

DÉBORA PESTANA DA SILVA

**ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DO MEXILHÃO DOURADO**

***Limnoperna fortunei* (BIVALVIA, MYTILIDAE)**

**(DUNKER, 1857)**



Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de doutor.

**CURITIBA**

**2006**

**DÉBORA PESTANA DA SILVA**

**ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DO MEXILHÃO DOURADO *Limnoperna fortunei*  
(BIVALVIA, MYTILIDAE) (Dunker,1857)**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação  
em Engenharia Florestal da Universidade  
Federal do Paraná, como requisito parcial para  
obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Eduardo Rizzi  
Co-orientador : Prof. Dr. Antonio Ostrensky  
Co-orientador : Prof. Walter Antonio Boeger PhD

**CURITIBA  
2006**

Todo dia o Sol levanta  
E a gente canta  
o sol de todo dia.  
Fim da tarde  
A terra cora  
E a gente chora  
Porque finda a tarde.  
Quando a noite a lua amansa  
E a gente dança  
Venerando a noite.

**(Canto do povo de um lugar – Caetano Veloso)**

Amanhecer  
é uma lição do universo  
que nos ensina  
que é preciso renascer.  
O novo amanhece.  
E quanto mais  
A luz vai invadindo a Terra  
O que a noite não revela  
O dia mostra pra mim.

**(Raízes – Renato Teixeira)**

Here comes the sun, here comes the sun  
And I say it's all right !

**(Here comes the sun - George Harrison)**

Aos homens da minha vida, Antonio e Vítor, dedico esse trabalho.

M.A.D.B.V.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao meu comitê de orientação, Dr. Nivaldo Eduardo Rizzi, Dr. Antonio Ostrensky e Dr. Walter Antonio Pereira Boeger, pelos ensinamentos, incentivo, ajuda, cobrança e vibração com os resultados.

Na parte técnica, agradeço ao M.Sc. Robert Willian Pilchowski pela aquisição de material, à Med.Vet. Gisele Castilho pela confecção das lâminas histológicas, ao Eng. Agrônomo Francisco Franceschi pelas coletas, ao M.Sc. Márcio Pie pelas versões e revisões, ao M.Sc. Ubiratã A.T. Silva, pelas inúmeras sugestões e ao M.Sc. Rogério Vianna e biólogos Lineu Brito e Gilmar Neves pelas triagens. Ao pessoal da ETA Vila C (Foz do Iguaçu), Altair e Denis, pela gentileza com que sempre me atenderam.

À galera do GIA (Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais), do qual muito me orgulho de fazer parte: Robert, Gisele, Bira, Leandro, Chico, Paulo, Robson, Gabriel, Marcelo, Manu, Chris, Márcio, Luciana e Rogério, pelas sugestões, palpites, torcida, enfim, pela ajuda em tudo, inclusive pelas risadas (muitas) e pelos cafés (muitos), que ajudaram na produção desse trabalho, em todas as etapas.

Aos amigos da vida toda, Deni e Emílio, Saddock, Eleni e Caio, Gil, Zé e Luíza, André, Lu e D. Leda, por todo o apoio ao longo desse período, entendendo inclusive as ausências.

Às amigas do doutorado Annete e Lígia, pelos nossos longos chás mensais, onde se conversava de tudo, inclusive das teses.

Aos meus pais, Paulo e Nice, por me apoiarem no trabalho e nos cuidados com o Vítor.

A toda forma de energia que fez com que eu achasse que valia a pena continuar por estar no caminho certo, meu

MUITO OBRIGADA!

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>Apresentação .....</b>	<b>1</b>
1.1.	Estrutura e objetivo geral do trabalho.....	9
1.2.	Referências bibliográficas .....	10
<b>2.</b>	<b>Efeitos da temperatura sobre as taxas de filtração de <i>Limnoperna fortunei</i> (Dunker, 1857) (Bivalvia - Mytilidae) em condições laboratoriais.</b>	<b>17</b>
2.1.	Resumo.....	17
2.2.	Abstract.....	17
2.3.	Introdução .....	17
2.4.	Materiais e métodos .....	19
2.5.	Resultados: .....	23
2.6.	Discussão:.....	34
2.7.	Conclusões:.....	40
2.8.	Referências bibliográficas .....	41
<b>3.</b>	<b>Efeitos da temperatura sobre o crescimento E maturação gonadal do mexilhão dourado (<i>Limnoperna fortunei</i>) em condições laboratoriais....</b>	<b>44</b>
3.1.	Resumo.....	44
3.2.	Abstract.....	44
3.3.	Introdução .....	44
3.4.	Material e métodos.....	45
3.5.	Resultados .....	48
3.6.	Discussão.....	56
3.7.	Conclusões.....	59
3.8.	Referências bibliográficas: .....	60
<b>4.</b>	<b>Efeitos da alimentação sobre o índice de condição e biomassa da concha de <i>Limnoperna fortunei</i> .....</b>	<b>63</b>
4.1.	Resumo:.....	63
4.2.	Abstract: .....	63
4.3.	Introdução .....	63
4.4.	Materiais e métodos: .....	64
4.5.	Resultados: .....	66
4.6.	Discussão:.....	70
4.7.	Referências bibliográficas .....	71

<b>5.</b>	<b>Ciclo reprodutivo de <i>Limnoperna fortunei</i> no reservatório de Itaipu, no ponto de captação da estação de tratamento de água Vila C (Foz do Iguaçu, PR, Brasil).</b> .....	<b>74</b>
5.1.	Resumo.....	74
5.2.	Abstract.....	74
5.3.	Introdução.....	74
5.4.	Materiais e métodos.....	76
5.5.	Resultados:.....	81
5.6.	Discussão:.....	92
5.7.	Conclusões:.....	97
5.8.	Referências bibliográficas.....	98
<b>6.</b>	<b>Análise comparativa da densidade larval de <i>Limnoperna fortunei</i> em dois pontos dos rios Iguaçu e Paraná na região de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.</b> .....	<b>101</b>
6.1.	Resumo:.....	101
6.2.	Abstract.....	101
6.3.	Introdução:.....	101
6.4.	Material e métodos.....	103
6.5.	Resultados:.....	104
6.6.	Discussão:.....	106
6.7.	Referências bibliográficas:.....	108
<b>7.</b>	<b>Varição nictemeral e análise do fototactismo dos estágios de desenvolvimento de <i>Limnoperna fortunei</i> na caixa de passagem da Estação de Tratamento de Água Vila C em Foz do Iguaçu, PR</b> .....	<b>110</b>
7.1.	Resumo.....	110
7.2.	Abstract.....	110
7.3.	Introdução.....	111
7.4.	Material e Métodos:.....	112
7.5.	Resultados:.....	114
7.6.	Discussão:.....	120
7.7.	Referências bibliográficas.....	122

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-1. Área de ocorrência do mexilhão dourado no Brasil .....	8
Figura 2-1. Baterias de testes de avaliação de taxa de filtração. Frascos com aeração dentro de incubadora. ....	20
Figura 2-2. Taxa de filtração de Algamac-2000 <sup>®</sup> por <i>Limnoperna fortunei</i> nas diferentes temperaturas ao longo de 24 horas de experimento .....	24
Figura 2-3. Taxa de filtração de Algamac-2000 <sup>®</sup> por <i>Limnoperna fortunei</i> ao longo do tempo. ....	25
Figura 2-4. Taxa de filtração de Algamac-2000 <sup>®</sup> por <i>Limnoperna fortunei</i> em diferentes temperaturas e ao longo do tempo .....	26
Figura 2-5. Comparação da taxa de filtração de Algamac-2000 <sup>®</sup> (mL/h/mexilhão) nas diferentes horas e temperaturas.....	27
Figura 2-6. Taxa de filtração de <i>Scenedesmus</i> sp. por <i>L. fortunei</i> em diferentes temperaturas, ao longo de 3 horas de experimento .....	30
Figura 2-7. Taxa de filtração de <i>Scenedesmus</i> sp. por <i>L. fortunei</i> (mL/h/mexilhão) nas diferentes horas e temperaturas.....	31
Figura 2-8. Correlação entre comprimento de concha (mm) e taxa de filtração de <i>L. fortunei</i> (Algamac-2000 <sup>®</sup> ) .....	32
Figura 2-9. Correlação entre comprimento de concha (mm) e índice de condição (IC) e taxa de filtração de <i>L. fortunei</i> ( <i>Scenedesmus</i> sp.) .....	32
Figura 2-10. Taxas de filtração nos alimentos testados (Algamac-2000 <sup>®</sup> e <i>Scenedesmus</i> sp) .....	33
Figura 3-1. Curvas de crescimento de <i>L. fortunei</i> nas cinco classes testadas. As barras representam os valores mínimos e máximos. Os retângulos hachurados agrupam 50% dos dados. As medianas são representadas pelos quadrados no interior dos retângulos.....	49
Figura 3-2. Curva de incremento percentual de tamanho da concha de <i>L. fortunei</i> a 18°C e a 25°C. ....	50
Figura 3-3. Índices de condição (IC) obtidos nas diferentes classes ao final do experimento de crescimento .....	51
Figura 3-4. Relação entre Índices de condição (IC) e comprimento de concha (mm) obtidos nas temperaturas testadas ao final do experimento de crescimento .....	53



Figura 3-5. Comparação entre índices de condição (IC) obtidos nas temperaturas testadas ao final do experimento de crescimento.....	54
Figura 3-6. Comparação entre os desenvolvimentos gonadais obtidos nas temperaturas testadas ao final do experimento de crescimento.....	55
Figura 3-7. Desenvolvimento gonadal nas diferentes classes de tamanho. À esquerda, diâmetro dos ovócitos ( $\mu\text{m}$ ) . À direita, porcentagem de ocupação da área amostral das gônadas masculinas. ....	56
Figura 4-1. Variação temporal do Índice de condição de <i>L. fortunei</i> .....	66
Figura 4-2. Variação temporal da massa (peso seco, sem concha) dos mexilhões com e sem alimentação. ....	68
Figura 4-3. Peso seco da concha (g) nos dois tratamentos, com e sem alimentação. ....	69
Figura 5-1. Localização das placas de assentamento no Reservatório de Itaipu.....	79
Figura 5-2. Cronograma de colocação das placas no reservatório de Itaipu. C= colocadas; R= retiradas.....	80
Figura 5-3. Placa retirada do reservatório após dois meses de permanência.....	80
Figura 5-4. Variação temporal do índice gonadossomático (IG) e do índice de condição (IC) de <i>L. fortunei</i> no ponto de captação de água da ETA Vila C em 2005. ....	82
Figura 5-5. Análises de regressão dos índices de condição (esquerda) e dos índices gonadossomáticos entre machos e fêmeas de <i>L. fortunei</i> . ....	83
Figura 5-6. Valores médios, mínimos e máximos dos índices de desenvolvimento gonadal de <i>L. fortunei</i> no ano de 2005. A) diâmetro dos ovócitos; B) porcentagem de ocupação dos folículos masculinos. ....	84
Figura 5-7. Temperatura da água no reservatório de Itaipu, no ponto de captação de água da ETA Vila C, no ano de 2005 .....	85
Figura 5-8. Variação média da temperatura da água e do diâmetro médio dos ovócitos de <i>L. fortunei</i> segundo as estação do ano. ....	86
Figura 5-9. Variação média da temperatura da água e da porcentagem de ocupação dos folículos masculinos de <i>L. fortunei</i> segundo as estação do ano.....	86
Figura 5-10. Variação temporal da densidade total de larvas de <i>L. fortunei</i> no ponto de captação de água da ETA Vila C no ano de 2005. ....	87

Figura 5-11. Variação temporal da densidade dos diferentes estágios larvais de <i>L.fortunei</i> no ponto de captação de água da ETA Vila C no ano de 2005. ....	88
Figura 5-12. Assentamento de indivíduos menores que 5 mm: A) placas horizontais; B) placas verticais. ....	89
Figura 5-13 Assentamento de indivíduos maiores ou iguais a 6 mm: A) placas horizontais; B) placas verticais. ....	90
Figura 5-14 Assentamento de indivíduos maiores ou iguais a 15 mm. A) placas horizontais; B) placas verticais. ....	91
Figura 6-1. Localização geográfica dos pontos de coleta nos rios Paraná e Iguaçu. ....	103
Figura 6-2. Densidades larvais de <i>L.fortunei</i> nos pontos amostrados nos rios Iguaçu e Paraná. ....	105
Figura 6-3. Estágios de desenvolvimento de <i>L.fortunei</i> no ponto amostral do rio Paraná. ....	106
Figura 6-4. Estágios de desenvolvimento de <i>L.fortunei</i> no ponto amostral do rio Iguaçu ....	106
Figura 7-1. Estrutura experimental utilizada nos testes de fototaxia das larvas de <i>L.fortunei</i> . ....	114
Figura 7-2 Variação da densidade total de larvas de <i>L. fortunei</i> na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, ao longo de 2005. ....	115
Figura 7-3 Variação da densidade total de larvas de <i>L. fortunei</i> na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, ao longo das estações de 2005. A - Verão; B - Outono; C - Inverno; D - Primavera. ....	116
Figura 7-4 Variação da densidade dos estágios de desenvolvimento de <i>L. fortunei</i> na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, durante o período da manhã, ao longo de 2005. ....	117
Figura 7-5 Variação da densidade dos estágios de desenvolvimento de <i>L. fortunei</i> na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, durante o período da tarde, ao longo de 2005. ....	117
Figura 7-6 Variação da densidade dos estágios de desenvolvimento de <i>L. fortunei</i> na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, durante o período da noite, ao longo de 2005. ....	118

Figura 7-7 Variação da temperatura da água no ponto de captação da ETA Vila C nas estações do ano, de 2005. .... 119

