temperatura (Albentosa *et al.*, 1994; Fernández-Reiriz *et al.*, 2009). Em aquacultura, a monitorização da ocorrência do estágio de larva velígera é crucial, pois é imperativo fornecer alimentação exógena de qualidade e em quantidades ideais para a sobrevivência, crescimento e desenvolvimento larvar bem-sucedido. A generalidade dos moluscos bivalves alimenta-se através da filtração da água, levando a que a produção de microalgas seja uma das operações mais importantes no seu cultivo (Albentosa & Moyano, 2008). Costuma fornecer-se microalgas unicelulares para a alimentação de larvas de bivalves, sendo benéfico o fornecimento de dietas compostas por diversas espécies de microalgas. O teor em lípidos é bastante relevante na alimentação destes organismos. Principalmente os lípidos de cadeia longa (Novoa *et al.*, 2002), uma vez que são usados como reservas energéticas, para a gametogénese dos indivíduos reprodutores acondicionados, e constituem a principal reserva nutricional no desenvolvimento embrionário e larvar (Delgado *et al.*, 2004). Na alimentação de bivalves usam-se maioritariamente as seguintes espécies de microalgas: *Isochrysis galbana* (Parke, 1949), *Tetraselmis suecica* (Kyllin (Butcher)) e *Pavlova lutheri* (Droop (Green)).

A fase de recrutamento bentónico é considerada a mais crítica nas maternidades de bivalves (François *et al.*, 1999). A sua ocorrência é variável em função da espécie. Após a perda do velum, ocorre: 1) reorientação dos órgãos, 2) o sistema digestivo torna-se mais complexo, 3) diferenciação dos sistemas nervoso e circulatório e 4) desenvolvimento das dobras do manto e da musculatura (Cerviño-Otero, 2011). Apesar das larvas bivalves apresentarem elevadas taxas de crescimento, as suas diferentes metamorfoses são acompanhadas de grandes percentagens de mortalidade, tanto no meio natural como em cativeiro (Pérez-Camacho *et al.*, 1977; Chúcaro & Chúcaro, 2001; Rico-Villa *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2010).

1.4. A amêijoa-macha *Venerupis corrugata*(Gmelin, 1791) e a amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

A amêijoa *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) (também conhecida por *Venerupis pullastra* e *Venerupis senegalensis*) é considerada um alimento tradicional em Portugal e Espanha, principalmente na Galiza. Em Portugal, o nome comum desta espécie é amêijoa-macha e em Espanha dá-se o nome de amêijoa babosa. Os indivíduos desta espécie têm uma concha ovalada e ligeiramente alargada, apresentando três dentes cardinais em cada valva. A valva na região anterior é arredondada e na região posterior é quase reta. O umbo distingue-se por se localizar mais para a região anterior da concha (Rayment, 2007). A superfície exterior da concha apresenta coloração desde creme a cinzenta, com bandas alternadas de cor escura. Tem numerosas estrias longitudinais, bem marcadas, e estrias radiais quase impercetíveis, (figura 4; Pérez Camacho, 1980). Na parte interior, as valvas apresentam coloração branca brilhante (ocasionalmente púrpura), com a linha paleal bem definida, em forma de “U”, que se estende para além da linha média da concha. Estas amêijoas têm uma largura máxima de 5 cm, sendo comercializadas com um tamanho mínimo de 3 cm (Rayment, 2007; DGRM, 2016). A amêijoa *V. corrugata* tem sífões muito curtos e unidos na sua totalidade. Liberta um muco, principalmente no estágio juvenil, pelo que se lhe dá o nome comum de amêijoa babosa em Espanha.

A amêijoa bicuda (nome comum em Portugal e Espanha), ou amêijoa-cão (outro dos nomes comuns usado em Portugal) *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) (também conhecida por *Venerupis aurea*) é uma espécie autóctone nestas regiões, embora seja menos apreciada gastronomicamente. A amêijoa-cão apresenta uma concha de formato sub-triangular, com três dentes cardinais na sua charneira. As valvas são exteriormente caracterizadas por linhas longitudinais muito finas, separadas por pequenos sulcos, e estrias radiais pouco visíveis. A sua cor externa varia entre o branco sujo, o creme e o cinzento, tendo uma mancha escura triangular na sua parte anterior (figura 4; Fariña, 2005). Interiormente, a concha desta espécie não apresenta a linha paleal bem definida, tendo uma coloração entre o amarelo e o dourado. Esta amêijoa apresenta sífões de tamanho médio e unidos até ao meio. Os adultos podem crescer até 4,5 cm de largura de concha e o seu tamanho mínimo de comercialização é de 2,5 cm (Department for Business, Energy & Industrial Strategy (2016); DGRM, 2016). Um dos seus nomes comuns – amêijoa-bicuda - é devido à forma pontiaguda do umbo desta espécie.



Figura 4 – Morfologia externa e interna das conchas da amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (do lado esquerdo) e da amêijoa-cão *Polittapes aureus* (do lado direito) [adaptado de World Register of Marine Species].

Estas duas espécies de amêijoa têm importância comercial essencialmente em Portugal, Espanha (mais especificamente na Galiza), França e Itália (Reis *et al.*, 1982; FAO, 2006; Otero, 2011; Pereira, 2011). A captura destas amêijoas pode-se realizar a pé em zonas intertidais, com o auxílio de ferramentas tradicionais, como sacos e pás, ou com recurso a embarcações, utilizando a técnica de arrasto, em zonas que se encontram constantemente submergidas. (Fariña, 2005).

### 1.5. Objectivos

Poucos foram os estudos realizados no âmbito da biologia e da reprodução da amêijoa *V. corrugata* (Albentosa *et al.*, 1993; Jara-Jara, 2000; Fariña, 2005; García-Lavandeira *et al.*, 2005; Cerviño-Otero, 2011; Joaquim *et al.*, 2014; Fernández-Pardo *et al.*, 2016). No entanto, *P. aureus* é ainda uma espécie críptica. Ainda assim, estes organismos reúnem características, que geram interesse para que sejam produzidas em aquacultura, de forma a responder à procura por estas espécies no mercado de vários países.

Por esse motivo, realizou-se um estágio curricular no CIMA - Centro de Cultivos Marinhos, que surgiu em 1978, em Ribadeo (Espanha; coordenadas 043°31'56,96"N; 07°5'56,87"W). Este centro tem realizado vários cultivos larvares, pós-larvares e de

sementes, de espécies de moluscos bivalves com interesse comercial na Galiza. O CIMA cultiva estes organismos até que estes obtenham um tamanho adequado para a sua introdução nos ecossistemas costeiros (Cerviño-Otero, 2011). Este centro de cultivos é um organismo dependente da *Consellería do Medio Rural e do Mar* da *Xunta de Galicia*, que obtém financiamento a partir de projetos de investigação. O estágio curricular realizado neste centro de cultivos teve como propósito geral conhecer o trabalho de rotina diária numa maternidade de bivalves, não só nos procedimentos com as larvas, mas também no cultivo de microalgas, como no acondicionamento de reprodutores. Durante o estágio, foi desenvolvido um ensaio, que teve como principal objectivo contribuir para a elaboração de um protocolo de cultivo de *P. aureus*, nomeadamente quanto ao maneo das suas larvas em maternidades. Para tal, fez-se o estudo comparado das características biométricas e índices de condição de reprodutores, da caracterização temporal do desenvolvimento larvar, da densidade e sobrevivência larvar e pós-larvar, bem como do crescimento individual das amêijoas *V. corrugata* e *P. aureus*. Os ensaios realizados tiveram por como finalidade geral contribuir para a produção destas espécies em cativeiro.



## 2. Materiais e Métodos

2.1. Obtenção e acondicionamento dos reprodutores de amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) de amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

Em 28 de Fevereiro de 2018, adquiriram-se 411 reprodutores *V. corrugata*, provenientes da Ría de Coruña (Galiza, Espanha). Os organismos *P. aureus* foram adquiridos no banco de Cangas (Galiza, Espanha), tendo sido rececionados em 4 lotes distintos: 23 reprodutores em 17 de janeiro, 55 indivíduos a 16 de fevereiro, 92 organismos a 15 de março e 41 indivíduos no dia 27 de abril de 2017. Os organismos foram transportados para o CIMA - Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo (Espanha), dentro de uma caixa isotérmica com gelo seco, sem água.

Dados biométricos (largura, altura e espessura) foram apenas medidos nos reprodutores do último lote de amêijoia-cão *P. aureus*, a quando da sua recepção no CIMA - Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo. Foram sacrificados 20 indivíduos. A altura dos organismos foi medida como sendo a distância, em centímetros, desde o umbo até margem ventral das valvas. A largura da concha foi determinada pela distância entre a região anterior e a região posterior da concha. A espessura foi determinada pela distância entre as margens exteriores das valvas, na região ventral. Também se pesaram os organismos, bem com as suas conchas, massa visceral e gónadas, com uma balança analítica *COBOS CI4200CBC* (Cobos Precizion, Barcelona, Espanha).

Os bivalves foram acondicionados num sistema aberto (Figura 5), com arejamento constante e renovação da água de cultivo a 30 – 50 litros por hora. A água era tratada antes de entrar no sistema, (passando por um filtro de areia. Este sistema era composto por 25 tanques retangulares de fibra de vidro, com 150 litros de volume. As amêijoas foram colocadas numa densidade de aproximadamente 150 indivíduos por tanque, acondicionadas em bandejas perfuradas lateralmente e no fundo, de forma a fazer circular o alimento até aos organismos e a remover as fezes.



Figura 5 – Sistema aberto para acondicionamento de reprodutores da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), com a saída de água para o interior de uma pilha de crivos, com vista à retenção de fezes e embriões, separadamente.

Diariamente mediu-se a temperatura da água do sistema de cultivo, que variava entre os 15 e os 20 °C. Para manter esses valores durante os meses de Inverno, foi necessário usar aquecedores com termostato *EHEIM JÄGGER de 300 W* (EHEIM GmbH & Co KG, Estugarda, Alemanha). A salinidade também foi monitorizada diariamente, apresentando valores próximos de 33. A temperatura e a salinidade dos sistemas de acondicionamento das amêijoas reprodutoras eram medidas com uma sonda multiparamétrica *HANNA HI 9828* (HANNA Instruments, Póvoa de Varzim, Portugal). Diariamente, estes reprodutores foram alimentados por uma dieta mista de microalgas e monitorizados quanto à ocorrência de mortalidade, em que os organismos mortos eram removidos do sistema. Três vezes por semana, os tanques eram esvaziados, lavados e reabastecidos, para evitar a acumulação de detritos, fezes e bactérias no fundo, bem como nas paredes dos mesmos.

2.2. Reprodução e recolha de embriões da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

Sob condições ideais de acondicionamento, as amêijoas sexualmente maduras libertam os seus gâmetas de forma espontânea. Tal foi o que se verificou para *V. corrugata* e *P. aureus*, após a sua recepção no CIMA – Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo. Por esse motivo, a separação e recolha dos gâmetas não foi possível. A água saía dos tanques do sistema aberto de acondicionamento e escoava para dentro de dois crivos sobrepostos. O crivo superior tinha uma malha de 120 µm e destinava-se a reter os dejectos das amêijoas. O crivo inferior, com 45 µm de malha, tinha por finalidade realizar a recolha dos gâmetas, zigotos e embriões. A quando de uma postura, a água de cultivo tornava-se turva e de cor esbranquiçada.

Os zigotos e embriões foram colocados dentro de tanques cilindrocónicos de 500 L, onde decorreram os desenvolvimentos embrionário, larvar e pós-larvar. A libertação dos gâmetas no ensaio de *V. corrugata*, e nos dois ensaios de *P. aureus* decorreram, respetivamente, a 01 de março, 28 de fevereiro e 29 de abril de 2017.

2.3. Crescimento larvar, pós-larvar, de semente e de juvenis da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

Ao longo do presente estágio curricular realizou-se apenas um ensaio do cultivo das fases iniciais do desenvolvimento de *V. corrugata*, uma vez que já existiam estudos anteriores (Albentosa *et al.*, 1993; García-Lavandeira *et al.*, 2005; Joaquim *et al.*, 2014; Fernández-Pardo *et al.*, 2016). No caso de *P. aureus*, existe pouca informação sobre esta espécie. Por este motivo, foram realizadas duas réplicas da postura e seguimento do seu desenvolvimento larvar. O cultivo de *V. corrugata*, assim como o primeiro ensaio do cultivo de *P. aureus*, foram desenvolvidos com início no final do Inverno. Enquanto que, a segunda réplica de *P. aureus* se iniciou-se a meados da Primavera.

Por normas do CIMA - Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo, as amêijoas foram apenas monitorizadas a partir da primeira semana após a fecundação. Após esse período, avaliou-se se o cultivo teria número suficiente de indivíduos, de forma a

rentabilizar os tanques, o uso dos sistemas e a garantir a viabilidade do estudo e fiabilidade dos dados.

O cultivo das larvas de amêijoas foram executados em tanques cilíndricos de 500 L (figura 6), em sistema fechado, com água salgada previamente tratada por um filtro de areia e por filtro ultravioleta, à temperatura ambiente, ( $\approx 17 \pm 3$  °C). Em cada tanque, colocou-se um arejamento constante, de baixa intensidade. No início do presente estudo, as densidades dos cultivos foram estabelecidas para aproximadamente 5 indivíduos por mililitro. O primeiro ensaio com *P. aureus* foi uma exceção, visto que a postura não produziu organismos suficientes para se obter essa densidade.



Figura 6 – Tanques cilindro-cônicos de 500 litros, utilizados nos cultivos larvares realizados para a amêijoamacha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e a amêijoacão *Polittapes aureus* (Gmelin, 1791).

Mediu-se a temperatura da água em cada tanque, diariamente, com um termómetro analógico. Para os estádios anteriores aos de larva pedivelígera, se a temperatura de cultivo fosse inferior a 15°C, recorria-se ao uso de aquecedores com termóstato *EHEIM JÄGGER de 300 W* (EHEIM GmbH & Co KG, Estugarda, Alemanha). A partir do estágio de larva

velígera, forneceu-se alimento exógeno, composto por uma mistura de microalgas, numa concentração de 40 células  $\mu\text{L}^{-1}$  no interior do tanque.

Em dias alternados da semana, esvaziavam-se os tanques de cultivo. As larvas eram recolhidas com crivos, à saída do sistema de purga do tanque, sendo separadas por tamanho e, conseqüentemente, estágio de desenvolvimento larvar. Os tanques eram lavados e reabastecidos, onde se reinseriam as larvas recolhidas.

Em paralelo às renovações da água dos tanques de cultivo, recolhiam-se amostras das larvas retidas em cada crivo. As larvas eram transferidas para um volume de 2 litros de água e homogeneizava-se a sua suspensão. Posteriormente, retiravam-se 5 réplicas de 20  $\mu\text{L}$ , que eram observadas numa lupa binocular *URA Technic FO.225A* (LABOLAN, Esparza, Espanha), para se determinar a densidade das larvas em cada tanque de cultivo. O estágio larvar foi determinado através da observação *in vivo* de 50 a 100 larvas, ao microscópio óptico composto *Leica DM750*, equipado com uma câmara de 5 megapixéis *Leica ICC50W* (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha). As imagens foram processadas através do *software Leica Application Suite 4.7.2*. (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha), para se medir a largura máxima das larvas.

Quando as larvas de *V. corrugata* ficavam retidas num crivo de 150  $\mu\text{m}$ , o seu tamanho correspondia ao início do estágio de larva pedivelígera (ou seja, em que as larvas formavam o pé; Cerviño-Otero, 2011). Nesta altura, as larvas eram transferidas para um sistema de cultivo adequado para o seu recrutamento bentónico. O mesmo procedimento foi utilizado para o primeiro ensaio de cultivo de *P. aureus*. No entanto, verificou-se que 150  $\mu\text{m}$  ainda não correspondia à formação de larvas pedivelígeras desta espécie. Conseqüentemente, estas foram selecionadas usando um crivo de 170  $\mu\text{m}$  no segundo ensaio. Neste estágio, as larvas eram colocadas dentro de tabuleiros com o fundo em rede, de malha inferior ao seu tamanho (normalmente de 120  $\mu\text{m}$ ). Estes tabuleiros eram imersos parcialmente em tanques cilindro-cónicos, ficando apoiados no rebordo dos mesmos. Estabelecia-se uma circulação de água, recorrendo a um sistema de *airlift*, constituído por um tubo a circular água, desde o fundo do tanque até à superfície do mesmo, e outro a verter para o interior do tabuleiro. Após o recrutamento bentónico das larvas, as rotinas semanais mantinham-se semelhantes às descritas anteriormente.