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-I. Limites ambientais de <i>L. fortunei</i> (segundo Darrigran, 2002) .....	6
Tabela 2-I. Estatística descritiva das taxas de filtração (mL/h/mexilhão) de Algamac-2000® por <i>L. fortunei</i> em diferentes temperaturas, ao longo de todo o teste (24 horas). As letras indicam os grupos homogêneos obtidos através de teste de Kruskal-Wallis ( $p > 0,05$ ) .....	24
Tabela 2-II. Comparação entre as taxas de filtração ao longo do tempo, nas diferentes temperaturas testadas. As barras unem as medianas (entre parênteses) cujas diferenças não foram significativas (Testes de Kruskal-Wallis $p > 0,05$ ). .....	28
Tabela 2-III: Síntese dos testes de Kruskal-Wallis entre as taxas de filtração de <i>L. fortunei</i> alimentados com Algamac-2000® em diferentes temperaturas e horas. As barras unem os valores cujas diferenças entre as medianas não foram significativas ( $p < 0,05$ ) .....	29
Tabela 2-IV. Estatística descritiva das taxas de filtração (mL/h/mexilhão) de <i>Scenedesmus</i> sp. por <i>Limnoperna fortunei</i> em diferentes temperaturas, ao longo de todo o teste (3 horas). As letras indicam os grupos homogêneos obtidos através de teste de K-W ( $P < 0,05$ ) .....	30
Tabela 2-V. Taxas de filtração de bivalves invasores (adaptado a partir de Sylvester <i>et al.</i> , 2005 e Von Rückert, 2004) .....	34
Tabela 3-I. Classes de tamanho de <i>Limnoperna fortunei</i> e limites de comprimento de concha dos mexilhões de cada classe no início do experimento. ....	46
Tabela 3-II. Síntese dos resultados obtidos no experimento com crescimento de <i>L. fortunei</i> em laboratório. ....	50
Tabela 3-III. Síntese dos resultados de índice de condição (IC) obtidos no experimento com crescimento de <i>L. fortunei</i> em laboratório. Letras iguais identificam os grupos homogêneos ( $p > 0,05$ ) formados a partir do teste de medianas de Kruskal-Wallis. As análises foram realizadas exclusivamente com o objetivo de comparar as medianas dentro de uma mesma classe de tamanho, não sendo realizadas análises entre as diferentes classes. ....	52

Tabela 3-IV. Comparação entre as medianas das massas (mg) nas temperaturas testadas ao final do experimento de crescimento. Barras unem os resultados que não apresentaram diferenças significativas.....	55
Tabela 4-I. Síntese dos resultados obtidos nos testes com e sem alimentação em relação ao índice de condição de <i>Limnoperna fortunei</i> . N= número amostral; Massa (g)= peso seco sem a concha; IC= índice de condição.....	67
Tabela 4-II Peso seco de concha nos dois tratamentos (g) .....	69
Tabela 7-I Síntese dos resultados do teste Kruskal-Wallis comparando os turnos nas diferentes estações e ao longo de todo o ano de 2005. M: Manhã; T: Tarde; N: Noite.....	115
Tabela 7-II Resultados do experimento de fototaxia de larvas de <i>L. fortunei</i> . Número de larvas, nos diferentes estágios de desenvolvimento e proporção total de larvas que migraram ativamente do escuro para o claro. ....	120

## RESUMO GERAL

Experimentos laboratoriais e análises em campo foram feitos para elucidar alguns aspectos da biologia de *Limnoperna fortunei* (BIVALVIA:MYTILIDAE), um molusco invasor originário do sudoeste asiático que vem colonizando a América do Sul desde 1991. Em relação ao seu hábito filtrador, comparando-se dois tipos de alimento, foi verificado que a temperatura teve menos influência na taxa de filtração do que o tamanho da partícula filtrada. A temperatura só influenciou sobre os valores de filtração nos experimentos realizados com a alga *Scenedesmus* sp., quando foram registrados os maiores valores (724,94 mL/h) para um bivalve invasor até o presente momento em temperatura de 25°C. Experimentos que testaram seu crescimento sob temperaturas diferentes (18 °C e 25 °C), indicaram um crescimento rápido, alcançando até 144% ao final de seis meses, com aumento das taxas de sobrevivência diretamente proporcional ao tamanho das classes testadas, reduzindo a suscetibilidade às principais causas de mortalidade nas classes de menor tamanho. As maiores taxas de crescimento e os maiores ganhos em massa foram alcançados na temperatura mais elevada (25°C). Os indivíduos testados apresentaram maturação precoce a partir de uma determinada classe de tamanho (no presente experimento, a partir de 10 mm de comprimento de concha). Nas análises que avaliaram o desempenho dos Índices de condição (IC) em relação à ausência ou presença de alimento *Limnoperna fortunei* se mostrou uma espécie bastante tolerante à ausência de alimento, uma vez que os grupos mantidos nessa condição experimental sobreviveram por 63 dias, quando foi feita a medição dos IC do último lote sobrevivente. Os estudos realizados no reservatório de Itaipu, no ponto de captação da ETA Vila C (Sanepar) em Foz do Iguaçu, PR, demonstraram que os processos que regeram o ciclo reprodutivo de *L. fortunei* (desenvolvimento gonadal, índice gonadal e presença de larvas no plâncton) no ambiente estudado aconteceram em dois períodos principais: entre fevereiro e junho e entre agosto e outubro, épocas não coincidentes com as variações extremas de temperatura da água. Entre esses períodos, a reprodução não cessou, mas foram registrados eventos menos pronunciados de produção larval. Os maiores valores das taxas de assentamento em substratos artificiais foram registradas entre março-junho de 2005, apresentando sincronia com o desenvolvimento gonadal dos indivíduos adultos, que atingiu valores bastante altos no mês de fevereiro. Todas as análises em relação ao seu ciclo reprodutivo registraram uma pausa reprodutiva da espécie entre julho e agosto, coincidindo com temperaturas baixas. A análise da variação nictemeral das larvas coletadas na caixa de passagem da ETA Vila C registrou que as diferenças entre os turnos testados (manhã, tarde e noite) aconteceram no outono e na primavera de 2005, períodos em que a temperatura da água apresenta as maiores variações e em que a circulação da água no reservatório se torna mais intensa. No verão e inverno do mesmo ano, não houve diferenças significativas entre os valores nos três turnos, indicando que com a pouca movimentação das águas do período, as larvas estariam sempre nos mesmos estratos, apontando pouca ou nenhuma influência da luz. Esse comportamento foi confirmado com experimentos de fototaxia, que indicaram que as larvas ou não eram atraídas pela luz ou apresentam capacidade natatória reduzida, sendo, de fato, movimentadas pelas correntes de temperatura. As amostragens realizadas em pontos dos rios Paraná e Iguaçu indicaram os mesmos padrões daqueles registrados no reservatório de Itaipu, com pausa reprodutiva entre julho e agosto e picos de densidade em maio-junho e outubro. Pela primeira vez foi registrada a presença de estágios larvais de *L. fortunei* no rio Iguaçu. A identificação de larvas no rio Iguaçu serve de alerta para o risco de invasão deste importante rio paranaense.

## ABSTRACT

Laboratory tests and field analysis were carried out to explain some features of bioecology of *Limnoperna fortunei* (BIVALVIA:MYTILIDAE), an invasive mussel from Southwestern Asia that has been spreading into South America since 1991. In respect to its filtration habit, comparing two kinds of food, there was a statistically significant relationship between temperature and filtration rates only in the experiment using *Scenedesmus* sp., regardless of temperature, suggesting that the relationship between filtration rates and temperature might depend on the size of the filtered particles. The filtration rate measured in the present study (724.94 mL/h) is one of the highest rates recorded among invasive bivalves to date. Laboratory assays to test its growth under different temperatures (18°C and 25°C) show a fast growth (to up to 144% at the end of the experiments, six months), with increasing survival rates with age, decreasing sensitivity to the principal causes of mortality in the lowest age class. The high growth and mass increase rates is in highest test temperature (25°C). The testing individuals show premature maturation starting from a given size class (in this experiment, from 10mm in shell growth). In the analysis what were evaluate the performance of Condition Index (CI) in respect to absence or presence of food, *L.fortunei* was show a tolerant species to starvation, surviving for 63 days without food. The field analysis carry out in Itaipu Reservoir, in the ETA Vila C (Sanepar) collection point, municipality of Foz do Iguaçu, PR, Brazil and indicate that the processes involved in the *L. fortunei* reproductive cycle (gonadal development, gonadal index , oocyte diameter and follicular occupation), the density of developmental stages in plankton and settlement rates in artificial substrates in this environment take place in two main periods: between February and June and between August and October. Both periods do not correspond to extreme variations in water temperature. In the interval between these periods, the reproduction did not cease, although the records of larval production were less marked. All the analysis involved in the *L.fortunei* reproductive cycle show a reproductive pause of this species between July and August, corresponding with low temperature. The diel variation of frequency of stages of development of *L.fortunei* in the ETA Vila C recorded great densities of larvae were in the morning during two of the seasons (Fall and Spring), when the water temperature shows the greater variations and the water circulation was more intense. In the Summer and in the Winter, there were no statistically significant differences among the periods of the day (morning, afternoon, night). Phototaxis tests indicated that there is not enough positive phototropism or swimming ability for the larvae to swim upward into a more illuminated environment. The evidence indicates that the larval transport of *L. fortunei* in the water column occurs passively following the density currents generated by the variation in water temperature. The monitoring realized in two points of along the Paraná and Iguaçu Rivers near Foz do Iguaçu, PR, Brazil. The results indicated two density peaks in the Paraná River: a lower peak between March and June and a higher peak in October. In the Iguaçu River, the values were much lower, yet they also showed a peak between September and October. A cessation in reproductive activity was observed in both rivers between July and August. The average larval density in the collection point in the Paraná reached 1,114.8 larvae/m<sup>3</sup>, with peaks of 2,999.5 larvae/m<sup>3</sup>. The presence of *L. fortunei* was recorded in the first time in Iguaçu River. This result alerts for the risk of invasion of this important stream of the Paraná State.

## 1. APRESENTAÇÃO

As constantes alterações ambientais (deliberadas ou acidentais) provocadas pela dispersão humana acarretam uma série de modificações na composição das populações originais. São espécies vegetais, animais e outros grupos introduzidas pelo homem. Muitas destas espécies se tornam invasoras, multiplicando-se a tal ponto que passam a ser problemas nos ambientes invadidos.

Uma espécie exótica é considerada invasora quando não é nativa de um determinado ecossistema e cuja introdução nesse ecossistema causa, ou é passível de causar, danos ambientais, econômicos ou à saúde humana (Executive Order 13112 - National Invasive Species Council – EUA).

Introduções antrópicas têm homogeneizado a biota terrestre e suas conseqüências são geralmente amplas e diretamente relacionadas com a mudança no clima global, biodiversidade e liberação de organismos geneticamente modificados (Lodge, 1993).

A introdução de uma espécie pode ser intencional ou acidental. Na maior parte das vezes, a introdução intencional acontece por razões econômicas, seja para utilização da espécie em sistemas de produção ou como alimento, ou com interesses florestais ou ornamentais (McNeely, 2001). A dieta humana, ao longo de todo o mundo, é composta por um grande volume de itens alimentares, com espécies que foram introduzidas de outros ambientes.

A introdução não-intencional acontece pela modificação de habitats, (através de abertura de canais de irrigação, por exemplo), por transporte humano (navegação) ou quando a espécie é trazida para cumprir um determinado objetivo (como agentes controladores de pragas em programas de controle biológico - Thomas & Willis, 1998) e subseqüentemente se dispersa pelo novo habitat.

Apesar de ser um processo muito antigo, que remonta às navegações dos egípcios e fenícios, as discussões sobre invasões biológicas em geral envolvem casos contemporâneos, particularmente sobre o papel do homem na introdução de espécies não nativas em novos ambientes (Hochberg & Nicholas, 2005)

Os navios sempre foram a principal fonte de introdução de espécies exóticas, anteriormente por incrustações nos cascos e atualmente pelo transporte de água de lastro. O lastro consiste em qualquer material usado para dar peso e/ou manter a estabilidade de um objeto. Os navios carregaram lastro sólido, na forma de pedras,



areia ou metais, por séculos. Nos tempos modernos, as embarcações passaram a usar a água como lastro, o que facilita bastante a tarefa de carregar e descarregar um navio, além de ser mais econômico e eficiente do que o lastro sólido. Quando um navio está descarregado, seus tanques recebem água de lastro para manter sua estabilidade, balanço e integridade estrutural. Durante seu carregamento, a água do porto de origem é lançada ao mar. Os portos podem receber grandes volumes de água de lastro. Os Estados Unidos recebem anualmente 79 milhões de toneladas (Ruiz *et al.*, 2000)

A água de lastro é absolutamente essencial para a segurança e eficiência das operações de navegação modernas, proporcionando equilíbrio e estabilidade aos navios sem carga. Entretanto, isso pode causar sérias ameaças ecológicas, econômicas e à saúde. (<http://www.mma.gov.br/port/sqa/projeto/lastro>, acessado em 25 de julho de 2005)

Cerca de 80% do comércio mundial é feito hoje por transporte marítimo internacional, o que vem ocasionando a eliminação ou redução nas barreiras naturais que separavam os ecossistemas (Silva *et al.*, 2004).

Esse tipo de transporte provoca a movimentação anual estimada em 10 bilhões de toneladas de água de lastro e a circulação diária de cerca de 3000 espécies de organismos em todo o mundo por essa via (Carlton & Geller, 1993 *in* Silva *et al.*, 2004). Não há, porém, um consenso de como frear futuras introduções de espécies não nativas. Perings *et al.* (2005) defendem que usuários desse transporte devem ser incentivados a coibir o risco de invasões, utilizando o princípio do poluidor-pagador.

Nem toda espécie exótica se torna invasora. Para seu estabelecimento em um novo ambiente, uma espécie deve possuir características, como essas sumarizadas por Ricciardi & Rasmussen (1998): 1. Distribuição de abundante a ampla em sua área de ocorrência natural; 2. Ampla tolerância ambiental (deve ser capaz de colonizar diversos tipos de habitats e possuir grande flexibilidade de adaptações fisiológicas); 3. Alta variabilidade genética; 4. Ciclo de vida curto; 5. Rápido crescimento, 6. Maturidade sexual precoce; 7. Alta capacidade reprodutiva;

Segundo Andersen *et al.* (2004), o processo de invasão biológica pode ser dividido em quatro etapas: entrada, quando efetivamente a espécie chega em um ou mais pontos do ecossistema; estabelecimento, quando a espécie começa a se reproduzir no local e tenta escapar da extinção no novo ambiente; dispersão,

quando ocupa os habitats disponíveis; e impacto, quando a espécie persiste e compete em seu novo ambiente. Há uma filtragem entre essas etapas e nem todos os invasores conseguem sobreviver a todas as fases.

Morton (1996) afirma que, além dessas características típicas de espécies R-estrategistas, o invasor deve ter habilidade de colonizar ambientes anteriormente habitados por uma população que se extinguiu por fatores ambientais extremos. As espécies K-estrategistas, pela alta especialização de seus representantes, levam desvantagem em relação aos invasores oportunistas generalistas.

De acordo com Gray (1989) uma comunidade natural pode responder a um agente estressor através da redução da diversidade, do retrocesso na dominância por uma espécie oportunista e da redução no tamanho médio das espécies dominantes. Posteriormente, a espécie invasora deve suportar ou adaptar-se às condições do novo habitat, sendo capaz de se reproduzir e completar todos os estágios de seu ciclo de vida. A dispersão da espécie se dará depois por difusão hierárquica, por vizinhança ou por combinação dos dois tipos (Shigesada *et al.*, 1995).

Parker *et al.* (1999) sintetizaram o impacto de um agente invasor sobre um ambiente em cinco níveis: 1) efeitos sobre indivíduos (incluindo taxas demográficas como mortalidade e crescimento); 2) efeitos genéticos (incluindo hibridização); 3) efeitos na dinâmica populacional (abundância, crescimento populacional, etc); 4) efeitos sobre a comunidade (riqueza de espécies, diversidade, estrutura trófica); 5) efeitos nos processos do ecossistema (disponibilidade de nutrientes, produtividade primária).

Comparados aos ecossistemas terrestres, os ambientes aquáticos apresentam uma vulnerabilidade maior às espécies exóticas (Sala *et al.*, 2000). Esse fato acontece basicamente por duas razões, ambas motivadas pela forte afinidade que as pessoas têm com a água por motivos estéticos, recreacionais, e de transporte. A primeira razão é que comunidades inteiras de espécies pelágicas e bentônicas são movimentadas através de todo tipo de meio, sejam equipamentos de pesca, espécies para aquarofilia e aqüicultura. A segunda razão acontece pela facilidade de dispersão no ambiente invadido que o meio aquático oferece, em comparação ao terrestre. A movimentação da água e sistemas integrados de lagos e corpos hídricos facilitaria a dispersão (Lodge *et al.*, 1998)

Entre as espécies animais aquáticas invasoras, os moluscos bivalves se destacam. As espécies de moluscos bem sucedidas na colonização (invasão) de um ambiente possuem, além das características anteriormente descritas, algumas variações que torna representantes desse filo bastante adaptados para a invasão de um ecossistema. Seu rápido crescimento é, muitas vezes, associado a uma concha fina, sugerindo que a maior parte da energia é canalizada para uma rápida maturação sexual. A fertilização é, em geral, externa, com desovas “aos jatos”. Na maioria das vezes, são fixados por bissos e são preferencialmente filtradores. Os bivalves são, de um modo geral, filtradores dominantes, e sua capacidade de filtração pode ser substancial, atingindo entre 10 - 100% da coluna d’água. O impacto ecológico desses organismos em um determinado ecossistema depende fundamentalmente da magnitude e da natureza dos processos de remoção de partículas (Strayer, 1999). Os impactos relacionados aos bivalves de água doce vão desde a remoção das partículas, causando aumento na transparência da água e decréscimo das comunidades fitoplantônicas (“oligotrofização biológica”, segundo Welker & Walz, 1998), até a deposição de fezes e pseudofezes, que podem causar modificações nos padrões de sedimentação do ambiente e, conseqüentemente, na composição da fauna bêntica.

Os moluscos bivalves invasores de maior importância no cenário mundial são (modificado de Morton, 1996):

*Corbicula fluminea* - foi introduzido nos EUA por volta de 1938. Este molusco asiático causa grandes problemas obstruindo tubos e canais de água doce, em sistemas de refrigeração de usinas, além de dominância dos habitats. Já se encontra na Europa desde 1981 e também na América do Sul, tendo invadido a Argentina nos anos 1970 e o Uruguai por volta de 1981 (Ituarte, 1994). No Brasil, foi detectado em 1991 (Dreher-Mansur *et al.* 1991).

*Mytilopsis sallei*: originado do Golfo do México, já alcançou a Europa e Ásia e causa grandes problemas de incrustação nos portos da Índia.

*Musculista senhousia*: asiático, utilizado na China como alimento, provavelmente introduzido na América junto com *Oyster* sp. enviadas do Japão.

*Dreissena polymorpha*: originalmente confinada em volta do Mar Negro e Cáspio, esta espécie se disseminou pela Europa no início do século XIX. O gênero *Dreissena* (*D. polymorpha* - "mexilhão zebra" e *D. bugensis* - "mexilhão quaga") apresenta-se como um dos problemas ambientais mais sérios da América do Norte.

Estima-se que sua capacidade de obstruir tubulações cause um prejuízo anual de US\$ 5 bilhões (Khalanski, 1997). Além disso, o mexilhão zebra pode causar modificações na ecologia de rios e lagos e levar à extinção muitas espécies aquáticas (Maclsaac, 1996).

Por ser um organismo invasor que há muito tempo vem provocando grandes prejuízos econômicos e ecológicos, o mexilhão zebra (*Dreissena polymorpha*) tem sido amplamente estudado, em muitos aspectos, como ecologia, dinâmica populacional (Chase & Bailey, 1999a e 1999b), impacto sobre a comunidade (Ricciardi *et al.*, 1996, Howell *et al.*, 1996; Ricciardi *et al.*, 1997; Stewart *et al.*, 1998; Kuhns & Berg, 1999, Landrum *et al.*, 2000).

Como todos os bivalves, *D. polymorpha* é bioacumulador e seu papel no ciclo de contaminantes também vem sendo analisado. Brumer *et al.* (1994), Endicott *et al.* (1998) e Robertson & Lauenstein (1998) determinaram que o mexilhão zebra afeta esse ciclo nos Grandes Lagos pela alteração dos fluxos de partículas e também pela transferência de contaminantes para seus predadores.

Seu hábito filtrador e sua influência na remoção de fitoplâncton foram estudados, entre outros, por Berg *et al.* (1996), Bailey *et al.* (1999) e Makarewicz *et al.* (1999), sendo que estes últimos observaram a existência de seleção dos itens alimentares existentes no plâncton, geralmente em lagos, reservatórios e baías rasas, não em águas profundas. Howell *et al.* (1996) também verificaram aumento na transparência e diminuição da concentração de clorofila a, em função da atividade alimentar de *D. polymorpha*.

Cultivos em laboratório foram feitos por Wright *et al.*, (1996), utilizando duas espécies de Dreissenidae: *Dreissena polymorpha* (mexilhão zebra) e *D. bugensis* (mexilhão quaga). Os autores reportam que o cultivo de Dreissenidae em laboratório é muito trabalhoso e requer rigoroso controle da qualidade da água, com renovação três vezes por semana e controle de infestações de rotíferos e protozoários, além da alimentação das larvas apenas com algas vivas, ricas em ácidos graxos poliinsaturados. Essa última observação foi corroborada pelo estudo de Vanderploeg *et al.* (2001), que concluíram que a necessidade de *Dreissena* por ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) de cadeia longa é coerente com as necessidades de bivalves marinhos e zooplâncton de água doce. Além disso, postularam que a pequena taxa de sobrevivência das larvas no ambiente, relatada na literatura, pode estar relacionada com baixas concentrações de PUFA's de cadeias longas em

algumas algas cianofíceas e outras verdes que dominam lagos eutróficos europeus durante o verão.

*Limnoperna fortunei*: foi, desde sua introdução, considerada uma espécie de grande potencial de impacto devido às suas características biológicas. Para Darrigran (2002), os danos ecológicos causados por *L. fortunei* na América do Sul são semelhantes àqueles causados por *Dreissena polymorpha* (mexilhão zebra) na América do Norte. Esses danos vão desde a variação na composição da comunidade bêntica, com a remoção de moluscos nativos e um aumento na abundância e distribuição de outros grupos como Oligochaeta, Hirudinea, diversos crustáceos, Chironomida, Turbellaria e Nematoda, até modificações na cadeia trófica, onde espécies malacófagas são beneficiadas em detrimento de outras. Além disso, como foi observado para o mexilhão zebra na América do Norte, *L. fortunei* é encontrado fixado sobre substratos vivos, representados por espécies nativas de bivalves e crustáceos.

Dentre as características que tornam *L. fortunei* uma espécie invasora de grande sucesso estão a sua grande resistência a condições ambientais (Tabela 1-I) e sua fecundidade. O mexilhão é, portanto, capaz de colonizar uma grande variedade de habitats. Suas colônias atingem densidades de mais de 100.000 organismos por metro quadrado (Cataldo *et al.*, 2002).

Tabela 1-I. Limites ambientais de *L. fortunei* (segundo Darrigran, 2002)

Parâmetro	Limites
<b>Salinidade</b>	0-12%
<b>Cálcio</b>	3.96 mg/L
<b>pH</b>	6,2-7,4
<b>Temperatura</b>	
<b>desenvolvimento larval</b>	16 -28 °C
<b>sobrevivência do adulto</b>	8 -35 °C
<b>Oxigênio</b>	> 1,0 mg/L
<b>Exposição ao ar</b>	Até 7 dias

A desova pode ocorrer inúmeras vezes ao ano, especialmente em regiões onde a temperatura da água é mais elevada. Os trabalhos realizados na região neotropical sugerem que nas águas mais setentrionais da Bacia Rio Paraná, a atividade reprodutiva desta espécie ocorre continuamente, ao longo de nove meses

do ano (Boltovskoy e Cataldo, 1999; Cataldo e Boltovskoy, 1998; 2000), com picos de desova nos períodos mais quentes (Boltovskoy e Cataldo, 1999). Todavia, é muito provável que, em localidades mais ao norte, onde a temperatura da água é relativamente constante e mais elevada ao longo de todo o ano, a reprodução seja contínua nos 12 meses do ano.

*L. fortunei* (Dunker, 1856), vulgarmente conhecido como mexilhão dourado (golden mussel, mejillón dorado), é um molusco bivalve da família Mytilidae, a mesma família dos mexilhões marinhos.

A espécie é nativa de rios e arroios chineses e do sudeste asiático e apenas recentemente, por razões desconhecidas, vem expandindo sua distribuição em todo o mundo. Em 1965, invadiu as águas de Hong Kong (Morton, 1977), pela transposição de água dos rios da China. Expansões subseqüentes foram reportadas apenas muitos anos depois, em 1991, no Japão e Taiwan (Kimura, 1994; Ricciardi, 1998). Também em 1991, espécimes de *L. fortunei* foram detectados pela primeira vez no estuário do Rio da Prata (Pastorino *et al.*, 1993). Darrigan e Pastorino (1995) sugerem que a introdução da espécie se deu através da água de lastros de navios provenientes de Hong Kong ou da Coreia nos portos do estuário do Rio da Prata. Esta espécie tolera osmolalidades baixas, explicando sua presença em estuários, portos e reservatórios de água potável.

Do estuário da Bacia do Prata, *L. fortunei* expandiu sua distribuição rapidamente para as porções superiores da Bacia do rio Paraná, invadindo principalmente os grandes rios, numa velocidade de cerca de 240 km/ano (Darrigan, 2002). *L. fortunei* atingiu o rio Paraguai em 1997/98, alcançando a região de Corumbá em 2000 (Figura 1-1). Neste mesmo ano, sua presença foi reportada na Usina de Itaipu (Zanella & Marenda, 2002) e em 2002, em usinas hidrelétricas (Porto Primavera e Sérgio Motta) a jusante do Rio Paraná, em São Paulo (Oliveira *et al.*, 2004). Esses mesmos autores realizaram um levantamento da ocorrência da espécie no Alto Paraguai e registraram que até 2004 sua presença já havia sido detectada em toda a extensão desse rio, desde sua foz, em Pylar (Paraguai), até o rio Apa, que fica na extremidade da bacia estudada. A entrada da espécie neste sistema de rios deve ter ocorrido através da intensa navegação e transposição de barcos utilizados na pesca esportiva, já que o estágio de dispersão é planctônico (Oliveira *et al.*, 2004). Numa invasão paralela, o mexilhão dourado teve sua presença detectada pela primeira vez em 1998 no Lago Guaíba, em Porto Alegre

(RS), muito provavelmente via água de lastro, posteriormente causando incrustações em poços captadores de água em Porto Alegre (Mansur *et al.*, 2004). Capitoli & Bemvenuti (2004) efetuaram o mapeamento da distribuição da espécie na região estuarina da Lagoa dos Patos (RS) e concluíram que, pelo tráfego de embarcações ser intenso na região, a presença de *L. fortunei* seria detectada em breve em outros corpos hídricos próximos, como a Lagoa Mirim, se não fossem tomadas medidas preventivas.



Figura 1-1. Área de ocorrência do mexilhão dourado no Brasil  
(<http://www.mma.gov.br/port/sqa/projeto/lastro/doc/mexdocap.pdf>)

Em 2003, Takeda *et al.* afirmaram ter coletado seis espécimes de *L. fortunei* em dois reservatórios de água próximos a Curitiba (PR), um localizado na região metropolitana (Piraquara, onde teriam sido encontrados cinco exemplares) e outro na bacia litorânea (Guaricana, onde teria sido encontrado um exemplar). Os autores não explicaram como teria ocorrido a introdução, uma vez que não existem registros da espécie na porção anterior à foz do rio Iguaçu.

Sua presença foi reportada pela primeira vez no estado de São Paulo por Avelar *et al.* (2004), no município de Primavera.

Os efeitos da presença de *L. fortunei* no ambiente aquático sul-americano ainda estão sendo identificados e avaliados, mas existem evidências na literatura que permitem prever a possibilidade de ocorrência de alterações significativas na ictiofauna (Montaldo *et al.*, 1999), na composição do bentos (Darrigran *et al.*, 1998) e na dinâmica de contaminantes (Porta, 2001). Por ser uma espécie filtradora que forma agregados (colônias) de milhares de indivíduos, *L. fortunei* pode alterar substancialmente a dinâmica trófica do ecossistema aquático, pela filtração do material em suspensão (seston) e pela deposição de aglomerados desse material, na forma de fezes e de pseudofezes (Lei *et al.*, 1996).

A fisiologia dessa espécie na América do Sul foi estudada por Sylvester *et al.* (2005), que analisaram em laboratório a influência da temperatura sobre as taxas de filtração de indivíduos coletados no delta inferior do rio Paraná. Além desse trabalho, Cataldo *et al.* (2005) descreveram os efeitos da temperatura sobre o desenvolvimento larval de *L. fortunei*.

A recente história de invasão de *L. fortunei* identifica esse molusco como uma espécie que deve ser cuidadosamente monitorada. Seu potencial de expansão global foi demonstrado pela dispersão transoceânica desde a Ásia até a América do Sul e o aumento no fluxo de negócios marítimos entre os países do Pacífico e os da América do Sul aumentam a probabilidade de invasão da América do Norte por essa espécie em um futuro próximo (Ricciardi, 1998).