Quando as larvas ficam retidas num crivo de malha calibrada de 300 µm, todos os indivíduos do mesmo tanque foram colocados num recipiente e pesados numa balança *COBOS CI4200CBC* (Cobos Precizion, Barcelona, Espanha). Posteriormente, retiram-se 3 pequenos lotes. A biomassa total de indivíduos de cada lote foi medida numa balança analítica *Scaltec SBC 22* (SCALTEC INSTRUMENTS GmbH, Göttingen, Alemanha). A seguir, contaram-se os indivíduos de cada um dos lotes. Posteriormente, extrapolou-se a abundância de sementes em cada tanque. As rotinas de cultivo constaram na realização de trocas de água, lavagem dos tanques e dos tabuleiros em dias alternados, assim como as recolhas de amostras de 50 sementes aleatórias para as medições da largura da concha. Neste caso, as medições foram feitas através de uma lupa binocular *Nikon SMZ-10A* (Nikon, Tóquio, Japão), equipada com uma câmara de 5 megapixéis *Nikon DS-F11* (Nikon, Tóquio, Japão). As imagens foram processadas através do *software NIS-Elements BR 3.0*.

No final no primeiro cultivo de *P. aureus* e do de *V. corrugata*, contabilizaram-se apenas os organismos que se encontravam no estágio de juvenil. As restantes amêijoas foram negligenciadas e transferidas para outros sistemas de cultivo, dentro do CIMA – Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo, por razões de logística e rentabilização de espaço.

#### 2.4. Produção de microalgas

Para a alimentação exógena das amêijoas, desde larvas até serem reprodutores, é necessário um cultivo auxiliar de microalgas. O cultivo era iniciado com um inóculo de 20 mL, que culminavam em bolsas/mangas plásticas de 400 L (figura 7). No CIMA - Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo, a produção de microalgas caracteriza-se por cultivos contínuos ou descontínuos (dependendo da secção) e intensivos monoespecíficos, havendo produção de *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen, 1968), *Isochrysis galbana* (Parke, 1949), *Paulova lutheri* Droop (Green)), *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin, 1898), *Rhodomonas salina* (Stearn, 1973), *Skeletonema costatum* (Stearn, 1973) e *Tetraselmis suecica* (Kyllin (Butcher)).

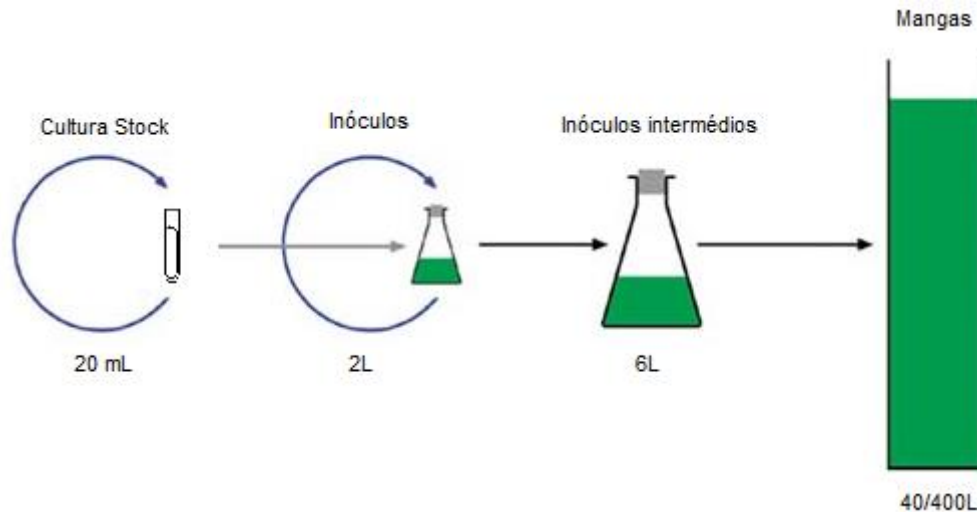


Figura 7 – Esquema de cultivo de microalgas no CIMA - Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo.

O cultivo de microalgas dividia-se em duas zonas distintas: câmara isotérmica e estufa. O cultivo iniciava-se numa câmara isotérmica, onde existia cultivo descontínuo, com uma temperatura de  $19 \pm 1$  °C, fornecimento de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) durante uma hora diariamente e iluminação artificial constante. Primeiro produziam-se os inóculos em tubos de ensaio de 20 mL, que eram replicados uma vez por semana, para se manter um *stock* das microalgas. Posteriormente, estes tubos iriam servir para os inóculos de 2 e 6 L, que eram constantemente arejados. Nestes inóculos, juntava-se água salgada (salinidade 30), tratada por um filtro de areia e filtros de cartuchos de 5 µm, ao meio de cultivo. A água de cultivo era enriquecida com uma solução de sais nutritivos *ALGAL-1* (Aqualgae, Coruña, Espanha), composta por nitrato de potássio, fosfato monossódico, oligoelementos (ferro, zinco, manganês, cobalto, cobre e EDTA) e vitaminas (B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> e H). No caso das microalgas diatomáceas adicionava-se também uma solução de silicatos. A água e os materiais de cultivo eram esterilizados num autoclave a 120 °C e 2 bar.

A fase seguinte da produção de microalgas era situada numa estufa, onde se mantinha o arejamento constante, com iluminação natural, mas sem enriquecimento em CO<sub>2</sub>. Nesta secção as microalgas eram cultivadas em mangas de plástico de 40 L (regime descontínuo) ou 400 L (cultivo contínuo), usando como meio de cultivo água esterilizada, tratada por filtro de areia, *solução C* de *Gold Medium* (Aqualgae, Coruña, Espanha), composta por nitrato de potássio, fosfato de potássio e oligoelementos (ferro, zinco,

manganês, cobalto, cobre e molibdénio), complementando-se o cultivo de diatomáceas com a adição de silicatos.

A alimentação para todos os organismos era retirada destes cultivos mantidos na estufa, sendo que a alimentação das larvas consistia numa dieta mista de *C. calcitrans*, *I. galbana*, *P. lutheri* e *T. suecica*. Os reprodutores eram alimentados com uma dieta mista, composta por todas as microalgas cultivadas.

## 2.5. Análise de dados

A apresentação gráfica dos resultados foi executada mediante a utilização do programa *Microsoft Office Professional Plus Excel 2007* (Microsoft Corporation, Albuquerque, Estados Unidos da América), bem como as análises estatísticas dos mesmos.

Sempre que aplicável, os valores foram apresentados sobre a forma de média  $\pm$  desvio-padrão ( $\bar{x} \pm sd$ ) e na análise estatística dos dados utilizou-se o nível de significância  $\alpha = 0,05$ .

Com os dados biométricos de *P. aureus* realizaram-se posteriormente os cálculos dos índices de condição visceral e gonadal, descritos no estudo de Ojea (2004). Mas no presente estudo, estes índices foram calculados usando o peso húmido dos organismos e das suas estruturas, ao invés de peso seco. O índice de condição visceral foi avaliado de acordo com a fórmula:  $ICV = \text{peso das vísceras} / \text{peso da concha} \times 100$ ; ao passo que a condição gonadal foi determinada como sendo:  $ICG = \text{peso das gónadas} / \text{peso das vísceras} \times 100$ .

Relativamente aos índices de condição de *V. corrugata*, estes foram retirados do trabalho de Cerviño-Otero(2011), uma vez que não foram recolhidos os seus dados biométricos no presente estudo. O motivo relaciona-se com a chegada destes organismos coincidir com o início do estágio curricular e, conseqüentemente, com o início dos estudos dos cultivos larvares. O trabalho de Cerviño-Otero (2011) decorreu igualmente no CIMA - Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo, com organismos de 25 de Fevereiro de 2005.

Avaliou-se a taxa de mortalidade instantânea entre os momentos em surgiram os novos estádios larvares das amêijoas *V. corrugata* e *P. aureus*, em cada um dos ensaios de cultivo, de acordo com a fórmula  $Z (\text{ind dia}^{-1}) = - \text{Ln} (N_{t+1} - N_t) / \Delta t$ ; em que  $Z$  é a taxa de

mortalidade instantânea;  $N$  a densidade de larvas (indivíduos  $L^{-1}$ );  $t$  e  $t+1$  os limites de um dado intervalo de tempo e  $\Delta t$  a duração desse intervalo de tempo.

A sobrevivência de larvas velígera e de larvas pedivelígeras foi determinada através das seguintes fórmulas: *Sobrevivência larvar (%) = (número de larvas velígera / número de larvas pedivelígera) × 100*; *Sobrevivência pós-larvar (%) = (número de larvas pedivelígera / número de sementes) × 100*.

Calculou-se a taxa de crescimento das amêijoas, através da seguinte fórmula: *Taxa de crescimento ( $\mu m\ dia^{-1}$ ) = (largura final – largura inicial) /  $\Delta t$* , em que  $\Delta t$  é o intervalo de tempo. No presente estudo foi realizada a taxa de crescimento larvar (tamanho entre larva trocófora e pedivelígera), pós-larvar (entre pós-larva e semente), de semente (entre semente e juvenis) e final (entre a primeira e a última medição do estudo).

A função logística  $y = A_1 + (A_1 - A_2) / (1 + (x - x_0)^p)$  foi utilizada para avaliar o crescimento individual das larvas *V. corrugata* e *P. aureus*, com base no modelo sigmoide de crescimento de Boltzmann, em que:  $A_1$  é o valor final da largura do corpo das amêijoas;  $A_2$  é o valor inicial;  $x_0$  é o ponto de inflexão da curva;  $p$  é o parâmetro que afeta o declive da curva no ponto de inflexão. O ajustamento do crescimento das amêijoas ao modelo sigmoide foi verificado pelo valor do coeficiente de determinação  $R^2$  e do valor de significância  $p$ . As comparações das curvas de crescimento individual das larvas das amêijoas *V. corrugata* e *P. aureus* foram executadas mediante uma análise da soma dos quadrados dos erros para equações não lineares (Haddon, 2011), com apresentação do valor do teste  $F$  e do valor de significância  $p$ . Os modelos foram aplicados para avaliar a taxa de crescimento de um indivíduo, desde: 1) a primeira amostragem (estádio de larva trocófora) até ao estágio de larva pedivelígera - crescimento individual larvar; 2) desde larva pedivelígera a semente - crescimento individual pós-larvar; 3) de semente a juvenil - crescimento individual de semente; e 4) o primeiro ao último momento de amostragem - crescimento individual total.



### 3. Resultados

3.1. Temperatura da água de cultivo larvar das amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

O único parâmetro físico-químico monitorizado ao longo do estudo foi a temperatura (figura 8). O mês com as temperaturas mais baixas foi Abril/2017 ( $16,95 \pm 0,75$  °C) e aquele com temperaturas mais altas foi Junho/2017 ( $20,11 \pm 0,49$  °C).

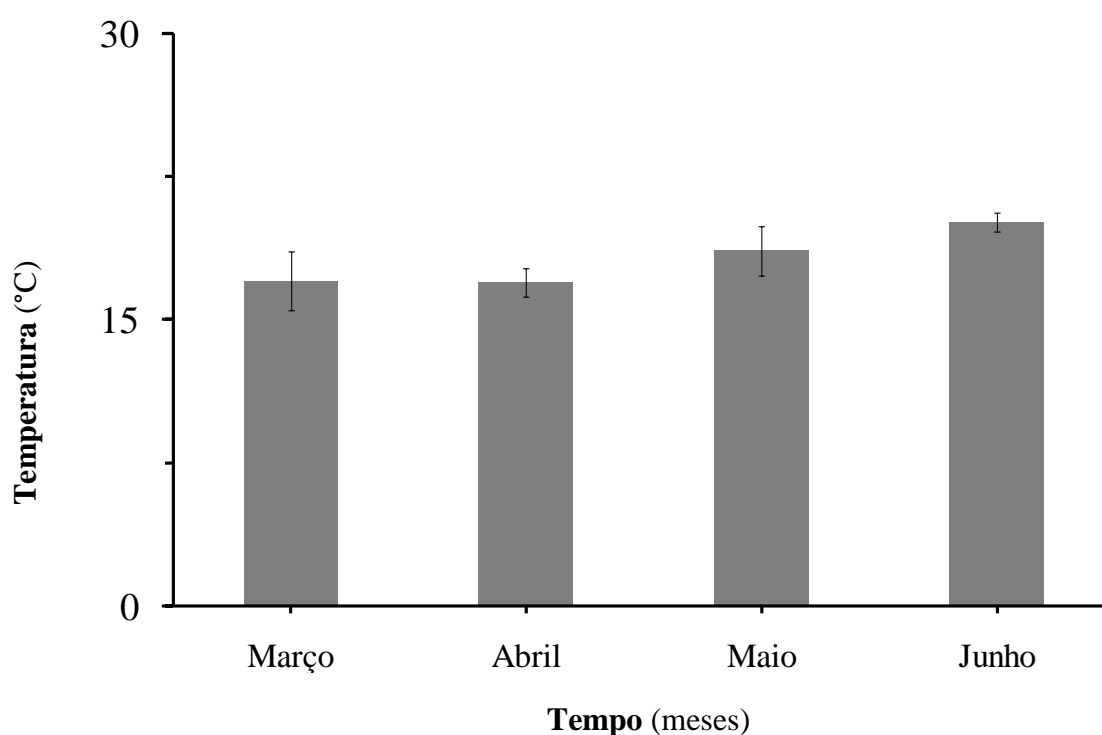


Figura 8 - Temperatura da água do cultivo larvar da amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), ao longo dos meses em que decorreu o presente estudo (média  $\pm$  desvio-padrão).

3.2. Acondicionamento de reprodutores e posturas das amêijoa-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoa-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

Os organismos de *Polititapes aureus* apresentaram largura, altura e espessura de concha inferiores aos de *Venerupis corrugata* (Tabela I). Da mesma forma, também os índices de condição visceral e gonadal foram superiores para a amêijoa-macha *V. corrugata* (Tabela I).

Tabela I – Dados biométricos, índices de condição visceral e gonadal (média  $\pm$  desvio-padrão) de reprodutores amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), medidos a 27 de Abril de 2017, e da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791), referente a organismos de 25 de Fevereiro de 2005 (Cerviño-Otero, 2011). \* - Os índices de condição visceral e gonadal de *V. corrugata* foram apenas apresentados como valores médios por Cerviño-Otero (2011).

		<i>V. corrugata</i>	<i>P. aureus</i>
Medidas (mm)	Largura	40,72 $\pm$ 3,39	34,10 $\pm$ 2,99
	Altura	27,76 $\pm$ 2,35	25,19 $\pm$ 2,25
	Espessura	19,42 $\pm$ 3,56	17,16 $\pm$ 1,58
Biomassa individual (g - Peso fresco)	Total	14,82 $\pm$ 3,81	9,02 $\pm$ 2,33
	Concha	7,49 $\pm$ 2,37	4,99 $\pm$ 1,09
	Massa visceral	3,81 $\pm$ 0,99	2,14 $\pm$ 0,69
	Gónada	1,00 $\pm$ 0,42	0,44 $\pm$ 0,19
Índices de condição (%)	Visceral	50,86*	42,89 $\pm$ 7,74
	Gonadal	26,25*	20,56 $\pm$ 4,15

A reprodução das amêijoas ocorreu de forma espontânea nos sistemas de cultivo. A libertação dos gâmetas ocorreu poucos dias posteriormente à chegada dos reprodutores ao CIMA – Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo (Tabela II). Os machos de ambas as espécies libertaram os gâmetas de forma contínua, conferindo um aspeto leitoso à água. Enquanto as fêmeas emitiram os oócitos por impulsos, com jatos de água lançados através do sifão exalante, que apresentavam um aspeto granular gelatinoso.

Tabela II – Datas de receção de reprodutores e de ocorrência de reprodução da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), bem como das temperaturas da água na altura das respetivas posturas.