## **1.1. ESTRUTURA E OBJETIVO GERAL DO TRABALHO**

Essa tese foi estruturada sob dois enfoques: laboratorial e ambiental. Nos trabalhos desenvolvidos em laboratório, procurou-se elucidar algumas características da biologia da espécie relacionadas ao processo de invasão. Nos estudos realizados em ambientes invadidos buscou-se o entendimento dos mecanismos do processo de invasão. Os capítulos foram escritos seguindo a formatação de revistas científicas.

O objetivo do presente trabalho é, a partir do desenvolvimento em paralelo de estudos em laboratório e também em ambientes invadidos por *L. fortunei*, gerar informações biológicas e ecológicas que permitam decifrar alguns dos aspectos



inerentes ao processo de invasão. Esse conhecimento, juntamente com a capacidade de previsão dos impactos associados à sua introdução, principalmente em ambientes lênticos, é fundamental para a elaboração e aplicação de planos de controle direcionados a impedir a disseminação da espécie, além de possibilitar uma definição mais precisa e criteriosa das respostas aplicadas na mitigação dos impactos causados pela invasão de *L. fortunei* em um determinado ambiente.

## 1.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldridge, D.C.; Elliot, P. & Moggridge, G.D. The recent and rapid spread of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in Great Britain. **Biological Conservation** v.119 (2): 253-261.2004.

Andersen, M. C.; Adams, H; Hope, B. & Powell, M. Risk Assessment for Invasive Species **Risk Analysis**. v.24 n.4.p.787-793. 2004.

Avelar, W. E. P., Martim, S. L. And Vianna, M. P. A new occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1856) (Bivalvia, Mytilidae) in the State of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**.v.64 n.4. p.739-742. 2004.

Bailey, R.C., Grepentine, L., Stewart, T.J., Schaner, T., Chase, M. E., Mitchell, J.S. and Coulas, R.A. Dreissenidae in Lake Ontario: impact assessment at the Whole Lake Bay of Quinte Spatial Scales. **Journal of Great Lakes Research** v.25(3): 482-491.1999.

Berg, D.J.; Fisher, S.W. & Landrum, P.F. – Clearance and processing of algal particles by zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). **Journal of Great Lakes Research** v. 22 n.3. p. 779-788. 1996.

Boltovskoy & Cataldo, Population Dynamics of *Limnoperna fortunei*, an Invasive fouling mollusc, in the Lower Paran River (Argentina) **Biofouling** v.14.n.3.p.255-263. 1999.

Bruner, K.A. ; Fisher, S. W. & Landrum, P.F. The role of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in contaminant cycling : I. The effect of body size and lipid content on the bioconcentration of PCB's and PAH's. **Journal of Great Lakes Research** v.20(4):725-734. 1994.

Bunt, C. M.; Maclsaac, H.J. and Sprules, W. G. Pumping Rates and Projected Filtering Impacts of Juvenile Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*) in Western Lake Erie. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v.50.p.1017-1022. 1993.

Capítoli, R.R. & Bemvenuti, C.E. Distribuição do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) na área estuarina da lagoa dos Patos e canal São Gonçalo.

VI SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIROS, Anais. 07 a 11/09/2004. São José dos Campos (SP). ACIESP, São Paulo.2004

Cataldo, D.; Boltovskoy, D. Marini, V & Correa, N. - Limitantes de *Limnoperna fortunei* en la cuenca del Plata: la predación por peces. Apresentado na: "Tercera jornada sobre conservación de la fauna íctica en el río Uruguay" Organizada por la Comisión Administradora de Río Uruguay. Abril de 2002, Paysandu Uruguai. 2002

Cataldo, D.; Boltovskoy, D.; Hermosa, J.L.& Canzi, C. Temperature-dependent rates of larval development in *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae). **Journal of Molluscan Studies** V.71(1) : 41-46.2005

Cataldo, D.H & Boltovskoy, D. Yearly reproductive activity of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) as inferred from the occurrence of its larvae in the plankton of the lower Paraná river and the Rio da Prata estuary (Argentina). *Aquatic Ecology* v.34 p.307-317. 2000

Chase, M & Bailey, R.C.. The ecology of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in the lower Great Lakes of North America: I Population Dynamics and Growth. **Journal of Great Lakes Research** v.25(1):107-121. 1999.

Chase, M & Bailey, R.C.. The ecology of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in the lower Great Lakes of North America: II Total production, energy allocation and reproductive effort. **Journal of Great Lakes Research**. v.25(1):122-134. 1999

Cliff, A.D., P. Haggett, J.D. Ord, and G.R. Versey. **Spatial Diffusion**. Cambridge University Press, Cambridge. 1981.

Coughlan, The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. **Marine Biology** v.2.p. 356-358. 1969.

Darrigran, G. and G. Pastorino.. The recent introduction of a freshwater Asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South America. **The Veliger** v.38.p. 171-175. 1995.

Darrigran, G. Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. **Biological Invasions** 4: 145-156.2002

Darrigran,G., Martin, S.M., Gullo,B., and Armendariz, L. Macroinvertebrates associated with *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in Rio de la Plata, Argentina. **Hydrobiologia** v.367.p. 223-230. 1998.

Dreher-Mansur, M.C., Schultz, C., Silva, M.G.O & Velho, N.M.C.. Limnic bivalve molluscs from Taim Ecological Station and adjacent areas, Rio Grande do Sul, Brazil. **Iheringia. Serie Zoologia** v.71.p.43-58. 1991.

Elton, C. **The Ecology of Invasions by Animals and Plants** (Rerelease with a new foreword by Daniel Simberloff). University of Chicago Press, Chicago.181 pp. 2000.

Endicott, D.; Kreis Jr., Mackelburg, L. & Kandt, D. Modeling PCB bioaccumulation by the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in Saginaw Bay, Lake Huron. **Journal of Great Lakes Research** v.24 (2):411-426.1998

Franz, D. Allometry of shell and body weight in relation to shore level in the intertidal bivalve *Geukensia demissa* (Bivalvia: Mytilidae) **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v.174.p.193-207. 1993.

Gray, J.S. Effects of environmental stress on species rich assemblages. **Biological Journal of the Linnean Society of London** v.37.p. 19-32. 1989.

Haag, W. R. & Garton, D. Synchronous spawning in a recently established **.Hydrobiologia** v.234 n.2.p. 103-110. 1992.

Higgins, P.J. Effects of food availability on the valve movements and feeding behavior of juvenile *Crassostrea virginica* (Gmelin). II Feeding rates and behavior. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** n.46. p.17-27. 1980.

Hochberg, M. E. & Nicholas, J.G. An Invasions Special Issue **Trends in Ecology & Evolution** v.20 .n.5.p. 211. 2005

Horgan, M.J. & Mills, E.L. Clearance rates and filtering activity of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*): implications for freshwater lakes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** v. 54 .p.249 -255. 1997.

Howell , E.T.; Marvin, C.H.; Billyea, R.W.; Kauss, P.B.& Somers, K. Changes in environmental conditions during *Dreissena* colonization of a monitoring station in Eastern Lake Erie. **Journal of Great Lakes Research** v. 22(3): 744-756.1996

Ituarte, C.F. *Corbicula* and *Neocorbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Paraná, Uruguay, and Río de La Plata basins. **Nautilus** v.107.p. 129–135. 1994.

Iwasaki, K. Climbing behaviour and tolerance to aerial exposure of freshwater mussel, *Limnoperna fortunei*. **Venus** v. 56 (1):15-25.1997

Khalanski, M., 1997. Industrial and ecological consequences of the introduction of new species in continental aquatic ecosystems: the zebra mussel and other invasive species. *Bull. Francais de la Peche et de la Pisciculture* 0 (344–345), 385–404.

Kimura, T. The earliest record of *Limnoperna fortunei* (Dunker) from Japan. **Journal of the Malacological Society of Japan** v.25. p.34-35. 1994

Kuhns, L.A. & Berg, M.B. Benthic Invertebrate Community Responses to Round Goby (*Neogobius melanostomus*) and Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) Invasion in Southern Lake Michigan. **Journal of Great Lakes Research** v. 25(4): 910-917, 1999

Landrum, ; P.L.; Gossiaux, D.L.; Nalepa, T.F.& Fanslow, D.L. Evaluation of Lake Michigan sediment for causes of the disappearance of *Diporeia* spp. in southern Lake Michigan. **Journal of Great Lakes Research** v.26(4):402–407

- Lei, J. Payne, B.S. & Wang, S.Y. Filtration dynamics of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** v. 53.p. 29 - 37. 1996
- Lodge D.M, Stein, R.A., Brown, K.M, Covich A.P., Bronmark, C., Garvey, J.E., Klosiewski SP Predicting impact of freshwater exotic species on native biodiversity: Challenges in spatial scaling **Australian Journal Of Ecology** v.23 n.1.p. 53-67. 1998.
- Lodge, D.M. Biological invasions: Lessons for ecology **Trends in Ecology & Evolution** v.8 n.4.p.133. 1993.
- Maclsaac, H.J. Potential abiotic and biotic impacts of zebra mussels on the inland waters of North America. **American Zoologist** v.36:287–299.1996
- Makarewicz, J.C.; Lewis, T.W. & Bertram, P. Phytoplankton Composition and Biomass in the Offshore Waters of Lake Erie: Pre- and Post *Dreissena* Introduction (1983–1993). **Journal of Great Lakes Research** v.25(1):135–148. 1999
- Mansur, M.C.D; Quevedo, C.B; Santos, C.P. & Callil C.T. Prováveis vias de introdução de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) na Bacia da Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul e novos registros de invasão no Brasil pelas Bacias do Paraná e Paraguai in **Água de lastro e bioinvasão**, capítulo 4, páginas 33-38. Editores Julieta Salles Vianna da Silva & Rosa Cristina Corrêa Luz de Souza. Editora Interciência. 2004.
- Martin, P.R. & Estebenet, A.L. 2002. Spread of the Asiatic Clam *Corbicula fluminea* in Southern Pampas and Northern Patagonia. **Journal of Freshwater Ecology** v.17.n.2.p. 331-333
- McNeely , J. A. An introduction to human dimensions of invasive alien species in **The Great Reshuffling Human Dimensions of Invasive Alien Species**. Ed. Jeffrey A. McNeely IUCN – The World Conservation Union. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 242 p. 2001.
- Morton, B. The population dynamics of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytacea) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. **Malacologia** v. 16 p.165-182. 1977
- Morton, B.. The aquatic nuisance species problem: a global perspective and review. In **Zebra mussels and aquatic nuisance species**, capítulo 1, páginas 1 a 54. Editores F. Dimitri. Ann Arbor Press, Chelsea, Michigan. EUA. 1996.
- Oliveira, M.D.; Pellegrin, L.A.; Barreto, R.R. e Xavier, I.G. - Área de ocorrência do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) na Bacia do Alto Paraguai entre os anos de 1998 e 2004. **Embrapa Documentos 64**. 19 p. 2004.
- Parker, L.M.; Simberloff, D.; Lonsdale, W.M.; Goodell, K.; Wonham M.; Kareiva, P.M.; Williamson, M.H.; Von Holle, B.; Moyle, P.B.; Byers, J.E. & Goldwasser, L. Impact: Toward a Framework for Understanding the Ecological Effects of Invaders. **Biological Invasions** v.1 3-19.1999.

- Pastorino, G., G. Darrigran, S.M. Martin, and L. Lunaschi. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del Rio de la Plata. **Neotropica**. v.39. p. 34. 1993.
- Perings, C. , Dehnen-Schmutz, K. Touza, J. & Williamson, M How to manage biological invasions under globalization **Trends in Ecology & Evolution** v.20 n.5.p. 212-215. 2005.
- Porta, A. Biomarkers of contamination in coastal aquatic organisms of Rio de la Plata (Argentina). **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana** v.35 p. 261-271. 2001.
- Reeders, H & bij de Vaate, A Bioprocessing of polluted suspended matter from the water column by the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) Pallas. **Hydrobiologia** v.239 p. 53-63. 1992.
- Reeders,H & bij de Vaate, A. Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*): A New Perspective For Water Quality Management. **Hydrobiologia** v.200/201 p. 437-450.1990.
- Ricciardi, A & Rasmussen, J.B. Predicting the identity and impact of future biological invaders: a priority for aquatic resource management. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** v. 55. p.1759-1765. 1998.
- Ricciardi, A. Global range expansion of the Asian mussel *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): Another fouling threat to freshwater systems. **Biofouling** v.13 n.2. p.97-100. 1998.
- Ricciardi, A. *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): The Next Macrofouling Mussel to Invade North America?, McGill University .The Sixth International Zebra Mussel and Other Aquatic Nuisance Species Conference. Dearborn, Michigan, March 1996
- Ricciardi. A.; Whoriskey, F.G. & Rasmussen, J.B. The role of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in structuring macroinvertebrate communities on hard substrata. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**54: 2596-2608 (1997)
- Riisgard, H.U. On measurement of filtration rates in bivalves – the stony road to reliable data: review and interpretation. **Marine Ecology Progress Series** v.211 p.275-291. 2001.
- Robertson, A.& Lauenstein, G.G. Distribution of chlorinated organic contaminants in Dreissenid mussels along the southern shores of the Great Lakes. **Journal of Great Lakes Research** v.24(3):603-609. 1998
- Ruiz, G. M.; Rawlings, T. K.; Dobbs; F. C. Drake, L. A.; Mullady, T. ; Huq, A. & Colwell, R. R. Global spread of microorganisms by ships **Nature** v.408 p. 49-50. 2000.
- Sala, Osvaldo E., Chapin, F. Stuart, III, Armesto, Juan J., Berlow, Eric, Bloomfield, Janine, Dirzo, Rodolfo, Huber-Sanwald, Elisabeth, Huenneke, Laura F., Jackson, Robert B., Kinzig, Ann, Leemans, Rik, Lodge, David M., Mooney, Harold A.,

Oesterheld, Martín, Poff, N. LeRoy, Sykes, Martin T., Walker, Brian H., Walker, Marilyn, Wall, Diana H. Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100 **Science** v.287.p.1770-1774 . 2000

Shigesada, N., Kawasaki, K. & Takeda, Y. Modeling stratified diffusion in biological invasions. **American Naturalist** v.146 p.229-251. 1995

Silva, J.S.V; Fernandes, F.C; Souza, R.C.C.L; Larsen, K.T.S. & Danelon, O.M. Água de lastro e bioinvasão in **Água de lastro e bioinvasão**, capítulo 4, páginas 33-38. Editores Julieta Salles Vianna da Silva & Rosa Cristina Corrêa Luz de Souza. Editora Interciência. 2004

Stewart, T.W. ; Miner, J.G. & Lowe, R.L. Macroinvertebrates communities on hard substrates in Western Lake Erie : structuring effects of *Dreissena*. **Journal of Great Lakes Research** v.24(4):869-879. 1998

Strayer, D.L.; Caraco, N.F.; Cole, J.J.; Findlay, S. & Pace, M.L. Transformation of freshwater ecosystems by bivalves: a case study of zebra mussels in the Hudson River. **BioScience** v. 48 n.1.p.19-27. 1999.