Espécie	Data de chegada	Data de postura	Temperatura (°C)
<i>V. corrugata</i>	28/02/2017	01/03/2017	14
<i>P. aureus</i> (1)	16/02/2017	28/02/2017	16
<i>P. aureus</i> (2)	27/04/2017	29/04/2017	15

Ao longo do estudo, existiu apenas uma postura de *V. corrugata*, que decorreu no final do Inverno. Ocorreram duas posturas de *P. aureus*, em que uma foi no final do Inverno e a seguinte em meados da Primavera (Tabela II).

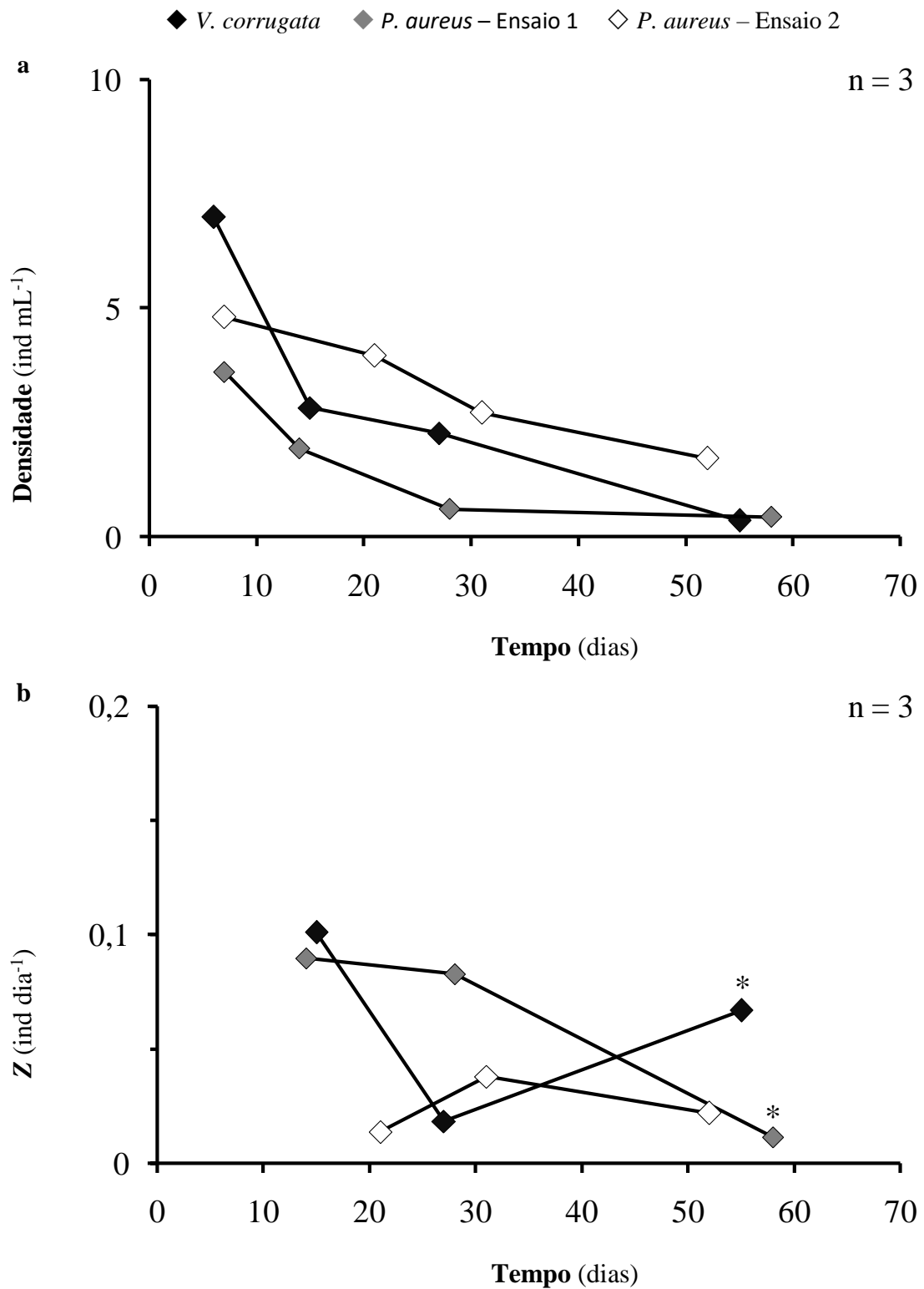
---

### 3.3 Desenvolvimento larvar da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

Ao fim de uma semana após a remoção dos embriões do sistema de cultivo dos reprodutores, contabilizaram-se 7,0 milhões de larvas trocóforas *V. corrugata*. Ao passo que, na primeira e segunda posturas de *P. aureus* obtiveram-se 1,8 e 12,0 milhões de larvas trocóforas, respetivamente.

No entanto, o ensaio de *V. corrugata* foi iniciado com apenas 3,5 milhões de larvas trocóforas, enquanto no primeiro ensaio de *P. aureus* utilizaram-se todas as 1,8 milhões de larvas e apenas 2,4 milhões no segundo ensaio. Estas quantidades corresponderam a 7, 3,6 e 4,8 larvas mL<sup>-1</sup>, respetivamente (figura 9a).

Ao longo do tempo, a densidade dos cultivos foi diminuindo (figura 9a), sendo que o cultivo larvar de *V. corrugata* foi o que registou maiores taxas de mortalidade instantâneas quando surgiram as larvas pedivelígeras e no final do ensaio (figura 9b). Relativamente aos cultivos de *P. aureus*, o primeiro ensaio foi aquele que apresentou maiores taxas de mortalidade instantâneas, nomeadamente quando se iniciou o estágio de semente (figura 9b). Tanto a densidade, como a taxa de mortalidade instantânea, apresentaram valores mais elevados no final dos ensaios de *V. corrugata* e *P. aureus* nº 1, em função de se terem contabilizado apenas os indivíduos no estágio de juvenil, tendo-se negligenciado e removido as sementes.



**Figura 9** - Variação de a) densidade e b) taxa de mortalidade instantânea (Z) de ameijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e ameijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791), desde o estágio de larva trocófora até ao estágio de juvenil. \* Valor sobrestimado da taxa de mortalidade instantânea.

Em termos globais, o segundo ensaio de *P. aureus* obteve a maior sobrevivência de indivíduos (57 %; figura 10a), seguido pelo ensaio de *V. corrugata* (32 %) e, por último, o primeiro ensaio de *P. aureus* (17 %). O cultivo com maior sobrevivência até ao estágio de larva pedivelígera (sobrevivência larvar) foi o segundo ensaio de *P. aureus* (82,5 %), seguido do primeiro ensaio (60 %) e do de *V. corrugata* (40 %; figura 10b). No entanto, a melhor sobrevivência após o recrutamento bentónico foi no cultivo de *V. corrugata* (80 %), seguida do segundo ensaio e de *P. aureus* (68,47 %). A pior sobrevivência pós-larvar foi no primeiro ensaio de *P. aureus* (30%; figura 10b).

Os organismos de *V. corrugata* alcançaram o estágio de larva umbulada (figura 11a) ao 8º dia após a fecundação (figura 12a), com uma largura da concha de  $132,28 \pm 9,24 \mu\text{m}$ , tendo permanecido nesse estágio durante 12 dias (figura 12b). Estes espécimes encontravam-se no ponto de recrutamento bentónico entre o 15º e o 24º dia (figura 12a), com uma largura de concha de  $202,42 \pm 20,95 \mu\text{m}$ , permanecendo durante 12 dias sob a forma de larvas pedivelígera (figura 11b; figura 12b). A partir do 27º dia (figura 12a), os organismos deste cultivo já eram considerados como sementes (figura 11c), permanecendo neste estágio larvar durante 24 dias (figura 12b) e apresentando uma largura de  $350,77 \pm 46,17 \mu\text{m}$ . Após 55 dias (figura 12b), alguns dos indivíduos eram já juvenis (figura 11d), tendo  $1231,36 \pm 327,29 \mu\text{m}$ . No final do estudo, 3 meses após a fecundação, a maioria dos organismos ainda era considerada semente, atingindo-se  $2697,59 \pm 592,38 \mu\text{m}$  de largura da concha.

No primeiro ensaio, os organismos de *P. aureus* formaram o seu umbo (figura 11e) ao 8º dia após a fecundação (figura 12a), com uma largura de  $138,56 \pm 11,04 \mu\text{m}$  e mantiveram-se neste estágio durante 8 dias (figura 12b). A partir do 14º dia (figura 12a), as larvas já apresentavam o pé formado, tendo  $191,3 \pm 10,87 \mu\text{m}$  e duraram 17 dias nesta fase pós-larvar (figura 12b; figura 11f). Entre o 28º e 35º dia (figura 12a), as larvas pedivelígeras desta espécie chegaram ao estágio de semente (figura 11g), tendo um tamanho de  $374,74 \pm 29,84 \mu\text{m}$ , permanecendo neste estágio durante 27 dias (figura 12b). Após 58 dias (figura 12a), parte dos organismos já ficavam retidos em crivos de 1 mm (figura 11h), apresentando uma largura de  $1403,41 \pm 308,79 \mu\text{m}$ . No final de 93 dias após a fecundação, existiam organismos retidos em crivos de malha desde os 700  $\mu\text{m}$  até aos 3,5 mm, sendo a maioria dos organismos considerados juvenis, com um tamanho de  $2633,06 \pm 574,07 \mu\text{m}$ .

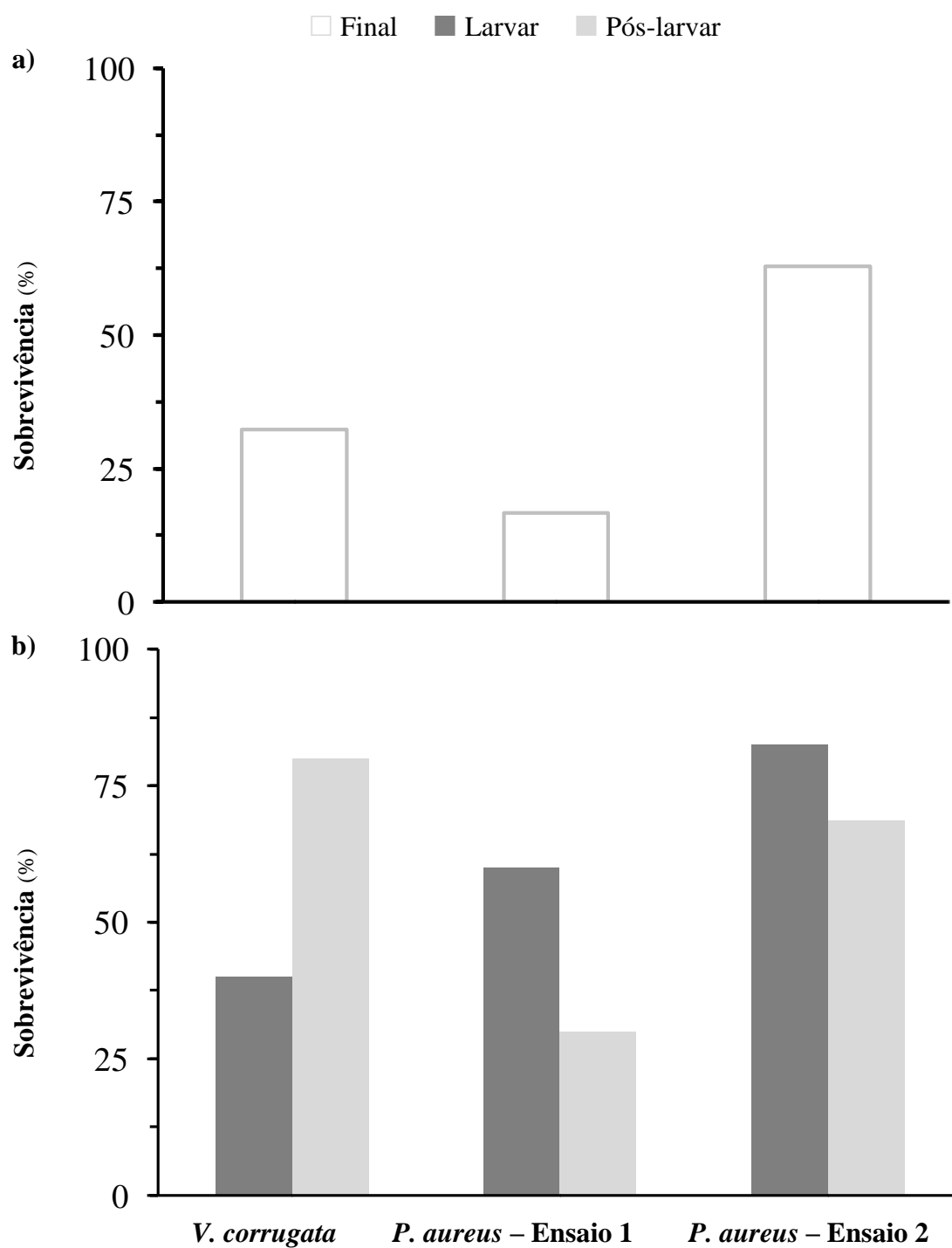


Figura 10 – Sobrevivência a) total e b) larvar versus pós-larvar da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e dos ensaios 1 e 2 da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

No segundo ensaio de *P. aureus*, as larvas também desenvolveram o umbo ao 8º dia após a fecundação (figura 12a), com uma largura de  $119,43 \pm 7,59 \mu\text{m}$  e permaneceram como larvas umbuladas durante 16 dias (figura 11e; figura 12b). As larvas desenvolveram o pé entre o 21º e 24º dia (figura 12a), com tamanho de  $272,04 \pm 26,22 \mu\text{m}$  e a permaneceram durante 11 dias (Figura 12b) como larvas pedivelígera (figura 11f). Ao fim de 31 a 35 dias (figura 12a), os organismos já ficavam retidos nas malhas de  $300 \mu\text{m}$ , no estágio de semente (figura 11g), com uma largura de  $405,45 \pm 75,27 \mu\text{m}$  e assim permaneceram durante 19 dias (figura 12b). Aos 52 dias após a fecundação (figura 12a), algumas das sementes ficavam retidas em crivos de 1 mm (figura 11h), apresentando  $1184,99 \pm 518,8 \mu\text{m}$  de largura.

### 3.5. Crescimento individual da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

Os organismos de *V. corrugata* apresentaram uma taxa de crescimento individual total menor ( $22,80 \mu\text{m dia}^{-1}$ ) do que os *P. aureus* do primeiro ensaio ( $24,92 \mu\text{m dia}^{-1}$ ; figura 13). O segundo ensaio de *P. aureus* obteve foi aquele em que as amêijoas apresentaram a maior taxa de crescimento (figura 13). No entanto, as taxas de crescimento individual variaram entre os diferentes estádios de desenvolvimento das amêijoas dos três ensaios (figura 13), sendo que aumentaram com a idade dos indivíduos, para ambas as espécies. Em relação à taxa de crescimento larvar (até larva pedivelígera), o menor valor foi observado no primeiro ensaio de *P. aureus* ( $8,33 \mu\text{m dia}^{-1}$ ), seguindo-se o das larvas de *V. corrugata* ( $9,79 \mu\text{m dia}^{-1}$ ) e do segundo ensaio de *P. aureus* ( $10,90 \mu\text{m dia}^{-1}$ ). As taxas de crescimento individual pós-larvar (de larva pedivelígera até semente) e de semente seguiram o mesmo padrão do crescimento até ao estágio de juvenil, sendo inferiores em *V. corrugata* ( $12,36$  e  $31,45 \mu\text{m dia}^{-1}$ , respetivamente), seguindo-se as dos organismos do primeiro ensaio de *P. aureus* ( $16,74$  e  $32,59 \mu\text{m dia}^{-1}$ , respetivamente) e os do segundo ensaio apresentaram os maiores valores ( $13,34$  e  $37,12 \mu\text{m dia}^{-1}$ , respetivamente).