Sylvester, F.; Dorado, J.; Boltovskoy, D. Juarez, A & Cataldo, D. – Filtration rates of the invasive pest bivalve *Limnoperna fortunei* as a function of size and temperature. **Hydrobiologia** v.534. p. 71-80. 2005.

Takeda, A.M.; Mansur, M.C.D.; Fujita, D.S.; Bibian, J.P.R. Ocorrência da espécie invasora de mexilhão dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), em dois pequenos reservatórios próximos a Curitiba, PR. **Acta biologica leopoldensia** v.25 n.2.p. 251-254. 2003.

Thomas M. B. & Willis, A. J. Biocontrol—risky but necessary? **Trends in Ecology & Evolution** v.13 n.8.p. 325-329. 1998

Vanderploeg, H.A. ; Liebig, J.R. & Gluck, A. A. Evaluation of different phytoplankton for supporting development of zebra mussel larvae (*Dreissena polymorpha*) : The importance of size and polyunsaturated fatty acid content. **Journal of Great Lakes Research** v.22(1):36-45.

Vanderploeg, H.A.; Liebig, J.R.; Carmichael, W.W.; Agy, M.A.; Johengen, T.H.; Fahnenstiel, G.L. e Nalepa, T.F Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**v.58.p.1208–1221 .2001.

Vaughn,C. & Hakenkamp,C.C. The Functional Role Of Burrowing Bivalves In Freshwater Ecosystems **Freshwater Biology** v.46.p.1431-1446. 2001.

Ward, J. E. & Shumway , S.E. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v.300 n.1-2.p. 83-130. 2004

Welker, M. & Walz, N. Can mussels control the plankton in rivers?--a planktological approach applying a Lagrangian sampling strategy. **Limnology and Oceanography** v.43 n.5 p. 753-762. 1998.

Wright, D.A.; Stezler-Hamilton, E.M.; Magee, J.A. & Harvey, R. Laboratory culture of zebra (*Dreissena polymorpha*) and quagga (*D. bugensis*) mussel larvae using estuarine algae. **Journal of Great Lakes Research** v.22(1):46-54.1996

Zanella, O.& Marena, L. D. Ocorrência de *Limnoperna fortunei* na Central Hidrelétrica de Itaipu. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MALACOLOGIA, 5, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Instituto Butantan/ Instituto de Biociências-USP. 2002. p.41.

## 2. EFEITOS DA TEMPERATURA SOBRE AS TAXAS DE FILTRAÇÃO DE *Limnoperna fortunei* (DUNKER, 1857) (BIVALVIA - MYTILIDAE) EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS.

### 2.1. RESUMO

As taxas de filtração de *Limnoperna fortunei*, um molusco bivalve invasor que vem causando problemas ambientais e econômicos na América do Sul, foram determinadas em condições experimentais, em diferentes temperaturas (10, 15, 20, 25, 28 e 30°C) e com dois tipos de alimentos distintos (Algamac-2000<sup>®</sup> e *Scenedesmus* sp.). Houve uma relação estatisticamente significativa entre temperatura e taxas de filtração no experimento que testou *Scenedesmus* sp. como alimento, entretanto, a mesma relação não se confirmou nos experimentos com Algamac, sugerindo que a relação entre taxas de filtração e temperatura depende do tamanho da partícula do alimento. As taxas de filtração quantificadas não apresentaram correlação significativa nem com o comprimento de concha nem com o índice de condição. Foram obtidos os maiores valores de filtração (724,9 mL/h) quantificados para um bivalve invasor até o presente momento. Esses resultados sugerem que os impactos decorrentes da atividade filtradora da espécie tendem a ser significativos, uma vez que não sofre grande influência do tamanho e da biomassa do animal e são potencializados pelas colônias que podem chegar a centena de milhares de indivíduos por metro quadrado.

### 2.2. ABSTRACT

The golden mussel (*Limnoperna fortunei*, Mollusca: Bivalvia) is an invasive species that has been causing considerable environmental and economic problems in South America. In the present study, filtration rates of *Limnoperna fortunei* were determined in the laboratory under different temperatures (10, 15, 20, 25, 28 and 30 °C) and two types of food (Algamac–2000<sup>®</sup> and the chlorophycean alga *Scenedesmus* sp.). There was a statistically significant relationship between temperature and filtration rates in the experiment using *Scenedesmus* sp., regardless of temperature. However, this pattern was absent in the experiment using Algamac, suggesting that the relationship between filtration rates and temperature might depend on the size of the filtered particles. In addition, there was no correlation between filtration rates and either shell size or condition index (the relationship between the weight and the length of a mussel). The filtration rate measured in the present study (724.94 mL/h) is one of the highest rates recorded among invasive bivalves to date. Given that colonies of the golden mussel can reach hundreds of thousands of individuals per square meter, such filtration levels could severely impact freshwater environments in its introduced range.

### 2.3. INTRODUÇÃO

*Limnoperna fortunei* (mexilhão dourado) é um molusco bivalve nativo do sudeste da China, que vem expandindo seus limites de distribuição através da invasão de novas regiões. O mecanismo principal de invasões se dá através do transporte de larvas por água de lastro de navios, a partir de portos asiáticos. Foi essa a possível via de aparecimento do mexilhão dourado no continente sul-americano, por volta de 1991 (Darrigran & Pastorino, 1995), no estuário do rio Prata



(Argentina). Desde então este molusco vem colonizando novas áreas através dos grandes rios da região, já tendo invadido o rio Paraguai em toda sua extensão (1718 km), alcançando os estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo e Paraná (Oliveira *et al.*, 2004) por outros corpos hídricos do sistema.

Sua fixação, através de bisso, e sua capacidade de formar extensos aglomerados, chegando a colônias de mais de 100.000 indivíduos/m<sup>2</sup> (Cataldo *et al.*, 2002), fazem dessa uma espécie com grande potencial de causar impactos ambientais e econômicos negativos. Os impactos econômicos decorrentes da presença de *Limnoperna fortunei* se relacionam com a obstrução de encanamentos e tubulações de plantas industriais, de distribuição de água e estruturas de hidrelétricas, como sistemas de resfriamento. Os impactos ambientais mais recorrentes são alterações significativas na ictiofauna (Montaldo *et al.*, 1999), na composição do bentos (Darrigran *et al.*, 1998) e na dinâmica de nutrientes e contaminantes (Porta, 2001). Pelo seu hábito alimentar filtrador, *L. fortunei*, em grandes aglomerados, pode alterar substancialmente a dinâmica trófica do ecossistema aquático, através da filtração do material em suspensão (seston) e pela deposição desse material e de fezes e pseudofezes (Lei *et al.*, 1996). Dois estudos recentes analisaram o hábito filtrador de *L. fortunei* e seus impactos sobre o ecossistema: Sylvester *et al.* (2005), que verificaram a influência da temperatura sobre as taxas de filtração da espécie e Von Rückert *et al.* (2004), que analisaram o comportamento de *L. fortunei* na utilização de espécies de cianobactérias como alimento. Nos experimentos de ambos os trabalhos foram utilizados mexilhões coletados no rio Paraná (reservatório de Itaipu).

Nos grandes aglomerados formados pela incrustação de *L. fortunei*, há indivíduos das mais variadas classes de tamanho. Em determinadas épocas do ano, mais de 70% de indivíduos que formam a colônia podem ser menores que 2 mm (Boltovskoy & Cataldo, 1999).

Apesar de todos esses impactos sobre o ambiente, poucos dados são disponíveis a respeito da bioecologia da espécie na América do Sul. Como vários desses impactos advêm do hábito filtrador da espécie, é imprescindível maior conhecimento sobre a dinâmica de sua alimentação. O presente trabalho tem por objetivo fornecer estimativas sobre o efeito da temperatura e dos índices alométricos sobre a taxa de filtração de *Limnoperna fortunei* em condições laboratoriais.

## 2.4. MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho foram testados dois tipos de alimentos: um comercial, largamente utilizado em cultivos de organismos aquáticos e outro obtido pelo cultivo de algas do gênero *Scenedesmus* sp.

### COLETAS E MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS EM LABORATÓRIO

Os animais foram coletados em várias épocas (desde junho de 2003 até outubro de 2005). A coleta era feita manualmente, retirando os indivíduos fixados nas estruturas de captação de água ou plataformas do reservatório de Itaipu, Foz do Iguaçu, PR. Os mexilhões eram então transportados em caixa térmica com gelo até o Laboratório do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), em Curitiba (PR), onde foram mantidos em aquários (130 l) em água desclorada, com filtro, temperatura (20° C) e pH (7,4) controlados, com iluminação 12h claro: 12 h escuro, sobre grades plásticas.

Sua alimentação era composta por três porções diárias de uma solução de algas *Chlorella* sp. (Chlorophyceae-Chlorococcales) e *Spirulina* sp (Cyanobacteriae-Oscillatoriales) desidratadas e dissolvidas em água desclorada (um grama de cada) e cultura de *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae - Chlorococcales).

### EXPERIMENTOS COM ALGAMAC-2000® (ALIMENTO COMERCIAL, COMPOSTO POR CÉLULAS DESIDRATADAS DA MICROALGA *Schizochytrium* SP. (THRAUSTOCHYTRIACEAE).

Antes do início de cada experimento, os animais eram retirados do aquário de manutenção, medidos com paquímetro digital em seu maior comprimento e colocados em frascos numerados, contendo água filtrada e desclorada. A seguir, os frascos eram levados a uma estufa tipo incubadora, com temperatura e fotoperíodo (12h claro: 12h escuro) controlados, com aeração constante, fornecida através de mangueiras de silicone com pedras porosas na ponta, onde permaneciam por 24 horas sem receber alimento. Cada bateria constava de vinte frascos, com dois mexilhões cada, e cinco frascos-controle, sem animais (Figura 2-1)



Figura 2-1. Baterias de testes de avaliação de taxa de filtração. Frascos com aeração dentro de incubadora.

Igual quantidade de frascos, com 450 mL de água filtrada e desclorada, era colocada na incubadora, simultaneamente ao processo de aclimatação dos animais, para que estivessem nas mesmas condições de temperatura no momento da transferência dos mexilhões. No dia seguinte, eram adicionados a esses frascos 50 mL de solução-estoque de alimento. De todos os 25 frascos eram retiradas alíquotas para aferição da concentração inicial de células da alga alimento. A seguir, os animais eram transferidos para os frascos numerados, que retornavam imediatamente à incubadora.

As soluções de Algamac-2000® eram preparadas com a dissolução da alga em água filtrada e desclorada, de modo que a solução de alimento dos frascos onde eram testados os mexilhões atingisse a concentração inicial aproximada de 0,1 g/l.

As alíquotas para verificação das concentrações de algas nos frascos eram retiradas depois de uma, duas, três, seis e 24 horas de contato dos animais com o alimento, sendo então analisadas em espectrofotômetro digital (Spectronic Genesis 20 ®), a 640 nm (Aldridge *et al.*, 1995). Os valores de transmitância quantificados em cada leitura eram transformados em concentração de alimentos (grama por mililitro), através do uso de retas-padrão, estabelecidas para cada experimento. A escolha da faixa espectral de leitura e do próprio método por espectrofotometria foi feita através de testes preliminares, quando diversos comprimentos de onda foram testados.

## EXPERIMENTOS COM *Scenedesmus* SP. (CHLOROPHYCEAE - CHLOROCOCCALES)

### Obtenção da cultura

As algas utilizadas nessa série de experimentos foram obtidas através de coleta de água do reservatório de Itaipu (Foz do Iguaçu-PR). Essa água foi colocada em recipientes plásticos de 20 litros, com aeração forte, iluminação constante e temperatura controlada (22°C), na qual foi adicionado meio de cultura (meio de Conway – Barbieri & Ostrensky, 2003). Depois do crescimento das algas (cerca de 7 dias), esse volume era transferido para recipientes maiores (100 l), com água filtrada e desclorada, aeração forte e iluminação natural, em uma estufa. Nesse recipiente maior eram adicionados macrofertilizantes (uréia e superfosfato triplo). Antes de utilizadas no experimento, ou mesmo para a alimentação rotineira, a cultura de algas era passada por filtro (5 µm de abertura de malha), no qual as algas ficavam retidas. Esse filtro era “lavado” em água desclorada e a solução obtida era utilizada na alimentação dos mexilhões. Esse processo era feito para eliminar os resíduos nitrogenados resultantes do meio de cultura.

### Taxa de filtração

O desenho experimental seguiu o mesmo modelo dos experimentos realizados com *Algamac-2000*<sup>®</sup>.

As alíquotas eram retiradas depois de uma, duas e três horas de contato dos animais com o alimento, sendo também analisadas em espectrofotômetro digital (Spectronic Genesis 20<sup>®</sup>), a 720 nm, comprimento de onda mais recomendado para algas verdes (Aldridge *et al.*, 1995).

Os valores de transmitância da solução contendo o alimento eram transformados em concentração (número de células por mililitro), através do uso de retas-padrão. As concentrações iniciais das soluções-estoque dessas algas eram obtidas através da contagem das células, com auxílio de uma câmara de Neubauer (hemocitômetro), e variaram entre  $30 \times 10^4$  e  $70 \times 10^4$  células/mL.

### ÍNDICE DE CONDIÇÃO:

O Índice de condição é uma indicação do estado fisiológico do bivalve e é diretamente proporcional à energia armazenada. Assim sendo, é bastante utilizado para caracterizar a higidez ou, em outras palavras, para resumir a atividade

fisiológica do animal sob determinadas condições ambientais (Beninger & Lucas, 1984).

Para cálculo do índice de condição, ao término do experimento, os animais eram retirados da concha, através da secção de seus músculos adutores, colocados em recipientes de papel alumínio previamente pesados e numerados e levados à estufa por 14 horas a 60° C. Depois de secos, os animais sem a concha eram pesados em balança digital e os valores utilizados para determinação dos índices de condição.