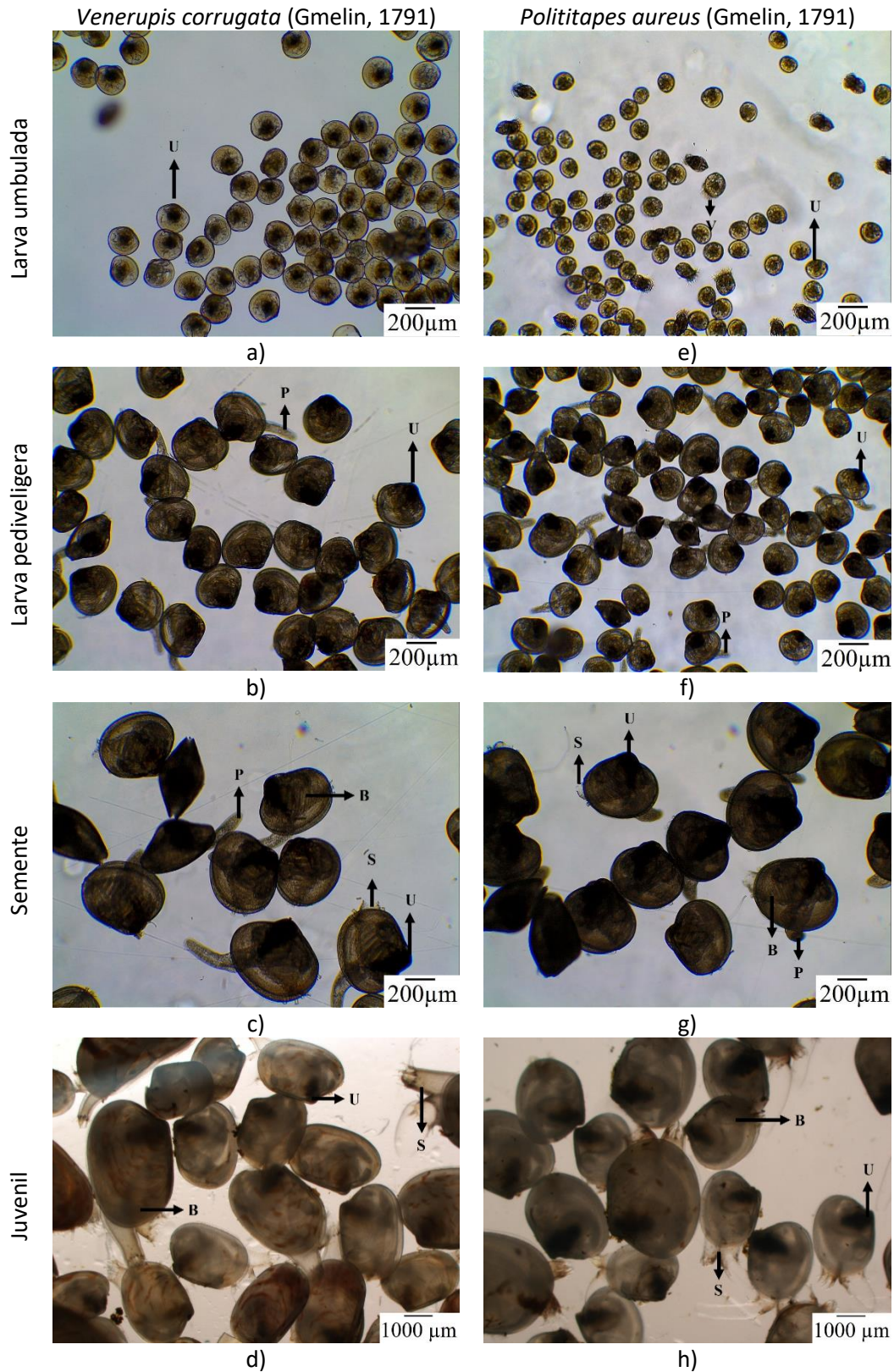


Figura 11 – Observação ao microscópio óptico composto das larvas umbuladas (a) e e)), larvas pedivelígeras (b) e f)), das sementes (c) e g)) e dos juvenis (d) e h)) das espécies dos cultivos do presente, amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791). Nas figuras a), b), c), e), f) e g) utilizou-se uma ampliação de 40 vezes e nas figuras d) e h) uma ampliação de 10 vezes.

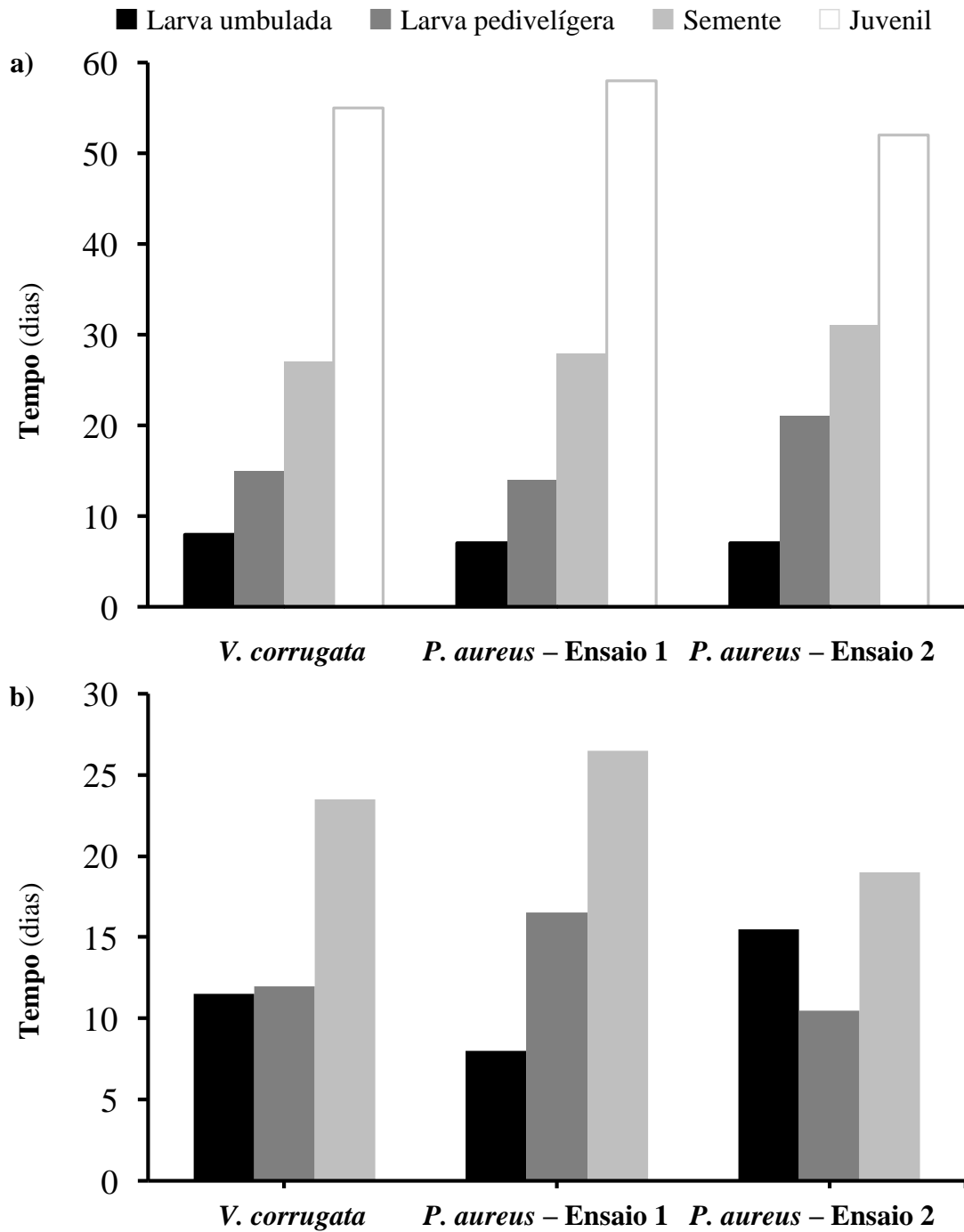


Figura 12 – a) Tempo que decorreu desde a fecundação até aparecimento dos diferentes estádios do desenvolvimento larvar da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791). b) Tempo de duração dos mesmos estádios.

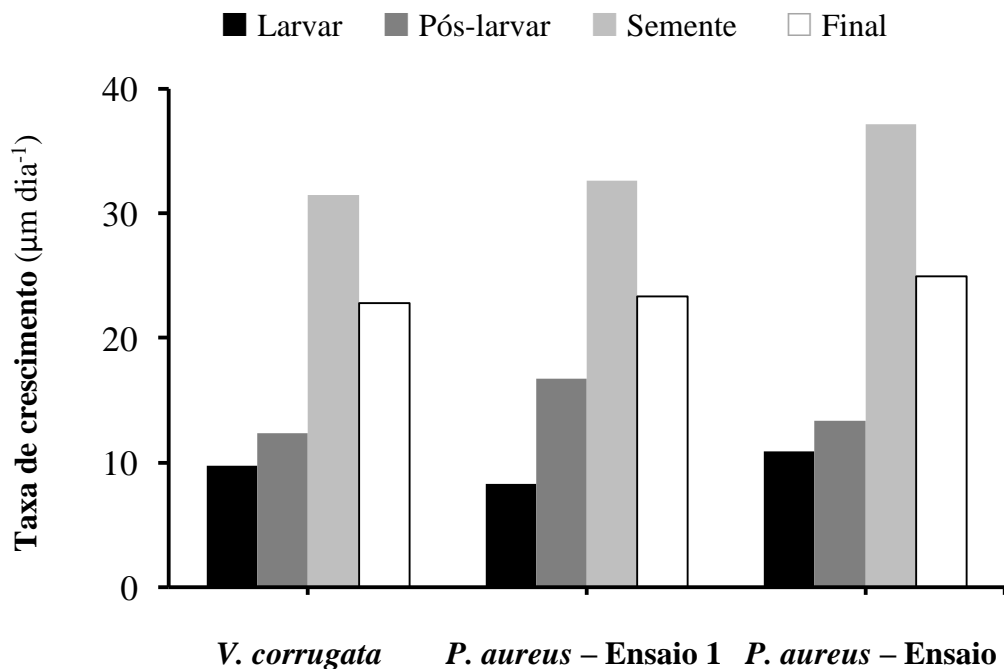


Figura 13 – Taxas de crescimento individual larvar, pós-larvar, de semente e final, com base na largura da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (primeiro e segundo ensaios).

O crescimento individual dos organismos cultivados (figura 14) ajustou-se a um modelo de crescimento sigmoidal, com um coeficiente de determinação ajustado  $R^2 > 98\%$ , em todas as espécies. Os indivíduos cultivados apresentaram uma relação significativa entre o aumento da sua largura e o o tempo decorrido, uma vez que apresentam um valor de significância  $p < 0,01$ . A análise da soma dos quadrados dos erros para equações não lineares demonstrou diferenças altamente significativas entre os modelos de crescimento de *V. corrugata* e do ensaio 1 de *P. aureus*  $F = 9,156$ ;  $p = 5,375 \times 10^{-05} < 0,05$ ). Entre os dois cultivos de *P. aureus* não existiram diferenças significativas entre os modelos de crescimento ( $F = 0,066$ ;  $p = 0,977 > 0,05$ ).

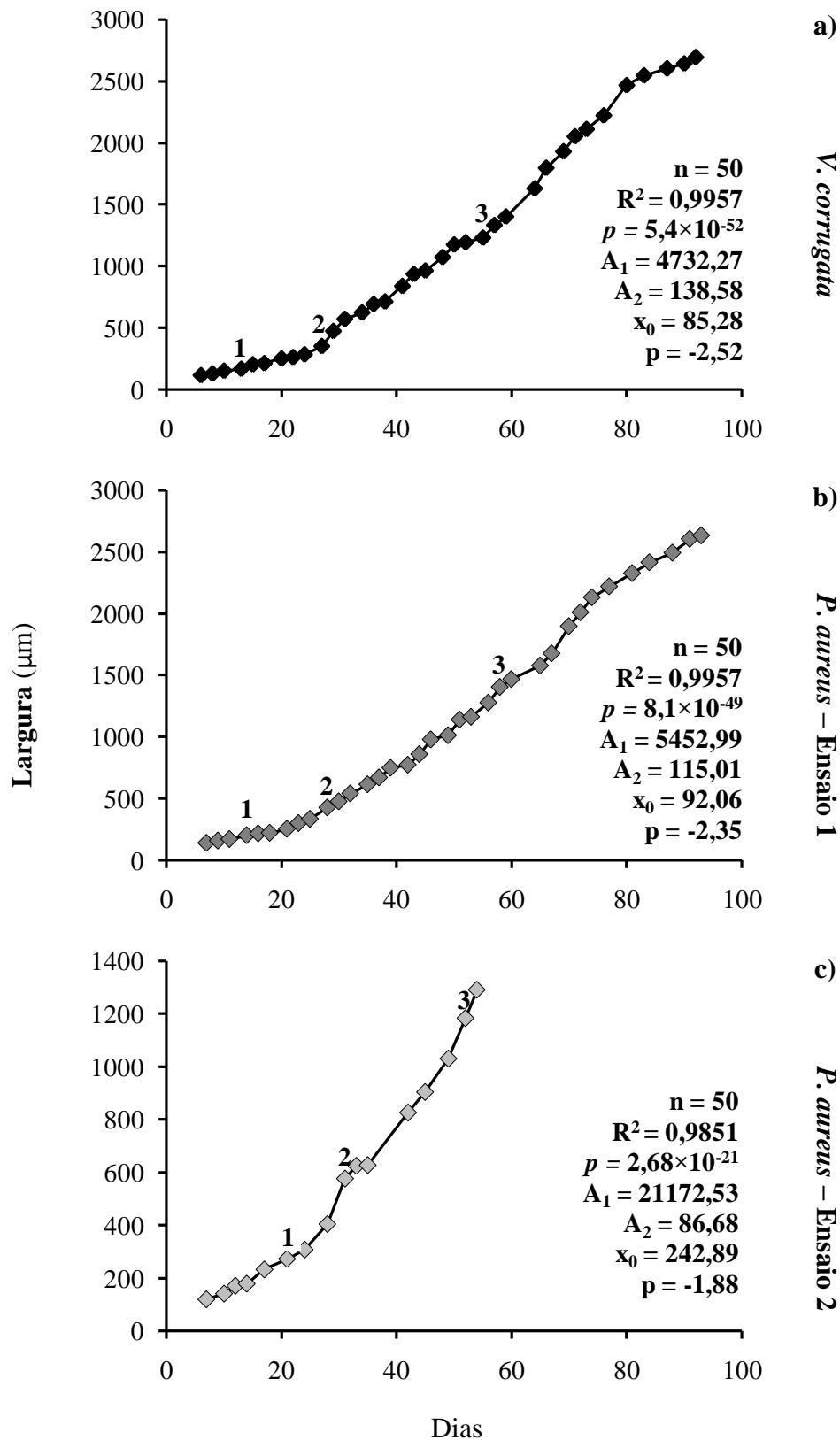


Figura 14 – Modelos de crescimento individual, com base na largura a) da amêijoia-macha *Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) e de b) primeiro e c) ensaio da amêijoia-cão *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) ao longo do cultivo larvar (até 1), pós-larvar (de 1 a 2), semente (de 2 a 3) e juvenil (depois de 3).  $n$  – Número de réplicas nas medições;  $R^2$  – Coeficiente de determinação;  $p$  – valor de significância;  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $x_0$  e  $p$  – Parâmetros da função logística.



#### 4. Discussão

No estabelecimento de um protocolo de cultivo de bivalves, em aquacultura, deve ter-se em conta que a as posturas dos reprodutores, assim como o crescimento e a sobrevivência das larvas, podem ser influenciados por diferentes parâmetros ambientais. Especialmente, pela temperatura (Chung *et al.*, 2005; Joaquim *et al.*, 2008; Matias *et al.*, 2009; Ojea *et al.*, 2004), pela quantidade e qualidade do alimento (Aranda-Burgos *et al.*, 2014; Madrones-Ladja, 1997; Magnesen *et al.*, 2006; Pérez-Camacho *et al.*, 2003; Robert *et al.*, 2017) e também pela densidade larvar do cultivo (Arab *et al.*, 2013; Joaquim *et al.*, 2014).

Através dos estudos de Villalba (1993) e de Fariña (2005), sabe-se que *V. corrugata* reproduz-se durante quase todo o ano, nas Rias Galegas. Estas amêijoas executam uma libertação parcial de gâmetas desde o final do Inverno até o meio do Outono. Por seu turno, *P. aureus* executa as suas posturas desde o final da Primavera até meio do Outono, período coincidente com maior disponibilidade de alimento e temperaturas de água mais elevadas (Fariña, 2005).

Na costa da Galiza, a temperatura da água apresenta uma variação entre os 14 °C na Primavera e os 18 °C no Verão (Pérez-Camacho, 1980). Os reprodutores acondicionados neste estudo reproduziram-se espontaneamente nesse intervalo de valores. Apesar de a reprodução ser afetada por diversos fatores endógenos e exógenos, a temperatura parece ser um dos mais influentes para a taxa de desenvolvimento gonadal. Reconhece-se que os bivalves podem ser induzidos a reproduzir-se com o aumento da temperatura da água do mar (Delgado & Pérez-Camacho, 2007; Ojea *et al.*, 2008 Anibal *et al.*, 2011). Todavia, o aumento da temperatura não irá necessariamente conduzir à produção de gâmetas viáveis, uma vez que a taxa de fecundação e a qualidade dos oócitos fecundados estão estritamente relacionados com as reservas lipídicas para a vitelogénese (Kraeuter *et al.*, 1982; Gallager & Mann, 1986; Ojea *et al.*, 2008). Desta forma, o acondicionamento de reprodutores a temperaturas mais elevadas poderá provocar a libertação de oócitos, sem uma reserva de lípidos suficiente para a sobrevivência dos novos seres, durante o seu desenvolvimento embrionário e/ou larvar, até que estes sejam capazes de obter alimento pelos seus próprios meios.

No presente estudo, a libertação de gâmetas, pelos reprodutores *V. corrugata* e *P. aureus*, ocorreu de forma espontânea, tanto no final do Inverno, como em meados da Primavera, após a chegada ao CIMA - Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo. Esta ocorrência poderá ser explicada pelo facto dos indivíduos terem sido transportados em gelo seco, desde a recolha até à chegada e acondicionamento no CIMA. O choque térmico induzido nas amêijoas terá servido de estímulo para a postura, o que vai de encontro com os estudos de Aníbal *et al.* (2011), em *Ruditapes decussatus*, e com o estudo de Otero (2011), em *V. corrugata*.

Os índices de condição visceral e gonadal (tabela I) demonstraram que *V. corrugata* apresentava valores mais elevados do que *P. aureus*, tal como os seus dados biométricos. Como não foi possível medir os parâmetros biométricos de *V. corrugata*, nem avaliar os seus índices de condição visceral e gonadal, foram utilizados os resultados de Cerviño-Otero (2011) sobre os reprodutores capturados na mesma altura do ano, para serem comparados com os de *P. aureus*. Tanto os valores dos parâmetros biométricos, bem como os dos índices de condição visceral e gonadal dos reprodutores *V. corrugata* de Cerviño-Otero (2011) foram superiores aos de *P. aureus* do presente estudo (Tabela I). Apesar de a comparação ter sido feita com organismos reprodutores, da mesma época do ano, mas de anos diferentes, os resultados poderão ser deturpados por diferenças interanuais das condições ambientais, ou mesmo por diferenças intrínsecas aos ecossistemas de onde eram oriundos os reprodutores e, conseqüentes características genéticas singulares, que são específicas de cada população. Ainda assim, o estudo de Fariña (2005) indicou que *P. aureus* apresentava valores de índice de condição gonadal entre 0,4 e 0,6, semelhantes aos obtidos nos atuais ensaios. Esta espécie apresentava valores mais elevados do índice de condição gonadal no final da Primavera e durante o Verão (Fariña, 2005). O mesmo estudo indicou também que *V. corrugata* apresentava oscilações do índice gonadal ao longo do ano (entre 0,4 e 0,7). As descidas dos valores nos índices de condição, tanto gonadal como visceral, ocorriam após os períodos de reprodução, em ambas as espécies, encontrando-se associados com a redução de alimento disponível, como observado em *P. aureus* (Kandeel, 2008).

As fêmeas de *V. corrugata* emitem em média 500 mil oócitos por fêmea, com um diâmetro de 65 a 75  $\mu\text{m}$ . Esta espécie apresenta uma taxa de fertilização média de 84% e as suas larvas velígera medem inicialmente cerca de 115  $\mu\text{m}$  de largura (Pérez-Camacho *et*

al., 1977; Nóvoa, 2007; Otero, 2011). Relativamente a *P. aureus*, sabe-se que emite entre 1,07 e 2,14 milhões de oócitos por fêmea, com um diâmetro entre os 70 e os 75  $\mu\text{m}$ . Esta espécie apresenta uma taxa de incubação de 74%, em que a largura inicial das larvas velígera é de aproximadamente 105  $\mu\text{m}$  (Pereira, 2011). O facto da espécie *V. corrugata* apresentar uma menor emissão de oócitos por fêmea, comparado com a espécie *P. aureus*, pode relacionar-se com o seu longo período reprodutivo, caracterizado por libertações parciais de gâmetas a partir das suas gónadas (Cerviño-Otero, 2011). Tanto o tamanho dos oócitos, como a taxa de fertilização destas espécies são valores muito idênticos, sendo semelhantes com as espécies de venerídeos *R. decussatus* (Martínez, 2013; Aranda-Burgos et al., 2014) e *Ruditapes philipinarum* (A. Adams & Reeve, 1850) (Zhang & Yan, 2006).

Por questão de procedimentos protocolares, estabelecidos no CIMA – Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo para desenvolver cultivos larvares, as larvas de amêijoas só passaram a ser monitorizadas ao fim de uma semana, após a libertação dos gâmetas e fecundação dos oócitos na água de cultivo dos reprodutores. Nesta altura, as amêijoas encontravam-se no estágio de larva trocófora, em todos os ensaios realizados. As larvas umbuladas distinguem-se pelo aparecimento do umbo, tendo surgido em *P. aureus* e *V. corrugata* uma semana (7 a 8 dias, respetivamente) após a fecundação, coincidindo com o momento em que as larvas ficavam retidas em crivos de 90  $\mu\text{m}$ . O aparecimento de larvas umbuladas em *V. corrugata*, no presente estudo, demorou o mesmo tempo que no de Cerviño-Otero (2011), mas as larvas apresentaram uma largura menor à desta autora (tabela III). Em relação a *P. aureus*, as larvas umbuladas apresentaram larguras maiores que as de *V. corrugata*, mas semelhantes às de *V. corrugata* do estudo de Cerviño-Otero (2011). Comparativamente a outras espécies de bivalves (tabela IV), verificou-se uma semelhança no tempo que demora até ao surgimento do estágio de larva umbulada, embora *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758) apresentasse uma largura menor e as larvas de *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) uma largura maior que os indivíduos do presente estudo.

No cultivo larvar de *V. corrugata*, as larvas pedivelígeras fixaram-se entre o 15º e o 24º dia, com uma largura inicial de 202,42  $\mu\text{m}$ . O cultivo realizado demorou menos tempo a chegar ao primeiro dia de recrutamento bentónico que nos estudos de Nóvoa (2007) e de Otero (2011), mas com uma largura inicial semelhante (tabela IV). No entanto, verificou-se um intervalo de tempo mais alargado até que a totalidade dos organismos se fixassem. A

Tabela III – Comparação entre largura (L), tempo que decorre entre a fecundação e o surgir dos diferentes estádios de vida (T), sobrevivência larvar (S<sub>1</sub>) e pós-larvar (S<sub>2</sub>) em diferentes estudos de cultivo de bivalves.

Espécies	Larva umbulada		Larva pedivelígera			Sementes			Autores	Local
	L (µm)	T (d)	L (µm)	T (d)	S <sub>1</sub> (%)	L (µm)	T (d)	S <sub>2</sub> (%)		
<i>Pecten maximus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	170-180	22-24	59	-	-	-	Magnesen <i>et al.</i> , 2006	Banco de Hordaland, Noruega
<i>Pecten maximus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	140 - 210	17-22	20 - 50	-	-	-	Holbach <i>et al.</i> , 2017	Québec, Canadá
<i>Crassostrea gigas</i> (Thunberg, 1793)	-	-	230-250	18-23	12-91	-	-	-	Kheder 2010	Plouzané, França
<i>Ruditapes philippinarum</i> (Adams & Reeve, 1850)	145-160	8	215-240	20-25	50	280-350	30-35	70	Zhang & Yan, 2006	Banco de Dalian, China
<i>Venerupis pullastra</i> (Gmelin, 1791)	110-140	8	200-240	15-24	40	300-400	27-36	80	Presente estudo	Ría de Coruña, Espanha
<i>Polittapes aureus</i> (Gmelin, 1791) – Ensaio 1	140-170	7	170-210	14-16	60	300-400	28-35	30	Presente estudo	Banco de Cangas, Espanha
<i>Polittapes aureus</i> (Gmelin, 1791) – Ensaio 2	130-160	7	240-300	21-24	83	320-450	31-35	69	Presente estudo	Banco de Cangas, Espanha
<i>Venerupis pullastra</i> (Gmelin, 1791)	140-150	8	210-250	16-18	55	300-350	22-25	50	Cerviño-Otero, 2011	Galiza, Espanha
<i>Ruditapes decussatus</i> (Linnaeus, 1758)	130-150	8	210-250	16-18	35	300-350	22-25	22	Aranda-Burgos, 2010	Galiza, Espanha
<i>Donax trunculus</i> (Linnaeus, 1758)	105-110	8	200-250	20-25	35	200-300	30	20	Louzán, 2008	Galiza, Espanha
<i>Ensis arcuatus</i> (Jeffreys, 1865)	160-200	7	250-310	14	35	330-380	20	25	da Costa, 2009	Galiza, Espanha
<i>Polittapes aureus</i> (Gmelin, 1791)	-	-	180-190	13-15	6	-	-	-	Pereira, 2011	Ilha de São Jorge, Portugal

sobrevivência larvar até à formação do pé foi de 40 %, sendo inferior à sobrevivência média observada no estudo de Cerviño-Otero (2011), apesar de neste estudo a sobrevivência larvar ter um intervalo entre os 19 e os 87 %. Ainda assim, sobrevivência larvar obtida no presente estudo foi relativamente superior à do estudo de Joaquim *et al.* (2014) sobre *V. corrugata*, que variou entre 17 e 35 %.

As larvas pedivelígeras *P. aureus* do primeiro ensaio demoraram menos tempo até se fixarem (entre 14 e 16 dias), com largura (191,3 µm) e sobrevivência larvar (60 %) inferiores às do segundo cultivo (21 - 24 dias, 272,04 µm e 82,5 %, respetivamente). No estudo de Pereira (2011), as larvas pedivelígeras do primeiro ensaio *P. aureus* recrutaram com uma largura (181,85 - 193,05 µm) e tempo (e 13 dias a 15 dias) semelhantes, mas com taxa de sobrevivência relativamente baixa (2,34 - 4,37 %.)

Através do presente estudo e do de Pereira (2011), conclui-se que *P. aureus* reúne potencial para ser produzida em aquacultura. Tratando-se de uma nova espécie, sobre a qual existe pouca informação. O seu cultivo apresentou sobrevivência larvar média aproximada de 50 %, assim como o de *V. corrugata*. Comparando com outros cultivos, estas sobrevivências foram semelhantes com os cultivos de *R. philippinarum*, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) e *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758) (Magnesen *et al.*, 2006; Zhang & Yan, 2006; Kheder *et al.*, 2010; Holbach *et al.*, 2017) e superiores às dos cultivos de *R. decussatus*, *D. trunculus* e de *E. arcuatus* (da Costa, 2009; Aranda-Burgos *et al.*, 2014a; Pérez, 2015).

Relativamente ao tempo que decorreu desde a fecundação até ao aparecimento da larva pedivelígera, este durou aproximadamente o mesmo no primeiro cultivo de *P. aureus* e no de *V. corrugata*, tendo sido semelhantes aos tempos conhecidos para *R. decussatus* e de *C. gigas* (Kheder *et al.*, 2010; Aranda-Burgos *et al.*, 2014a; Holbach *et al.*, 2017). No presente estudo, o segundo ensaio de cultivo de *P. aureus* demorou mais do que os outros cultivos, com semelhança aos de *R. philippinarum* e de *D. trunculus* (Zhang & Yan, 2006; Pérez, 2015). No cultivo de *E. arcuatus* (da Costa, 2009) observou-se o menor tempo até se atingir o estágio de pedivelígera.

No momento do recrutamento bentónico, a largura de *V. corrugata* foi semelhante à larvas das espécies *R. decussatus*, *R. philippinarum*, *D. trunculus* e *C. gigas* (Zhang & Yan, 2006; Kheder *et al.*, 2010; Aranda-Burgos *et al.*, 2014a; Pérez,

2015). No primeiro cultivo de *P. aureus*, a largura das larvas foi menor do que nos indivíduos *V. corrugata*, durante a fixação, mas semelhante aos de *P. maximus* (Holbach *et al.*, 2017) e *P. aureus* no estudo de Pereira (2011). No segundo cultivo de *P. aureus* observou-se uma largura superior a todos os outros cultivos, semelhante à de *E. arcuatus* (da Costa, 2009; tabela IV).

Relativamente à sobrevivência pós-larvar até ao estágio de semente, esta foi maior no segundo cultivo de *P. aureus* d (69 %) do que no primeiro (30 %), embora *V. corrugata* tenha apresentado uma sobrevivência superior (80 %) no presente estudo. Este valor foi também superior aos resultados obtidos por Otero (2011), em que a sobrevivência pós-larvar de *V. corrugata* foi de 50 %,.. Os cultivos deste estudo apresentaram percentagens de sobrevivência superiores às espécies *R. decussatus*, *D. trunculus* e *E. arcuatus* (da Costa, 2009; Aranda-Burgos *et al.*, 2014a; Pérez, 2015), mas inferior à do cultivo de *R. philippinarum* (Zhang & Yan, 2006). Para o cultivo de *P. aureus* não existiam dados anteriores relativos à sua sobrevivência pós-larvar, pelo que os resultados obtidos no presente estudo foram encorajadores para se continuar a investigar as metodologias para a produção desta espécie em cativeiro.

O tempo necessário para o surgimento das sementes nos cultivos deste estudo foi semelhante entre espécies, bem como aos de *R. philippinarum* (Zhang & Yan, 2006) e de *D. trunculus* (Pérez, 2015). O cultivo de *V. corrugata* demonstrou um intervalo de tempo maior relativamente ao de Otero (2011). Os bivalves *R. decussatus* e *E. arcuatus* foram mais rápidos a atingir este estágio de desenvolvimento (da Costa, 2009; Aranda-Burgos *et al.*, 2014a).

A taxa de crescimento larvar média para *V. corrugata* foi de 6,72, 9,43 e 7,65  $\mu\text{m dia}^{-1}$ , respetivamente nos estudos de Pérez-Camacho (1977), Nóvoa (2009) e Cerviño-Otero (2011). Quando se compara com a taxa de crescimento individual desta espécie, neste estudo, infere-se que esta foi relativamente mais alta, num valor de 9,79  $\mu\text{m dia}^{-1}$ . As taxas de crescimento dos indivíduos nos cultivos de *P. aureus* também foram relativamente altas (8,33 e 10,90  $\mu\text{m dia}^{-1}$  no primeiro e segundo, respetivamente). Estes valores foram também superiores às obtidas por Pereira (2011), em que *P. aureus* exibiu taxas de crescimento entre os 5,85 e os 6,71  $\mu\text{m dia}^{-1}$ , bem como às de *R. decussatus* que compreenderam taxas de crescimento entre 5,9 e os 7,3  $\mu\text{m dia}^{-1}$  (Aranda-Burgos *et al.* (2014).

O crescimento individual total (até ao final do estudo), obtido nos cultivos do presente estudo, adequou-se a um modelo de crescimento sigmoide. No entanto, observou-se um aumento brusco de largura no corpo das amêijoas, quando ocorria uma transição de estágio larvar. Também se notou que, quanto mais avançado era o estágio larvar, maior era a taxa de crescimento, pelo menos até ao estágio de semente. Poucos são os estudos onde se encontram um modelo de crescimento do tipo sigmoide em bivalves. No entanto, Sprung (1984) demonstrou que *Mytillus edulis* apresentou o mesmo tipo de crescimento, quando foi alimentado com uma baixa de concentração de microalgas a baixas temperaturas. No entanto, podem ter ocorrido artefactos que enviesassem os resultados, tal como uma seleção de indivíduos de maior tamanho, a quando das renovações de água dos sistemas. Nessas ocasiões, os organismos eram selecionados consoante a sua retenção em crivos de malha calibrada. Os que ainda não tinham alcançado o novo estágio de desenvolvimento larvar (e que, por isso, não ficavam retidos no crivo com malha de maior dimensão) não eram considerados para as medições. No estudo de Cerviño-Otero (2011), observou-se que o crescimento de *V. corrugata* ajustava-se a um modelo linear. Esta autora mencionou também que, à medida que os organismos cresciam, existia uma maior variedade de classes de tamanho dentro do cultivo, levando a maiores desvios-padrão na sua amostragem. Para evitar erros de metodologia na medição da largura das amêijoas, futuramente deverá fazer-se uma medição dos organismos antes de se realizar a separação por tamanhos e, também, um número mais elevado de réplicas em cada medição.