O índice de condição dos moluscos é uma relação entre seu peso e comprimento. No presente estudo, o índice utilizado foi baseado no índice de Fulton (Mgaya & Mercer, 1995), cuja equação é

$$IC = \frac{\text{peso seco (g)} \times 10^6}{\text{comprimento(mm)}}$$

#### CÁLCULO DA TAXA DE FILTRAÇÃO:

O método utilizado, chamado de indireto por Riisgard (2001), dentre os vários existentes para medições de taxa de filtração por bivalves, é considerado dos mais confiáveis. Além disso, é o de desenho experimental mais simples (para revisão desses métodos, consultar Riisgard, op. cit). Uma das desvantagens do método é o fato da concentração de alimento tender a diminuir naturalmente com o passar do tempo, em função da sua sedimentação. Para evitar essa interferência nos resultados, foram utilizados os frascos-controles com a mesma solução testada, porém sem a presença dos mexilhões.

Uma vez obtidos os valores de concentração de alimentos, foi utilizada a fórmula de Coughlan (1969) para calcular a taxa de filtração:

$VF = \frac{V}{nt} \cdot [(\ln \text{conc. I} - \ln \text{conc.f.}) - (\ln C'I - \ln C'f)]$ , onde:

VF= taxa de remoção individual (vol/ind/h) ou mL/h

V= volume do frasco (mL)

N= número de indivíduos em cada frasco

T = tempo de duração do teste

$(\ln \text{conc. I} - \ln \text{conc.f.}) = \text{logaritmo neperiano das concentrações inicial e final dos frascos com mexilhão}$

$(\ln C' I - \ln C' f.) = \text{logaritmo neperiano das concentrações inicial e final dos frascos sem mexilhão (frascos-controle)}$

A taxa de filtração (“clearance rate”) é definida como o volume de água que passa através das brânquias do molusco, por unidade de tempo (Lei *et al.*, 1996) e, no presente trabalho é expressa com a unidade (mL/mexilhão/hora).

As temperaturas testadas foram: 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 28°C e 30°C, nos experimentos com Algamac-2000® e 15°C, 20°C e 25°C nos experimentos com *Scenedesmus sp.*

Após agrupamento, os dados relativos às taxas de filtração obtidas foram submetidos a testes de homogeneidade (Shapiro-Wilk, com 5% probabilidade). Como se constatou que os dados não se adequaram a uma curva normal de Gauss, as comparações entre os valores quantificados em cada experimento foi feita através de testes de medianas pelo método de Kruskal-Wallis e as análises de regressão através do coeficiente de correlação gama, ambos do programa Statistica 6.0, (StatSoft Inc, 2003) .

## **2.5. RESULTADOS:**

### **TAXA DE FILTRAÇÃO: ALGAMAC-2000®**

Os resultados analisados globalmente demonstraram haver pouca interferência da temperatura sobre a taxa de filtração, nos experimentos realizados (Figura 2-2). Existiu correlação entre temperatura e taxa de filtração, mas esta se apresentou com coeficiente de correlação baixo (gama=0,12;  $p < 0,05$ ). Nas temperaturas testadas não houve diferenças significativas entre as taxas de filtração (Tabela 2-1).

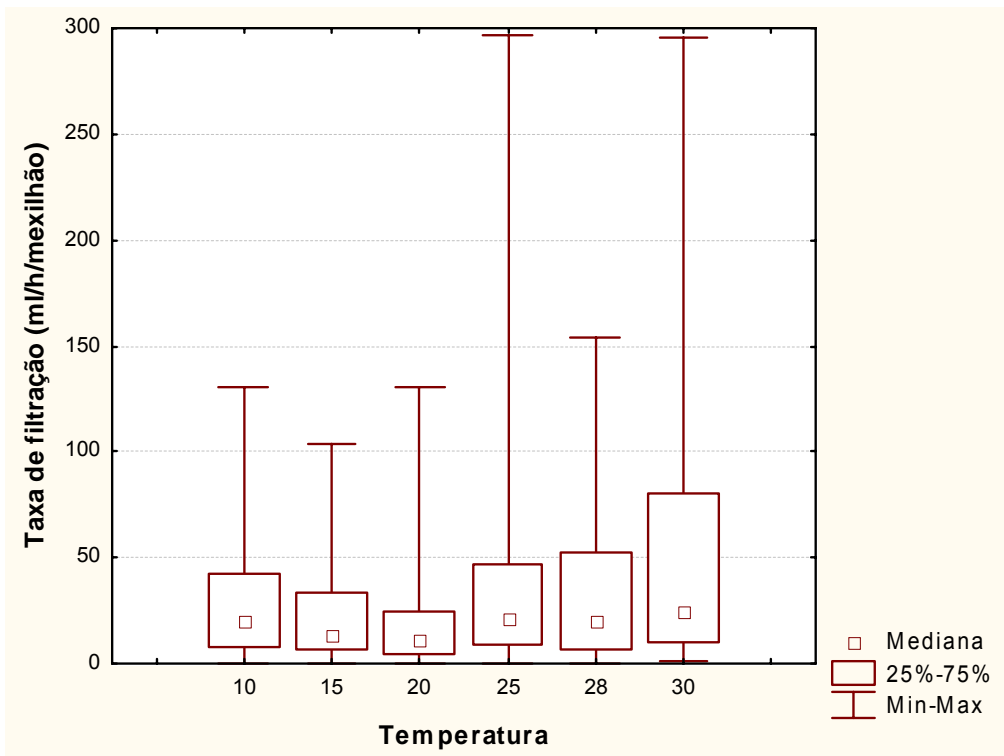


Figura 2-2. Taxa de filtração de Algamac-2000® por *Limnoperna fortunei* nas diferentes temperaturas ao longo de 24 horas de experimento

Os maiores valores nominais em relação às taxas de filtração foram observados nas temperaturas de 25°C (297 mL/h/mexilhão) e 30°C (295,7 mL/h/mexilhão). Ambos os valores foram quantificados na primeira hora de filtração (Figura 2-2)

Tabela 2-I. Estatística descritiva das taxas de filtração (mL/h/mexilhão) de Algamac-2000® por *L. fortunei* em diferentes temperaturas, ao longo de todo o teste (24 horas). As letras indicam os grupos homogêneos obtidos através de teste de Kruskal-Wallis ( $p > 0,05$ )

Temperatura	Mediana (min-máx)	Número de Observações
10	19,5 <sup>b,c</sup> (0,1-131)	116
15	13,4 <sup>a,b</sup> (0,3-104)	92
20	10,8 <sup>a</sup> (0,1-131)	135
25	20,4 <sup>c</sup> (0,3-297)	195
28	19,6 <sup>c</sup> (0,1-153,9)	107
30	24,5 <sup>c</sup> (0,6-295,7)	128

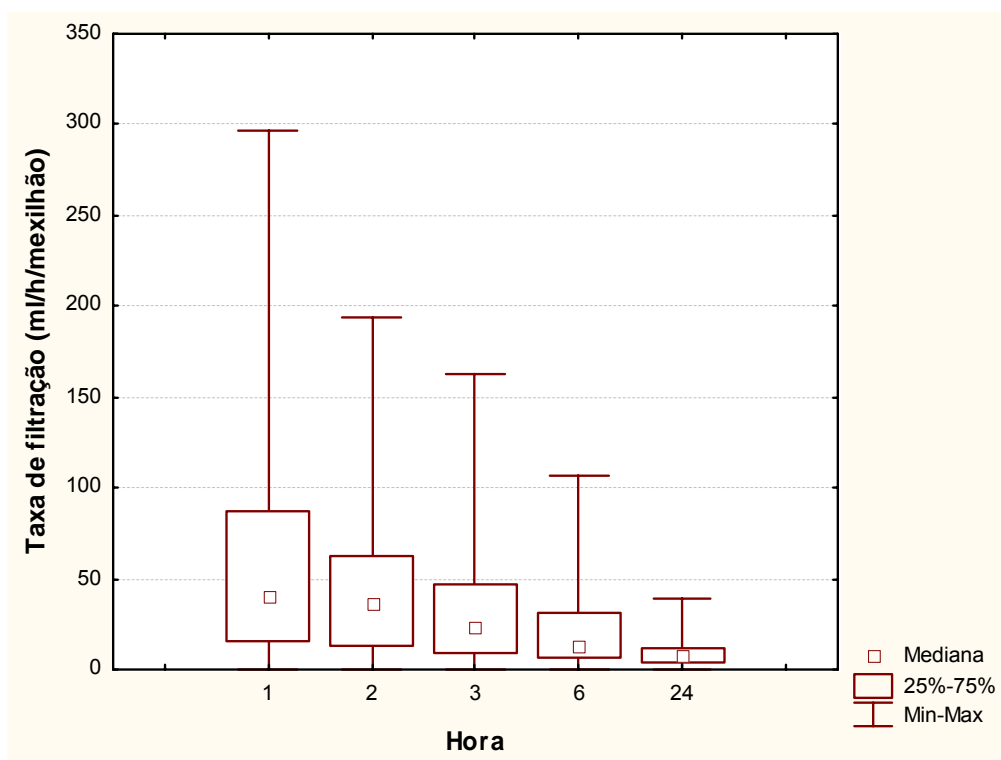


Figura 2-3. Taxa de filtração de Algamac-2000 ® por *Limnoperna fortunei* ao longo do tempo.

As taxas de filtração apresentaram uma relação inversa e negativa com o tempo dos experimentos (Figura 2-4). Ao serem analisados globalmente (todas as temperaturas na mesma hora), verifica-se que existiu correlação entre os dois parâmetros, apesar do coeficiente de correlação não ser muito alto (gama=0,46;  $p < 0,005$ ).

Na análise individual (por temperatura) os coeficientes de correlação foram variáveis entre as temperaturas, com o maior na temperatura de 15°C (gama= -0,69) e os menores em 25°C e 30°C (gama= -0,33). Os demais coeficientes foram: a 10°C, gama= -0,42; a 20°C, gama= -0,46 e a 28°C, gama = -0,53.

As taxas de filtração de *L. fortunei* não seguiram um padrão único. Os comportamentos semelhantes entre as taxas nas temperaturas testadas limitaram-se ao fato de que os valores (medianas) mais altos foram obtidos nas três primeiras horas, ou seja, apresentaram tendência decrescente ao longo dos experimentos (Figura 2-4).

Ainda que as taxas de filtração não tenham apresentado diferenças muito evidentes em relação à sua variação temporal, os valores máximos de filtração (mL/h/mexilhão) foram sempre observados na primeira hora após o início do



experimento, a não ser no experimento realizado a 10°C, onde esse valor máximo aconteceu na hora 3 (Figura 2-5).

Nas temperaturas mais elevadas (25°C, 28°C e 30°C), as medianas das taxas de filtração praticamente se mantiveram iguais nas horas 1, 2, 3 e 6. Na temperatura de 30°C, essa equivalência se manteve até a última hora do experimento (hora 24).

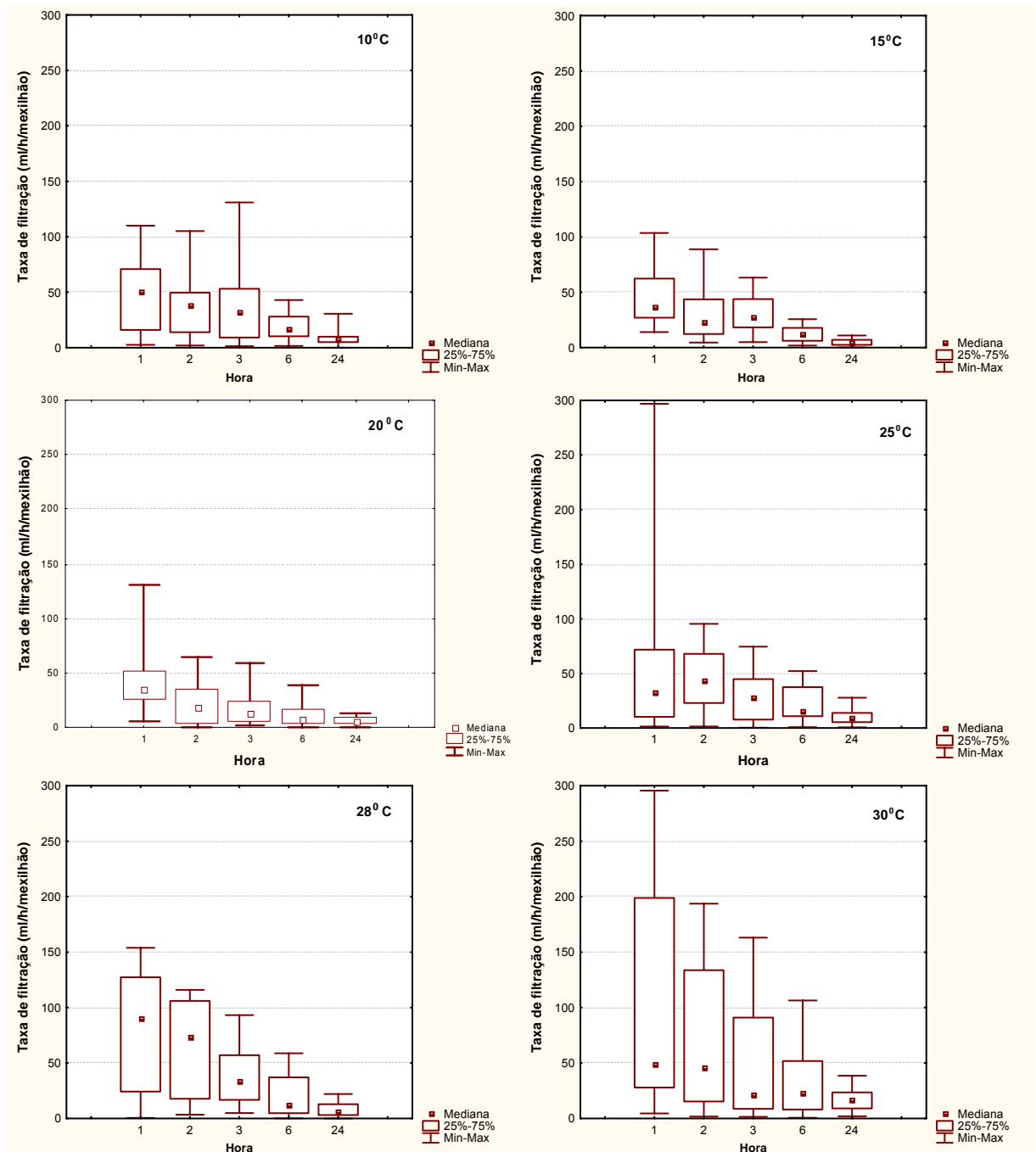


Figura 2-4. Taxa de filtração de Algamac-2000® por *Limnoperna fortunei* em diferentes temperaturas e ao longo do tempo