O desenvolvimento larvar de *V. corrugata* pode realizar-se em temperaturas compreendidas entre os 14 °C e os 26 °C. Apesar de as taxas de crescimento serem maiores a temperaturas mais elevadas, o desenvolvimento larvar ocorre de forma anormal a temperaturas acima dos 22 °C (Pérez-Camacho, 1977). Por esse motivo, este autor considerou entre 18 e 20 °C como as temperaturas ideais para o cultivo desta espécie. No estudo de Albentosa *et al.* (1994), conclui-se que existia uma relação direta entre a temperatura e a taxa de ingestão de microalgas no cultivo de *V. corrugata*. Verificou-se um aumento da ingestão de microalgas entre os 15 °C e os 20 °C. Acima destas temperaturas, a ingestão do alimento diminuía, embora se mantivesse a eficiência de absorção do alimento. No estudo de Kheder (2010) comprovou-se que apenas 12 % dos indivíduos *C. gigas*, cultivados a 17 °C, conseguiam completar a metamorfose para o estágio de semente, até ao 23º dia após a fecundação. No entanto, quando cultivados a 27 °C, 60 a 90% dos organismos *C. gigas* metamorfosearam-se até ao 18º dia após a fecundação.

Yan *et al.* (2006) demonstraram que quanto maior é a densidade de cultivo de *R. decussatus*, menor era o crescimento e a sobrevivência larvar. A explicação avançada por estes autores baseava-se no facto de serem libertados/produzidos mais produtos metabólicos, prejudiciais para o desenvolvimento larvar e, por acréscimo, uma maior competição por espaço e por alimento. Ainda assim, Pereira (2011) concluiu que a densidade do cultivo, num espectro de 5 a 40 indivíduos por mililitro, não tinha influência no crescimento, nem na sobrevivência larvar de *P. aureus*. Pelo que, a mortalidade que ocorreu ao longo deste estudo, e que se refletiu na diminuição das densidades, em princípio não terá sido consequência de uma densidade inicial de cultivo das amêijoas.

Em aquacultura, o fornecimento de alimento exógeno a larvas de bivalves só é administrado quando estas alcançam a fase de larva velígera. Por vezes, a aceitação do alimento pode não ser imediata, resultando em elevada mortalidade larvar e pós-larvar, devido à falta ou deficiência de nutrientes essenciais na alimentação dos organismos (Madrones-Ladja, 1997). Durante o desenvolvimento larvar e pós-larvar deve-se fornecer ácidos gordos polinsaturados, que são fundamentais para a síntese de novas estruturas ao longo das diversas metamorfoses e como fonte de energia metabólica (Fernandez-Reiriz *et al.*, 2009). Robert *et al.* (2017) compararam a sobrevivência larvar de *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758) sujeita a diferentes concentrações de alimento (70, 500, 1500, 2500 e 3500  $\mu\text{m}^3 \mu\text{L}^{-1}$ ). Estes autores observaram que na menor concentração não existiu sobrevivência larvar e que os valores na concentração de 500  $\mu\text{m}^3 \mu\text{L}^{-1}$  foram também muito baixos. Através dos estudos de Fernandez-Reiriz *et al.* (2009), Rico-Villa (2006) e Aranda-Burgos *et al.* (2014), sabe-se que se deve alimentar as larvas de *V. corrugata*, de *C. gigas* e de *R. decussatus*, respetivamente, com uma dieta composta por diferentes espécies de microalgas. As dietas monoespecíficas apresentam menores valores de rendimento a nível do desenvolvimento larvar e pós-larvar, pois corre-se o risco de induzir a carência de determinados nutrientes e, consequentemente, comprometer o cultivo. Desta forma, deve-se fornecer a *V. corrugata* e a *P. aureus* uma dieta composta de diversas microalgas, em elevadas concentrações por  $\mu\text{L}$  para que ocorra sucesso no cultivo larvar e pós-larvar. Outro fator que pode provocar um melhor rendimento a nível do crescimento larvar de bivalves é o tipo de sistema de cultivo utilizado. No presente estudo, utilizaram-se tanques cilíndricos, como sistema fechado, com arejamento constante de baixa intensidade. Joaquim *et al.* (2014) confirmaram que um sistema fechado apresenta menores

valores de sobrevivência larvar de *V. corrugata* do que um sistema de recirculação de água. Os mesmos resultados foram obtidos por Holbach *et al.* (2017), com *P. maximus*. Estes autores referiram também que o arejamento no cultivo se deve utilizar com baixa intensidade, para existirem melhores rendimentos a nível do crescimento e menos mortalidade no cultivo. Grandes arejamentos levam à criação de demasiadas correntes, o que induz danos estruturais no corpo das larvas devido à elevada natação, dos choques contra as paredes dos tanques e da incapacidade para se alimentarem



## 5. Conclusão

Em suma, o acondicionamento de reprodutores pode seguir o mesmo protocolo experimental, tanto para a amêijoia-macha *V. corrugata*, como para a amêijoia-cão *P. aureus*. Os reprodutores de ambas as espécies libertaram os seus gâmetas de forma espontânea, quando chegaram ao CIMA – Centro de Cultivos Marinhos de Ribadeo. A indução da reprodução não foi realizada em *P. aureus*, pelo que se deverá averiguar a metodologia a empregar em estudos futuros, à semelhança de *V. corrugata*.

Ao comparar-se os dados biométricos, assim como os índices de condição visceral e gonadal, entre os reprodutores destas espécies, conclui-se que *V. corrugata* apresentou valores superiores aos de *P. aureus*. Uma vez que os dados de *V. corrugata* utilizados para esta comparação foram do estudo de Cerviño-Otero (2011), e para uma conclusão fidedigna, deverá proceder-se futuramente a novas amostragens e medições, com um maior número de exemplares de ambas as espécies, provenientes do mesmo ecossistema, bem como de ecossistemas distintos.

Para que ocorram os melhores rendimentos em aquacultura, o cultivo larvar de bivalves deve realizar-se no menor tempo possível, com rápidas taxas de crescimento e elevadas taxas de sobrevivência ao longo das metamorfoses larvares e pós-larvares. Os tempos decorridos até à fixação das larvas foram menores para *V. corrugata* do que para *P. aureus* (15 e 18 dias respetivamente). O mesmo se verificou até ao estágio de semente (27 e 30 dias, respetivamente). Todavia, ambas as espécies levaram 55 dias para chegar ao estágio de juvenil. *P. aureus* apresentou uma taxa de crescimento individual total superior ( $24,13 \mu\text{m dia}^{-1}$ ) a *V. corrugata* ( $22,80 \mu\text{m dia}^{-1}$ ). Nas sobrevivências larvar e pós-larvar, ao interpretar-se os resultados obtidos e outros estudos conclui-se que existem proporções idênticas nestas espécies, com valores de 50 % para ambas as espécies.

O segundo ensaio de cultivo larvar de *P. aureus*, apresentou melhores resultados relativos à sobrevivência, ao crescimento individual e, conseqüentemente aos tempos de obtenção de sementes e juvenis. A seleção do tamanho das larvas para o recrutamento bentónico, quando o cultivo apresentava já uma maior proporção de larvas pedivelígeras (graças ao uso de um crivo de  $170 \mu\text{m}$ , ao invés de  $150 \mu\text{m}$ ), mostrou-se um fator importante. Outro fator que poderá ter contribuído para estes resultados, terá sido a temperatura mais elevada do segundo ensaio de *P. aureus*. Futuramente, deverão ser

realizados estudos de como se processa o desenvolvimento embrionário de *P. aureus*, bem como dos fatores ambientais que poderão contribuir para melhorar a sua produção.

Os ensaios realizados demonstraram que *P. aureus* é uma amêijoia com potencial para a sua produção em aquacultura. Assim, poderá evitar-se a recolha, e possível sobre-exploração destes espécimes nos ecossistemas naturais, à semelhança de *V. corrugata*. Além do mais, o controlo do ciclo de vida destas espécies poderá permitir responder com uma produção contínua para a sua elevada procura de mercado, independentemente do estado natural dos seus *stocks* naturais, podendo mesmo vir a contribuir para o repovoamento dos mesmos, na eventualidade de ser necessário.

## 6. Referências bibliográficas

- Aarab, L., Pérez-Camacho, A., Vieira-Toledo, M.P., Viçose, G.C., Fernández-Palacios, H., Molina, L. 2013. Embryonic development and influence of egg density on early veliger larvae and effects of dietary microalgae on growth of brown mussel *Perna perna* (L. 1758) larvae under laboratory conditions. *Aquaculture International* 21: 1065 - 1076
- Albentosa, M., Pérez-Camacho, A., Labarta, U., Beiras, R., Fernández-Reiriz, M.J. 1993. Nutritional value of algal diets to clam spat *Venerupis pullastra*. *Marine Ecology Progress Series* 97: 261 – 269.
- Albentosa, M., Beiras, R., Pérez-Camacho, A. 1994. Determination of optimal thermal conditions for growth of clam (*Venerupis pullastra*) seed. *Aquaculture* 126: 315 – 328.
- Albentosa, M., Pérez-Camacho, A., Labarta, U., Fernández-Reiriz, M.J. 1996. Evaluation of live microalgal diets for the seed culture of *Ruditapes decussatus* using physiological and biochemical parameters. *Aquaculture* 148: 11 – 23.
- Albentosa, M., Moyano, F. 2008. Influence of nutritional stress on digestive enzyme activities of two marine clam species, *Ruditapes decussatus* and *Venerupis pullastra*. *Journal of Sea Research* 59: 249 – 258.
- Anacleto, P., Barrento, S., Nunes, M.L, Rosa, R., Marques, A. 2014. Portuguese consumers' attitudes and perceptions of bivalve molluscs. *Food Control* 41: 168 – 177.
- Aníbal, J., Esteves, E., Rocha, C. 2011. Seasonal variations in gross biochemical composition, percentage edibility and condition index of the clam *Ruditapes decussatus* cultivated in the Ria Formosa (South Portugal). *Journal of Shellfish Research* 30: 17 – 23.
- Aranda-Burgos, J.A., Ojea, J., Nóvoa, S., Martínez Patiño, D., 2009. Primeros datos de la calidad de las puestas, en relación al estado de los reproductores de dos especies de almejas: *Ruditapes decussatus* y *Ruditapes philippinarum*. *Foro de Acuicultura y Recursos Mariños de las Rías Gallegas* 12: 617 – 624.
- Aranda-Burgos, J.A., da Costa, F., Nóvoa, S., Ojea, J., Martínez-Patiño, D. 2014. Effects of microalgal diet on growth, survival, biochemical and fatty acid composition of *Ruditapes decussatus* larvae. *Aquaculture* 420: 38 – 48.

- Aranda-Burgos, J.A., da Costa, F., Nóvoa, S., Ojea, J., Martínez-Patiño, D. 2014a. Embryonic and larval development of *Ruditapes decussatus* (Bivalvia: Veneridae): a study of the shell differentiation process. *Journal of Molluscan Studies* 80: 8 – 16.
- Bouchet, P., Rocroi, J.P. 2010. Nomenclator of Bivalve Families, 2ª edição. Giessen, Germany, Institute of Malacology. 127 – 131.
- Castro, P., Huber, M.E. 2008. *Marine Biology*, 7ª edição. McGraw-Hill Companies, Nova Iorque. 127 – 134.
- CBI – Ministry of Foreign Affairs (2015). CBI Product Factsheet: Bivalves in Europe. CBI Market Intelligence. The Hague (The Netherlands).
- Cerviño-Otero, A.C., 2011. Ciclo reproductivo, cultivo en criadero y en el medio natural de la almeja babosa *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803). Tese de Doutoramento. Universidade de Santiago de Compostela.
- Chícaro, L., Chícaro, M.A. 2001. A juvenile prediction model for *Ruditapes decussatus* (L.) (Bivalvia: Mollusca. *Fisheries Research* 53: 219 – 233.
- Chung, E., Hur, Y., Shin, M., Kim, Y. 2005. Reproductive biology of the female manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) on the west coast of Korea. *Korean Journal of Malacology* 21: 1 – 11.
- Da Costa, F., Darriba, S., Martínez-Patiño, D. 2008. Embryonic and larval development of *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) (Bivalvia: Pharidae). *Journal of Molluscan Studies* 74: 103 – 109.
- Da Costa, F. 2009. Optimización del cultivo en criadero de navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865), longueirón (*E. siliqua* Linneo, 1758) y longueirón vello (*Solen marginatus* Pennánt, 1777): composición bioquímica y de ácidos grasos en los desarrollos larvarios. Tese de Doutoramento. Universidade de Santiago de Compostela.
- Da Costa, F., Martínez-Patiño, D., Ojea, J., Nóvoa, S. 2010. Larval rearing and spat production of the razor clam *Ensis siliqua* (Bivalvia: Pharidae). *Journal of Shellfish Research* 23: 347 – 351.

- Da Costa, F. 2012. Introduction to the biology of clams. Em: da Costa, F. (Ed.), Clam Fisheries and Aquaculture. Centro de Cultivos Mariños de Ribadeo – CIMA, Muelle de Porcillán, Lugo, Spain.
- Delgado, M., Pérez-Camacho, A. 1999. Histological study of the gonadal development of *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca: Bivalvia) and its relationship with available food. *Scientia Marina* 69: 87 – 97.
- Delgado, M., Pérez-Camacho, A., Labarta, U., Fernández-Reiriz, M.J. 2004. The role of lipids in the gonadal development of the clam *Ruditapes decussatus* (L.). *Aquaculture* 241: 395 – 411.
- Delgado, M., Pérez-Camacho, A. 2007. Comparative study of gonadal development of *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve) and *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca: Bivalvia): Influence of temperature. *Scientia Marina* 71: 471 – 484.
- Department for Business, Energy & Industrial Strategy (2016). Marine Bivalve Shells of the British Isles - *Tapes (Polititapes) aureus* (Gmelin, 1791). Consultada em <https://naturalhistory.museumwales.ac.uk/BritishBivalves/browserecord.php?-recid=329>. Acedido a 01 de Março de 2018
- Department for Business, Energy & Industrial Strategy (2016). Marine Bivalve Shells of the British Isles - *Tapes (Venerupis) corrugata* (Gmelin, 1791). Consultada em <https://naturalhistory.museumwales.ac.uk/britishbivalves/browserecord.php?-recid=331>. Acedido a 01 de Março de 2018.
- DGRM, 2016. Tabela de Tamanhos Mínimos de Captura. Direção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos, Lisboa.
- FAO, 2006. *Venerupis pullastra*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Disponível em: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Venerupis\\_pullastra/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Venerupis_pullastra/en). Consultado a 21 de Abril de 2017.
- FAO, 2015. Aquaculture topics and activities. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/aquaculture/en>. Consultado a 21 de Abril de 2017.

FAO, 2017. Limited trades in bivalves. Disponível em: <http://www.fao.org/in-action/globefish/market-reports/resource-detail/en/c/522564/>. Acedido a 20 de Fevereiro de 2018.

FAO, 2018. Bivalve trade is growing. Disponível em: <http://www.fao.org/in-action/globefish/market-reports/resource-detail/en/c/1107016/>. Acedido a 20 de Março de 2018.

Fariña, P.A., 2005. Dinámica reproductora de dos especies de almejas autóctonas de las Rías Gallegas, *Venerupis aurea* (Gmelin, 1790) y *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803); estudio histológico, histoquímico y estereológico. Tese de Doutoramento Universidade de Santiago de Compostela.