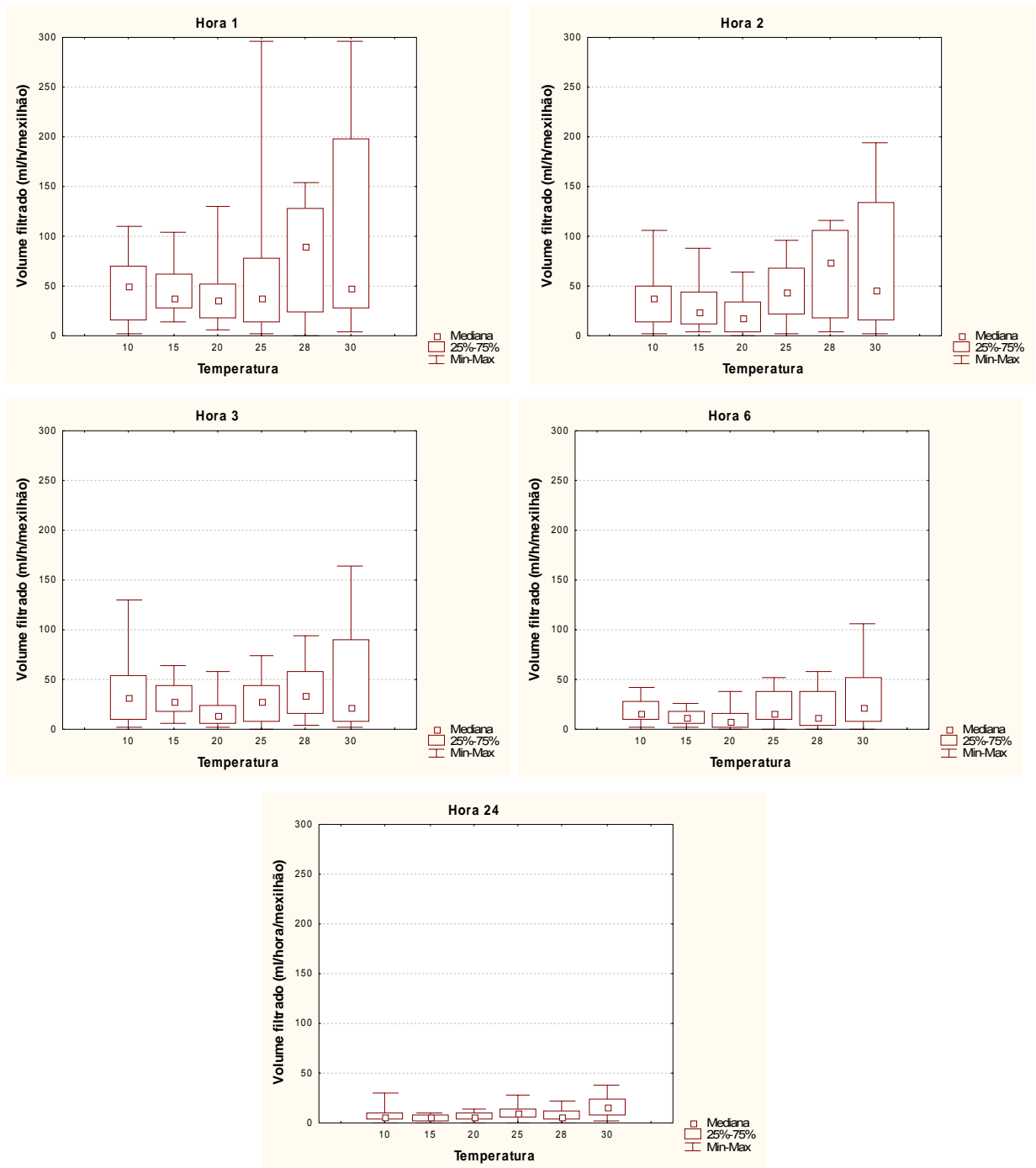


Figura 2-5. Comparação da taxa de filtração de Algamac-2000® (mL/h/mexilhão) nas diferentes horas e temperaturas

Tabela 2-II Comparação entre as taxas de filtração ao longo do tempo, nas diferentes temperaturas testadas. As barras unem as medianas (entre parênteses) cujas diferenças não foram significativas (Testes de Kruskal-Wallis  $p > 0,05$ ).

Temperatura	Hora do experimento (mediana - ml/h/mexilhão)				
	1	2	3	6	24
10	(50,8)	(39)	(32,8)	(17)	(6,9)
15	(37,3)	(27,6)	(23,1)	(12,5)	(5,2)
20	35,8)	(18,3)	(13,8)	(7,1)	(5,9)
25	43,5)	(32,8)	(27,5)	(15,8)	(9,6)
28	(90,7)	(73,5)	(33,1)	(21,4)	(6,6)
30	(48,2)	(46,4)	(21,3)	(22,9)	(17)

Na primeira hora de experimentação, as taxas de filtração não apresentaram diferenças significativas entre si, mas os valores máximos de filtração tenderam a ser diretamente proporcionais à temperatura. Na segunda hora, as diferenças entre as temperaturas testadas foram muito tênues, formando dois grupos cujos resultados se sobrepuseram (Tabela 2-III). Nas horas 3 e 6, a taxa de filtração na

temperatura de 20°C se destacou das demais, apresentando as menores medianas. Na hora 24, as diferenças foram significativas apenas nas temperaturas 25 e 30°C.

Tabela 2-III: Síntese dos testes de Kruskal-Wallis entre as taxas de filtração de *L. fortunei* alimentados com Algamac-2000® em diferentes temperaturas e horas. As barras unem os valores cujas diferenças entre as medianas não foram significativas ( $p < 0,05$ )

Hora	Temperaturas
1	10 15 20 25 28 30
2	20 10 15 25 28 30
3	20 10 15 25 28 30
6	20 10 15 25 28 30
24	10 15 20 28 25 30

#### TAXA DE FILTRAÇÃO: *Scenedesmus* SP.:

As temperaturas testadas nos experimentos com *Scenedesmus* sp foram de 15°C, 20°C e 25°C porque durante a análise dos resultados obtidos com Algamac-2000® observou-se que as demais temperaturas (10°C, 28°C e 30°C) não demonstraram ser significantes para a diferença nas taxas de filtração.

Os experimentos realizados tendo *Scenedesmus* sp. como alimento apresentaram resultados bastante diferentes dos realizados com Algamac-2000®. Com *Scenedesmus* sp., não só a temperatura influenciou a taxa de filtração, como os valores foram muito superiores aos obtidos com os experimentos anteriores (Figura 2-4).

Contatou-se que as taxas de filtração foram estatisticamente semelhantes entre si somente nas temperaturas 15°C e 20°C, apresentando diferenças significativas na temperatura de 25°C (Tabela 2-IV)

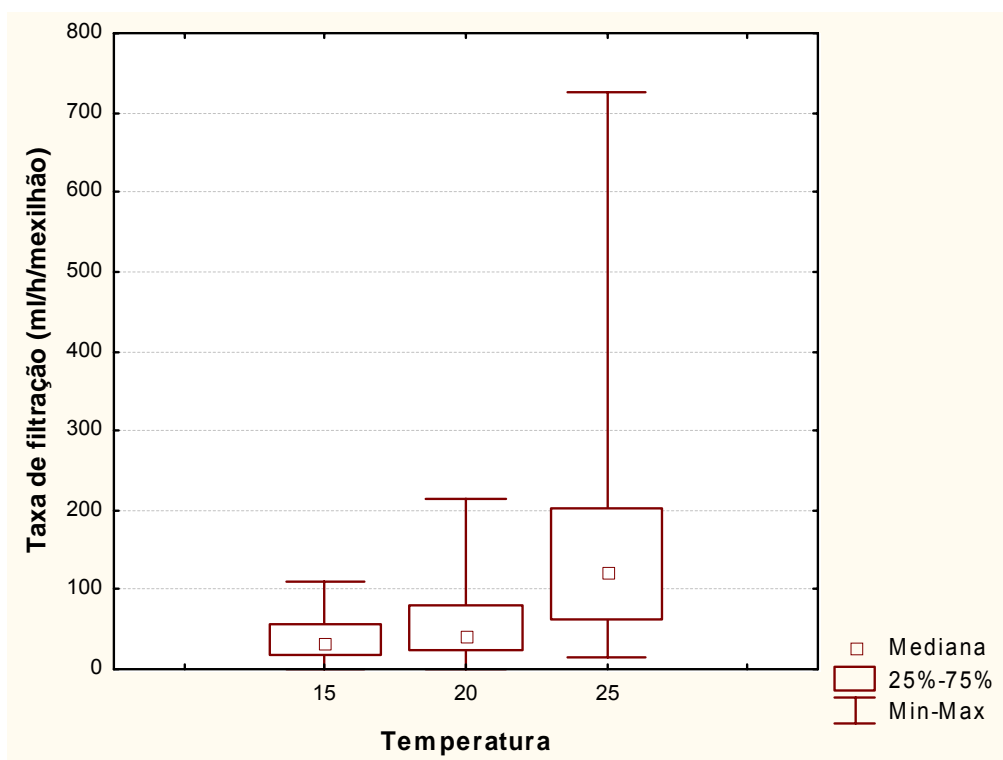


Figura 2-6. Taxa de filtração de *Scenedesmus* sp. por *L. fortunei* em diferentes temperaturas, ao longo de 3 horas de experimento

Os valores quantificados para as taxas de filtração obtidos nos experimentos com *Scenedesmus* sp. seguiram sempre o mesmo padrão (Figura 2-7), considerando os experimentos globalmente (com duração de três horas) ou analisando-se as taxas temporais de filtração de forma separada. As taxas de filtração a 15°C foram estatisticamente semelhantes às de 20°C e ambas foram significativamente inferiores às obtidas a 25 °C.

Tabela 2-IV. Estatística descritiva das taxas de filtração (mL/h/mexilhão) de *Scenedesmus* sp. por *Limnoperna fortunei* em diferentes temperaturas, ao longo de todo o teste (3 horas). As letras indicam os grupos homogêneos obtidos através de teste de K-W ( $P < 0,05$ )

Temperatura (°C)	Mediana (min-máx)	Número de Observações
15	32,3 <sup>a</sup> (0,6 -111,6)	30
20	40,4 <sup>a</sup> (0,6-215,3)	47
25	123,6 <sup>b</sup> (13,8-725)	54

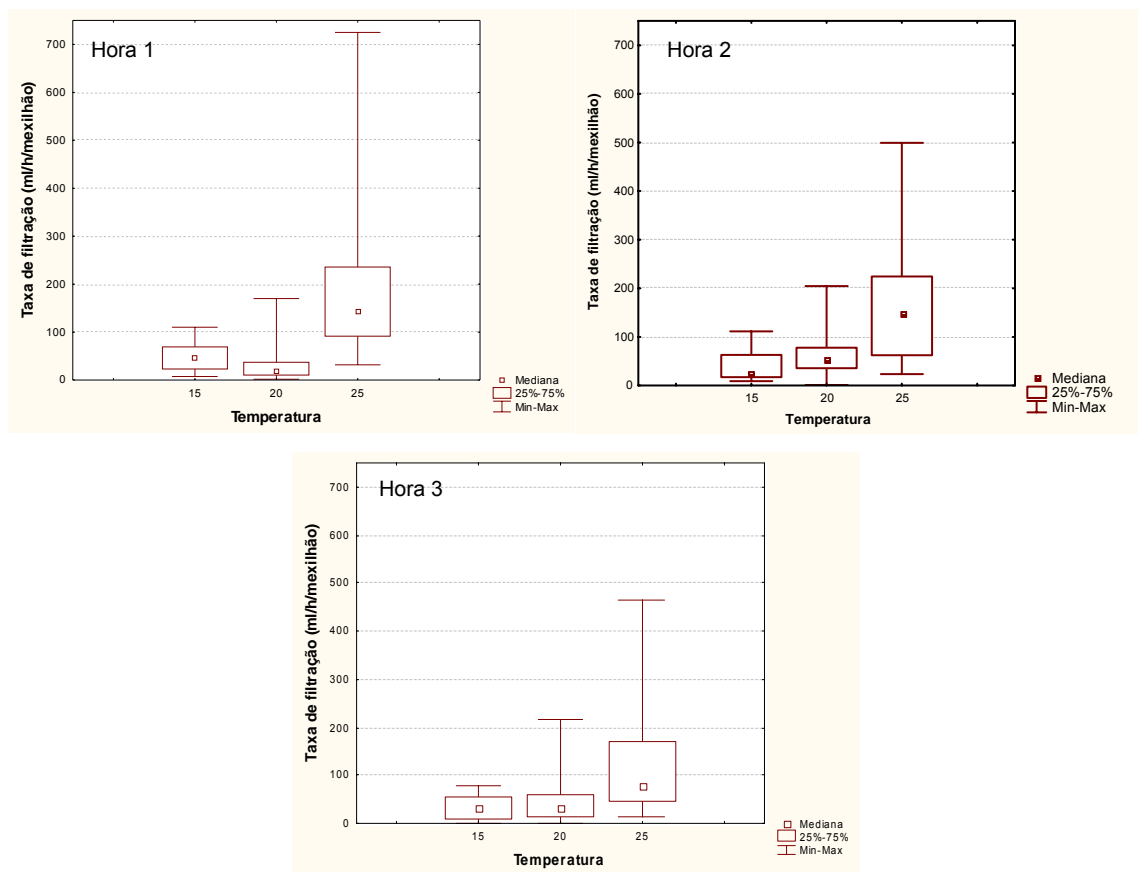


Figura 2-7. Taxa de filtração de *Scenedesmus* sp. por *L. fortunei* (mL/h/mexilhão) nas diferentes horas e temperaturas

### TAXA DE FILTRAÇÃO X ÍNDICES ALOMÉTRICOS (COMPRIMENTO DE CONCHA E ÍNDICE DE CONDIÇÃO):

O índice de condição só foi determinado para os mexilhões alimentados com *Scenedesmus* sp. porque a importância desse parâmetro só foi percebida após o término dos experimentos com Algamac-2000®.