Fernández-Pardo, A.; Costa, F.; Rial, D.; Nóvoa, S.; Martínez-Patiño, D.; Vázquez, J.A. 2016. Use of response surface methodology to determine optimum diets for *Venerupis corrugate* larvae: effects of ration and microalgal assemblages. *Aquaculture* 452: 283 – 290.

Fernández-Reiriz, M.J., Pérez-Camacho, A., Peteiro, L.G., Labarta, U. 2009. Growth and kinetics of lipids and fatty acids of the clam *Venerupis pullastra* during larval development and postlarvae. *Aquaculture Nutrition* 17: 13 – 23.

François, F., Dalègre, K., Gilbert, F., Stora, G. 1999. Variabilité spécifique à l'intérieur des groupes fonctionnels. Étude du remaniement sédimentaire de deux bivalves Veneridae, *Ruditapes decussatus* et *Venerupis aurea*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences – Series III – Sciences de la Vie* 322: 339 – 345.

Gallager, S.M., Mann, R. 1986. Growth and Survival of Larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea virginica* (Gmelin) Relative to Broodstock Conditioning and Lipid Content of Eggs. *Aquaculture* 56: 105 – 121.

Gosling, E. 2015. Bivalve Molluscs – Biology, Ecology and Culture, 2ª edição. Oxford, UK, Fishing News Books. 7 – 31.

Gozler, A., Tarkan, A. Reproductive biology of *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) in Çardak Lagoon, Dardanelles Strait. *Turkish Journal of Marine Sciences* 6: 175 – 198.

- Guerra, A.; Lodeiros, C.; Gaspar, M.; da Costa, F. 2011. Razor clams: Biology, Aquaculture and Fisheries. Xunta de Galicia, Consellería do Mar. 169 - 428 pp.
- Haddon, M. 2011. Modelling and quantitative methods in fisheries. 2ª edição. Boca Raon, USA, Champman & Hall. 236 – 238.
- Helm, M.; Bourne, N.; Lovatelli, A. 2004. Hatchery culture of bivalves – A practical manual. FAO Fisheries Technical Paper, vol. 471: 59 – 142.
- Hickman, C.P., Roberts, L.S., Larson, A. 2016. Integrated Principles of Zoology. 16ª edição. McGraw-Hill Edition, Boston. 238 – 264.
- Holbach, M., Robert, R., Miner, P., Mingant, C., Boudry, P., Tremblay, R. 2017. Effects of hydrodynamic factors on *Pecten maximus* larval development. Aquaculture Research 48: 5463 – 5471.
- Instituto Nacional de Estatística (2016). Estatísticas das Pescas 2016. Instituto Nacional de Estatística, I. P., Lisboa (Portugal).
- Jara-Jara, R., Pazos, A., Abad, M., García-Martín, L., Sánchez, J. 1997. Growth of clam seed (*Ruditapes decussatus*) reared in the wastewater effluent from a fish farm in Galicia (N.W. Spain). Aquaculture 158: 247 – 262.
- Jara-Jara, R., Abad, M., Pazos, A., Pérez-Paralle, M., Sanchez, J. 2000. Growth and reproductive patterns in *Venerupis pullastra* seed reared in wastewater effluent from a fish farm in Galicia (NW Spain). Journal of Shellfish Research 19: 949 – 956.
- Joaquim, S., Matias, D., Lopes, B., Arnold, W., Gaspar, M.B. 2008. The reproductive cycle of white calm *Spisula solida* (L.) (Mollusca: Bivalvia): Implications for aquaculture and wild stock management. Aquaculture 281: 43 – 48.
- Joaquim, S., Matias, D., Matias, A., Moura, P., Arnold, W., Chícaro, L., Gaspar, M. 2011. Reproductive activity and biochemical composition of the pullet carpet shell *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1971) (Mollusca: Bivalvia) from Ria de Aveiro (northwestern coast of Portugal). Scientia Marina 75: 217 – 226.
- Joaquim, S., Matias, D., Matias, A.M., Leitão, A., Soares, F., Cabral, M., Chícaro, L., Gaspar, M.B. 2014. The effect of density in larval rearing of the pullet carpet shell

*Venerupis corrugata* (Gmelin, 1791) in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture Research* 47: 1 – 12.

Kandeel, K.E. 2008. Length-Weight Relationships and Monthly Variations in Body Weights and Condition Indices of Two Clam's Species; *Venerupis aurea* and *Tapes decussata* in Lake Timsah, Egypt *Cratichneumon* 3: 111 – 124.

Kheder R., Moal J., Robert R., 2010. Impact of temperature on larval development and evolution of physiological indices in *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 309: 286–289.

Kraeuter, J.N., Castagna, M., Dessel, R.V. 1982. Egg size and larval survival of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Argopecten irradians* (Lamarck). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 56: 3 – 8.

Lesser, M. 2011. *Advances in Marine Biology*. 1ª edição. Elsevier, Amesterdão. 131 -134.

Luz, J.R., Boehs, G. 2011. Reproductive cycle of *Anomalocardia brasiliana* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) in the estuary of the Cachoeira River, Ilhéus, Bahia. *Brazilian Journal of Biology* 71: 679 – 686.

Machado, D. 2015. Reproductive cycle of the population of European clam, *Ruditapes decussates*, from Lagoa de Óbidos, Leiria, Portugal. *Dissertação de Mestrado*. Instituto Politécnico de Leiria.

MacKenzie C., Burrell V., Rosenfield A., Hobart W. 1997. *The History, Present Condition, and Future of the Molluscan Fisheries of North and Central America and Europe*, 3ª edição. U.S. Department of Commerce, Seattle, Washington. 165 – 201.

Madrones-Ladja, J. 1997. Notes of the induced spawning, embryonic and larval development of the window-pane shell, *Placuna placenta* (Linnaeus, 1758), in the laboratory. *Aquaculture* 157: 137 – 146.

Magnesen, T., Bergh, O., Christophersen, G. 2006. Yields of great scallop, *Pecten maximus*, larvae in a commercial flow-through rearing system in Norway. *Aquaculture International* 14: 377 – 394.

Martínez, J.O. 2013. Estudio del desarrollo gametogénico de la almeja fina, *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758) en el medio natural y optimización de las condiciones

del acondicionamiento en criadero. Tese de Doutoramento. Universidade de Santiago de Compostela.

Martínez-Patiño, D., 2013. Balance de las nuevas especies aportadas a la diversificación de la acuicultura y el marisqueo. Foro de Acuicultura y Recursos Mariños de las Rías Gallegas 15: 95 – 115.

Matias, D., Joaquim, S., Leitão, A., Massapina, C. 2009. Effect of geographic origin, temperature and timing of broodstock collection on conditioning, spawning success and larval viability of *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758). *Aquaculture International* 17: 257 – 271.

Matias, D., Joaquim, S., Ramos, M., Sobral, P., Leitão, A. 2011. Biochemical compounds' dynamics during larval development of the carpet-shell clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758): effects of mono-specific diets and starvation. *Helgoland Marine Research* 65: 369 – 379.

Matias, D., Joaquim, S., Matias, A.M., Moura, P., Sousa, J.T., Sobral, P., Leitão, A. 2013. The reproductive cycle of the European clam *Ruditapes decussatus* (L., 1758) in two Portuguese populations: Implications for management and aquaculture programs. *Aquaculture* 406: 52 - 61.

Melo C., Durland E., Langdon C., 2016. Improvements in desirable traits of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, as a result of five generations of selection on the West Coast, USA. *Aquaculture* 460: 105–115.

Moore, J. 2006. An Introduction to the Invertebrates. New Hall, Cambridge University Press. USA. 135 – 139.

Moscoso, E.R. 2000. Histofisiologia de la reproducción de almeja fina *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758) en la ria de Arosa (población natural y población de cultivo). Tese de Doutoramento. Universidade de Santiago de Compostela.

Novoa, S., Martínez, D., Ojea, J., Soudant, P., Samain, J.F., Moal, J., Rodríguez, J.L. 2002. Ingestion, digestion, and assimilation of gelatin-acacia microcapsules incorporating deuterium-labeled arachidonic acid by larvae of the clam *Venerupis pullastra*. *Journal of Shellfish Research* 21: 649 – 658.

Nóvoa, S. 2007. Metabolismo lipídico, ácidos grasos en el cultivo larvario de almeja babosa, *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803). “Calidad ovocitaria, larvaria y nutricional con una aproximación al uso de la microencapsulación lipídica”. Tese de Doutoramento. Universidade de Santiago de Compostela.

Ojea, J., Pazos, A.J. Martínez, D., Novoa, S., Sánchez, J.L., Abad, M. 2004. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of *Ruditapes decussatus* in relation to the gametogenoc cycle. *Aquaculture* 238: 451 – 468.

Ojea, J., Martínez-Patiño, D., Nóvoa, A., Cerviño-Otero, A. 2005. Ciclo gametogénico de una población de almeja japonesa *Ruditapes philippinarum* (Adams y Reeve, 1850) en la Ría de Camariñas (NO España) y relación con la composición bioquímica mayoritaria. *Boletín Instituto Español de Oceanografía* 21: 337 – 342.

Ojea, J., Pazos, A.J., Martínez, D., Novoa, S., García-Martínez, P., Sánchez, J.L., Abad, M. 2008. Effects of temperatura regime on broodstock conditioning of *Ruditapes decussatus*. *Journal of Shellfish Research* 27: 1093 – 1100.

Pereira, N. 2011. Avaliação do Potencial Aquícola da População de Amêijoas *Venerupis aurea* (Gmelin, 1791) da Ilha de S. Jorge (Açores). Dissertação de Mestrado. Universidade do Porto.

Pérez, A.L. 2015. Desarrollo del cultivo integral de la coquina *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758). Ciclo reproductivo, cultivo en criadero y en el medio natural. Tese de Doutoramento. Universidade de Santiago de Compostela.

Pérez-Camacho, A., Cabello, G., Cervigón, M. 1977. Experiencias en cultivos de larvas de tres especies de moluscos bivalvos: *Venerupis pullastra* (Montagu), *Venerupis decussata* (Linnaeus) y *Ostrea edulis* (Linnaeus). *Boletín Instituto Español de Oceanografía* 235: 215 – 268.

Pérez-Camacho, A. 1980. Biología de *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803) y *Venerupis decusata* (Linné, 1767) (Mollusca, Bivalvia), con especial referencia a los factores determinantes de la producción. *Boletín Instituto Español de Oceanografía* 281: 43 – 76.

Pérez-Camacho, A., Delgado, M., Fernández-Reiriz, M.J., Labarta, U. 2003. Energy balance, gonad development and biochemical composition in the clam *Ruditapes decussatus*. *Marine ecology progress series* 258: 133 – 145.

- Rayment, W.J. 2007 Pullet carpet Shell (*Venerupis corrugata*). Disponível em: <https://www.marlin.ac.uk/species/detail/1558>. Acedido em: 01 de Março de 2018.
- Reis, C.S., Marques, V.M., Calvário, J., Marques, J.C., Melo, R., Santos, R. 1982. Contribuição para o estudo dos povoamentos bentónicos (substrato móvel) da costa ocidental portuguesa. *Oecologia aquática* 6: 91 – 105.
- Rico-Villa B., Woerther P., Mingant C., Lepiver D., Pouvreau S., Hamon M., Robert, R. 2008. A flow-through rearing system for ecophysiological studies of Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture* 282: 54–60.
- Rico-Villa, B., Pouvreau, S., Robert, R. 2009. Influence of food density and temperature on ingestion, growth and settlement of Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 287: 395 – 401.
- Robert, R., Vignier, J., Petton, B. 2017. Influence of feeding regime and temperature on development and settlement of oyster *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758) larvae. *Aquaculture research* 48: 4756 – 4773.
- Vera, C. 2010. Estudo da qualidade das posturas de progenitores “selvagens” de amêijoamacha *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1791). Dissertação de mestrado. Universidade do Algarve.
- Villalba, A., Carballal, M.J., López, M.C. 1993. Estudio del ciclo gonadal de tres especies de almeja, *Ruditapes decussatus*, *Venerupis pullastra* y *Venerupis romboides* de las rías gallegas. *Actas IV Congreso Nacional Acuicultura*: 341 – 346.
- Yan, X., Zhang, G., Yang, F. 2006. Effects of diet, stocking density, and environmental factor son growth, survival, and metamorphosis of Manila clam *Ruditapes philippinarum* larvae. *Aquaculture* 253: 350 – 358.
- Zhang, G., Yan, X. 2006. A new three-phase cultura method for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, farming in Northern China. *Aquaculture* 258: 452 – 461.



## ANEXOS



## **Abstract**

In the last years, the aquaculture of bivalves has been using hatcheries to produce larvae and seeds to have always organisms in quantity and quality throughout all the year. *Polititapes aureus* is an endemic species from Galicia that have it's natural population decreasing and this study aims at stipulating a protocol of larval culture from this species.

The larval and post-larval development of the study was done in 500 liter frustoconical tanks with a larval density of approximately 5 larvae per milliliter, temperature of  $19\pm 1^{\circ}\text{C}$  and water was filtered by cartridges, sand filters and ultraviolet.

The study showed that this species has a larval development until fixation with short duration and very little mortality compared to other veneridae. To better study this development, more replies should be done and at different seasons of the year.

## **Resumen**

En los últimos años se recurre a los criaderos para la producción de semillas de bivalvos con el fin de disponer de organismos en cantidad y en cualidad durante todo el año. *Polititapes aureus* es una especie autóctona de Galicia cuyas poblaciones naturales tienden a disminuir. Este estudio tiene como objetivo el marcar un protocolo de cultivo de esta especie.

El desarrollo larvario y post-larvario del estudio fue hecho en tanques troncocónicos de 500 litros, con una densidad larval aproximada de 5 larvas por mililitro, temperatura de  $19\pm 1^{\circ}\text{C}$  y el agua era filtrada por cartuchos, filtro de arena y ultravioleta.

Con el estudio realizado se observó que esta especie tiene uno desarrollo larvario hasta la fijación de corta duración y muy poca mortalidad comparada con otros veneridos. Para optimizar este desarrollo, deberían hacerse más replicas y en diferentes estaciones del año.

## **Justificación**

Inicialmente el cultivo de bivalvos dependía sólo del marisqueo, capturando semillas del medio natural y trasladándolas a otras zonas para su engorde, pero cada vez más se depende de las hatcherys para la producción de semilla.

*Polititapes aureus* (Gmelin, 1791) es una especie de almeja autóctona de Galicia (Noroeste de España) a pesar de no ser muy apreciada gastronómicamente como otras especies de almejas, su población natural se está reduciendo drásticamente.

Los diferentes cultivos larvarios y postlarvarios dependen de las especies cultivadas y de las

condiciones empleadas en las instalaciones de cultivo. Basándonos en las condiciones idóneas, se pretende desarrollar un protocolo que lleve a unos buenos resultados en la obtención de semilla en la almeja bicuda.

### **Material y métodos**

En el centro de cultivos marinos de Ribadeo (CIMA) se ha desarrollado el cultivo larvario y post-larvario de *Polititapes aureus*, que empezó con la larva D, pasando por la fijación y terminando 3 meses después de la fertilización del huevo. Los reproductores fueron adquiridos del banco natural de Cangas (Ría de Vigo, NO de España) el 16 de Febrero. Fueron acondicionados en tanques de 200L y a temperaturas desde 15 a 20°C, con salinidad de 33‰ y alimentados con una mezcla de microalgas. Los desoves se produjeron de forma espontánea.

El cultivo se realizó en tanques troncocónicos de 500 litros, en una densidad aproximada de 5 larvas por mililitro, con agua filtrada por filtro de arena, cartuchos y ultravioleta, la temperatura rondó los  $19\pm 1^\circ\text{C}$ .

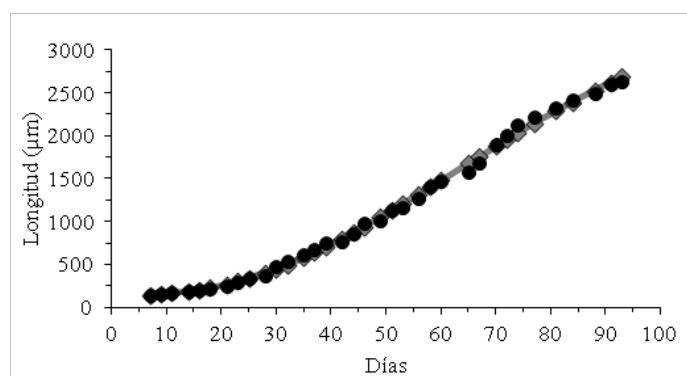
Cuando la mayoría de las larvas ya tienen el pie formado, los organismos son colocados dentro de cilindros con fondo de malla de 120  $\mu\text{m}$ . En este cultivo las larvas fueran colocadas a fijar cuando quedaran retenidas en la malla de 150  $\mu\text{m}$ . En estos mismos cilindros se mantienen los individuos donde se realiza el cultivo de postlarvas hasta finalizar la experiencia, aumentando los tamaños de la luz de malla de los cilindros.

La alimentación se basó en una mezcla de varias especies: *Chaetoceros sp.*, *Isochrysis galbana*, *Diacronema lutheri* y *Tetraselmis suecica*, cultivadas en un sistema continuo y monoespecífico. Diariamente se midió la temperatura de cada tanque y se suministró la alimentación. En días alternados se tamizaron las larvas por tamaño y se midió la longitud de 50 a 100 larvas *in vivo* en un analizador de imágenes.

La curva de crecimiento fue ajustada a un modelo de crecimiento sigmoideal y se obtuvieron los valores para el coeficiente de determinación ajustado y el nivel de significancia.

### **Resultados y Discusión**

El crecimiento larvario y post-larvario está representado en la figura 1. Este crecimiento se ajusta a una curva sigmoideal donde existe una relación altamente significativa entre el incremento del tamaño y los días del 99,72% con un nivel de significancia  $< 0.01$ .



**Figura 1.** Crecimiento larvario y post-larvario medio, ajustado a una curva sigmoideal, en 3 meses de *Polititapes aureus* en criadero. Los puntos negros son los valores observados y la línea gris es lo ajuste a curva sigmoideal.

En condiciones idénticas de cultivo larvario y post-larvario de bivalvos, todos los cambios desde larva D hasta juveniles presentan diferentes duraciones, tamaños y mortalidades entre diferentes especies e incluso a veces entre diferentes cultivos de la misma especie. En la tabla I, se muestran los valores de la longitud en micrómetros, la duración post-fertilización y supervivencia (%).

**Tabla I** – Longitud media, duración en días y supervivencia en la fijación y en postlarvas retenidas en tamiz de 300 µm

	Fijación	300 µm
Longitud (µm)	200,88±	374,59±
Días	14 – 16	28 – 35
Supervivencia (%)	60	30

En esta especie el cultivo larvario hasta fijación tiene una corta duración, según los resultados de otros cultivos desarrollados en CIMA (Martínez, 2013), cuando se compara con otros veneridos como *Ruditapes decussatus*, *Ruditapes philippinarum*, *Venerupis pullastra* y *Venerupis rhomboides*, aunque el tamaño en longitud y supervivencia son similares.

En post-larva tiene una duración similar, pero su longitud es mayor y la supervivencia es similar a la de *Ruditapes decussatus*, con supervivencia de 35% (Aranda, 2010).

En la metamorfosis ya se forman las branquias pero sólo es a partir de una talla superior a las 300  $\mu\text{m}$  cuando las larvas tienen desarrollados los sifones y son idénticas a los adultos. En 2 meses ya existen larvas que alcanzan el 1 mm y a los 3 meses ya existe semilla de 4 mm longitud.

### **Bibliografía**

Aranda, JA, 2010. Desarrollo embrionario y larvario de almeja fina, *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758): estudio óptico y electrónico de barrido. Trabajo Fin de Master. Universidade de Santiago de Compostela.

Martínez Patiño, D. 2013. Balance de las nuevas especies aportadas a la diversificación de la acuicultura y el marisqueo. Foro Recursos Marinos y Acuicultura de las Rías Gallegas 15: 73 – 93.

### **Agradecimientos**

Al CIMA (Conselleria do mar) por darme la oportunidad de trabajar en la Planta de Ribadeo y a todo su personal por toda la ayuda prestada.



# Desarrollo larvario en criadero de almeja bicuda *Polititapes aureus* (Gmelin, 1791)

<sup>1</sup> Centro de Investigacións Mariñas, Consellería do Mar, Xunta de Galicia, Muelle de Porcillán s/n, 27700, Ribadeo, Lugo.  
dorotea.martinez.patino@xunta.es

<sup>2</sup> MARE. Centro de Ciencias del Mar y del Ambiente, Escuela Superior de Turismo y Tecnología del Mar, Instituto Politécnico de Leiria, 2520 - 641 Peniche, Portugal.

## Resumen

En los últimos años se recurre a los criaderos para la producción de semilla de bivalvos con el fin de disponer de suficientes individuos durante todo el año. *Polititapes aureus* es una especie autóctona de Galicia cuyas poblaciones naturales tienden a disminuir. Este trabajo tiene como objetivo el marcar un protocolo de cultivo de esta especie.

El desarrollo larvario y postlarvario del estudio se hizo en tanques troncocónicos de 500 litros, con una densidad larval aproximada de 5 larvas por mililitro, temperatura de  $19\pm 1^\circ\text{C}$  y el agua se filtró por cartuchos, filtro de arena y ultravioleta.

Analizando los datos obtenidos se observó que esta especie tiene un desarrollo larvario hasta la fijación de corta duración y muy poca mortalidad, comparada con otros veneridos. Para optimizar este desarrollo, deberían hacerse más réplicas y en diferentes estaciones del año.

## Justificación

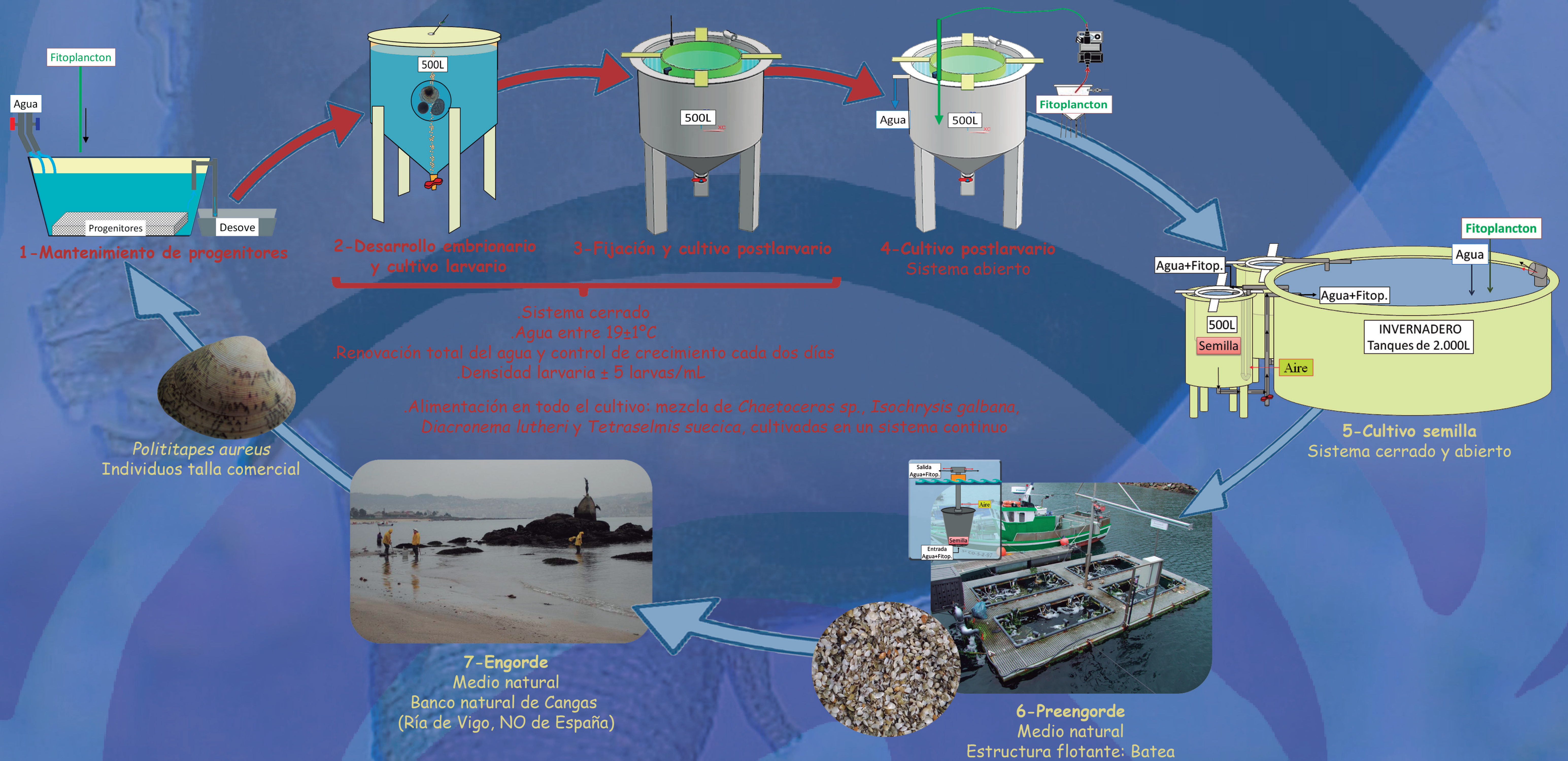
Inicialmente el cultivo de bivalvos dependía sólo del marisqueo, capturando semillas del medio natural y trasladándolas a otras zonas para su engorde, pero cada vez se depende más de las hatcheries para la producción de semilla.

*Polititapes aureus* es una especie de almeja autóctona de Galicia (Noroeste de España), a pesar de no ser muy apreciada gastronómicamente como otras especies de almejas, su población natural se está reduciendo drásticamente.

Los diferentes cultivos larvarios y postlarvarios dependen de las especies cultivadas y de las condiciones empleadas de cultivo. Basándonos en las características de cultivo idóneas existentes en las instalaciones de la Planta de Cultivos de Ribadeo (CIMA), se pretende desarrollar un protocolo que lleve a unos buenos resultados en la obtención de semilla en la almeja bicuda.

## Material y Métodos

En este trabajo el procedimiento de cultivo de la almeja bicuda, tiene una vinculación directa con las características concretas de la Planta de Cultivos del CIMA de Ribadeo. En el siguiente esquema se muestran los sistemas empleados para cada fase de cultivo, desde su recogida en el medio natural y traslado al criadero, hasta la talla comercial. El presente estudio se centra en las fases de **cultivo larvario y postlarvario**.



## Resultados y Discusión

El crecimiento de la almeja bicuda, se ajusta a una curva sigmoideal con una relación altamente significativa entre el incremento del tamaño y los días, del 99,72% y con un nivel de significancia  $< 0,01$ .

En condiciones idénticas de cultivo larvario y postlarvario, todos los cambios desde larva D hasta juveniles presentan diferentes duraciones, tamaños y mortalidades.

Tabla I - Longitud media, duración en días y supervivencia en la fijación y en postlarvas retenidas en tamiz de  $300\ \mu\text{m}$ .

	Fijación	$300\ \mu\text{m}$
Longitud ( $\mu\text{m}$ )	$\pm 200,88$	$\pm 374,59$
Días	14-16	28-35
Supervivencia (%)	60	30

En esta especie el cultivo larvario hasta fijación tiene una corta duración, según los resultados de otros cultivos desarrollados en el CIMA de Ribadeo (Martínez, 2013).

Su supervivencia en postlarva (35%) es similar a la de *Ruditapes decussatus* (Aranda, 2010).

A partir de una talla superior a las  $300\ \mu\text{m}$ , las larvas tienen desarrollados los sifones y son idénticas a los adultos.

En 2 meses ya existen larvas que alcanzan 1 mm y a los 3 meses ya existe semilla de 4 mm.

## Bibliografía

Aranda, J.A. 2010. Desarrollo embrionario y larvario de almeja fina, *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758): estudio óptico y electrónico de barrido. Trabajo Fin de Máster. Universidade de Santiago de Compostela.

Martínez Patiño, D. 2013. Balance de las nuevas especies aportadas a la diversificación de la acuicultura y el marisqueo. Foro Recursos Marinos y Acuicultura de las Rías Gallegas 15: 73 - 93.

## Agradecimientos

Al CIMA (Consellería do Mar) por darme la oportunidad de trabajar en la Planta de Ribadeo y a todo su personal por toda la ayuda prestada.

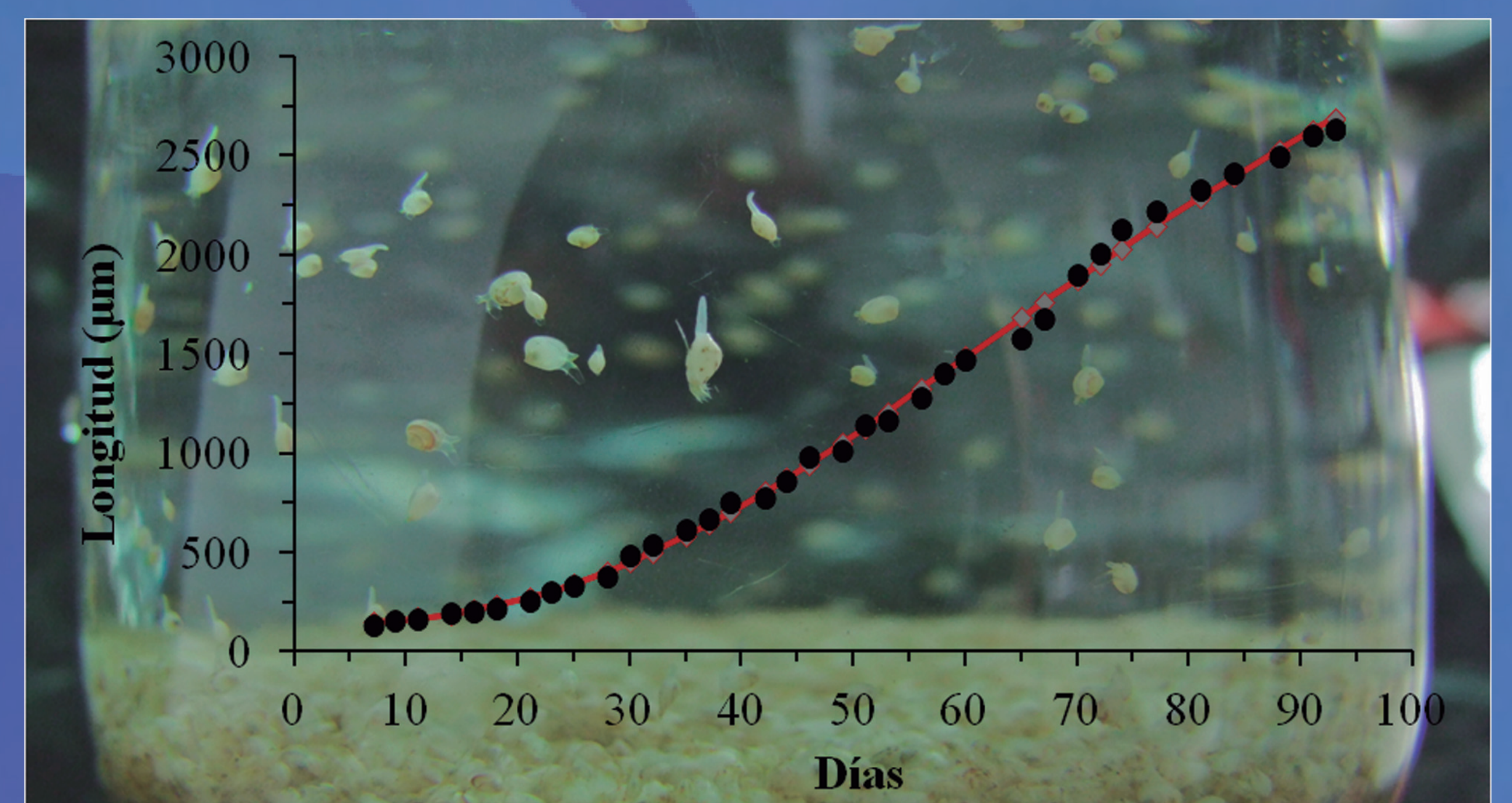


Figura 1.- Crecimiento larvario y postlarvario medio. Los puntos negros son los valores observados y la línea roja es el ajuste a la curva sigmoideal.