Os comprimentos de concha não tiveram influência sobre a taxa de filtração de *L. fortunei*, nem nos experimentos com Algamac-2000® e nem com *Scenedesmus* sp (Figura 2-8), assim como sobre o índice de condição nos experimentos com *Scenedesmus* sp. (Figura 2-9).

A correlação gama obtida foi significativa ( $p < 0,05$ ) na análise entre comprimento de concha (mm) e taxa de filtração nos experimentos com Algamac-2000® e na análise entre IC x e taxa de filtração nos experimentos com *Scenedesmus* sp. Na análise entre comprimento de concha (mm) e taxa de filtração nos experimentos com *Scenedesmus* sp a correlação não foi significativa ( $p > 0,05$ ). Porém, em todas as análises, os coeficientes de correlação foram bastante baixos

(gama= -0,09; gama= 0,12; e gama= 0,06, respectivamente), o que permite afirmar que a taxa de filtração de *L. fortunei* não foi afetada pelos índices alométricos.

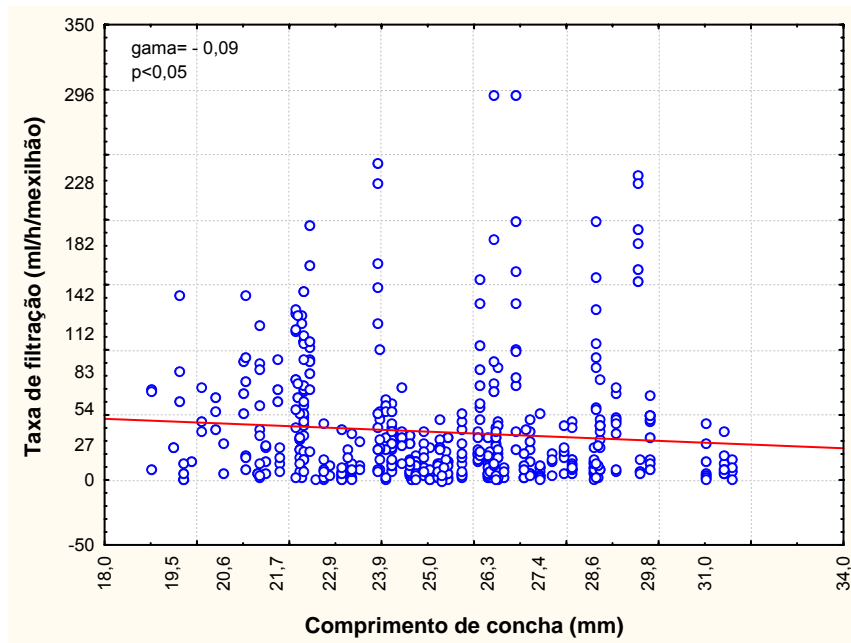


Figura 2-8. Correlação entre comprimento de concha (mm) e taxa de filtração de *L. fortunei* (Algamac-2000®)

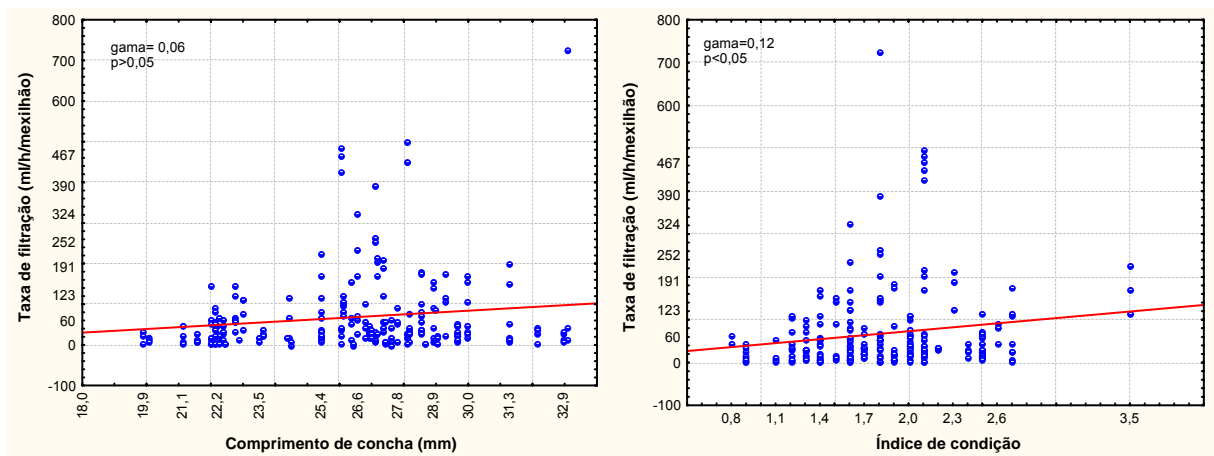


Figura 2-9. Correlação entre comprimento de concha (mm) e índice de condição (IC) e taxa de filtração de *L. fortunei* (*Scenedesmus* sp.)

## TIPO DE ALIMENTO X TAXA DE FILTRAÇÃO:

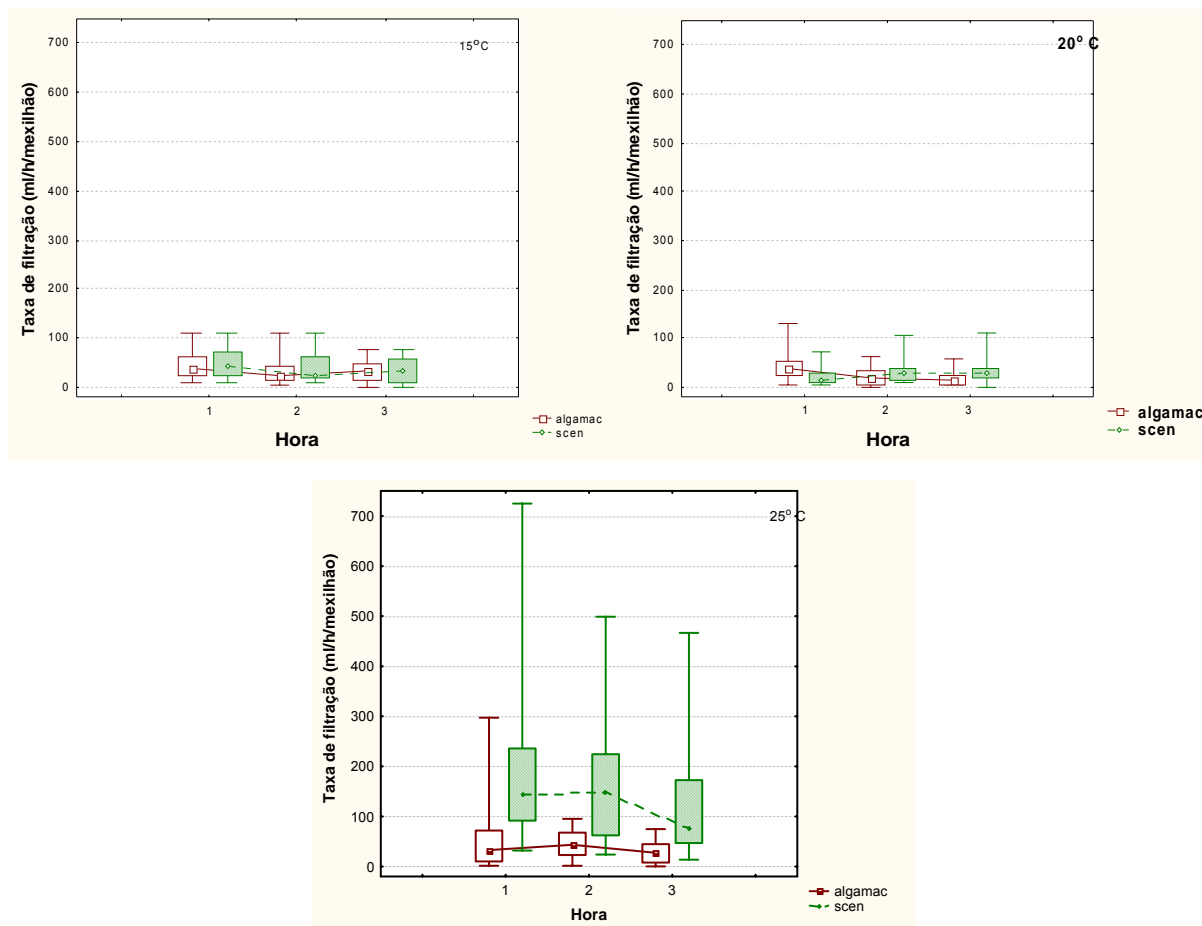


Figura 2-10. Taxas de filtração nos alimentos testados (Algamac-2000® e *Scenedesmus* sp)

As taxas de filtração quantificadas com os dois tipos de alimento testados não apresentaram diferenças entre si a 15°C. Já a 20°C foram estatisticamente semelhantes apenas na hora 2 (sendo que na hora 1 os valores obtidos com Algamac-2000® foram superiores aos dos experimentos com *Scenedesmus* sp. e na hora 3 aconteceu o inverso). A 25 °C, as taxas de filtração para os dois alimentos testados foram diferentes entre si em todas as horas avaliadas, com os valores de *Scenedesmus* sp sendo bastante superiores aos obtidos com Algamac-2000®. Neste último experimento (25 °C), foram obtidos os valores de taxa de filtração mais altos de todos os realizados nesse trabalho (724,94 mL/h/mexilhão - hora 1 ; 498,98 mL/h/mexilhão – hora 2 e 466,66 mL/h/mexilhão – hora 3) (Figura 2-10).



## 2.6. DISCUSSÃO:

### TAXA DE FILTRAÇÃO

Houve uma tendência de declínio das taxas de filtração de *L. fortunei* ao longo do tempo. Essa tendência pode ser devida a dois fatores: à saciedade do mexilhão ou à concentração do alimento disponível, esta última parecendo a hipótese mais aceitável. Segundo Higgins (1980) e Horgan & Mills (1997), quanto menor a quantidade de alimento disponível, menor a atividade de filtração. Essa seria uma estratégia de economia ou otimização da energia despendida com a atividade de filtração, que aumenta assintoticamente com a concentração de partículas alimentares disponíveis (Savina & Pouvreau, 2004). Sendo assim, ainda que essas alterações na taxa de filtração se dêem apenas quando há baixas concentrações de alimento disponível, este seria um fato de grande relevância ecológica, uma vez que *L. fortunei* forma colônias de milhares de indivíduos, que podem causar a depleção do seston nos ambientes invadidos. De acordo com a tabela apresentada por Sylvester *et al.* (2005), no trabalho em que analisaram a taxa de filtração de *L. fortunei*, os valores máximos aqui quantificados foram também os mais altos já identificados para bivalves invasores (Tabela 2-V). Von Rückert *et al.* (2004) encontraram valores médios máximos de 133,75 mL/hora/mexilhão na filtração de cianobactérias por *L. fortunei*.

Tabela 2-V. Taxas de filtração de bivalves invasores (adaptado a partir de Sylvester *et al.*, 2005 e Von Rückert, 2004).

Espécie / temperatura testada	Autor (es)	Taxa máxima de filtração (mL/h/indivíduo)
<i>Corbicula</i> sp		
21-24 °C	Buttner & Heindinger (1981)	347
22 °C	Silverman <i>et al.</i> 1997	489,5
15 °C	Way <i>et al.</i> (1990)	567
<i>Dreissena polymorpha</i>		
22 °C	Berg <i>et al.</i> (1996)	40
22 °C	Berg <i>et al.</i> (1996)	125
8 - 22 °C	Diggins (2001)	170
13-17 °C	Reeders <i>et al.</i> (1989)	170
8-22 °C	Diggins (2001)	225
17 °C	Horgan & Mills (1997)	223
24 °C	Sprung (1995)	375
<i>Dreissena bugensis</i>		
8-22 °C	Diggins (2001)	200
8-22 °C	Diggins (2001)	310
<i>Limnoperna fortunei</i>		
23,5-24,5 °C	Von Rückert (2004)	133,75
15-25 °C	Sylvester <i>et al.</i> (2005)	350
10-30 °C (Algamac-2000®)	Presente trabalho	297
15-20 °C ( <i>Scenedesmus</i> sp)	Presente trabalho	725

As diferenças entre os valores obtidos nos três únicos trabalhos que até então analisaram as taxas de filtração de *L. fortunei* (Von Rückert *et al.*, 2004; Sylvester ., 2005 e o presente trabalho), devem-se, muito provavelmente a diferenças metodológicas. Os desenhos experimentais diferentes, assim como os tipos de alimento empregados (cianobactérias; *Chlorella* sp.; Algamac-2000® e *Scenedesmus* sp., respectivamente), além das faixas de temperatura testadas, podem ter sido a(s) causa(s) dessa variação. Nos experimentos de Von Rückert *et al.*(*op. cit*), os valores menores do que os encontrados pelo presente trabalho podem ter acontecido porque, ao final do período de filtração, os frascos onde estavam os mexilhões testados era agitado, de forma a causar nova mistura das pseudofezes. Deve-se salientar que cada um desses trabalhos tem um escopo diferente. Por outro lado, há concordância entre os autores de que a atividade filtradora de *L. fortunei* é passível de causar graves danos ao ecossistema invadido.

#### TAXA DE FILTRAÇÃO X TEMPERATURA:

No presente trabalho, a temperatura não apresentou influência marcante sobre as taxas de filtração, a não ser no experimento com *Scenedesmus* sp, em temperatura de 25°C, onde as taxas foram significativamente superiores às demais.

Por se tratar de uma espécie naturalmente euritérmica, já que em seu habitat de origem *L. fortunei* suporta temperaturas que variam entre 8 e 32°C (Ricciardi, 1996) é possível explicar a pequena influência que as diferentes temperaturas testadas tiveram sobre a taxa de filtração obtidas em laboratório.

A mesma conclusão foi obtida por Savina & Pouvreau (2004), que verificaram que, no intervalo testado (8 -18° C), a temperatura não teve efeito significativo sobre a atividade respiratória nem sobre as taxas de filtração de *Paphia rhomboïdes* e *Glycymeris glycymeris* . As autoras citam alguns trabalhos, com outras espécies de bivalves, que confirmam esses resultados, como o de Gouletquer *et al.*(1989) que afirmaram que a filtração de *Ruditapes philipinnarum* permaneceu constante em temperaturas entre 12 e 20°C e o de Defossez & Daguzan (1995), que não encontraram diferenças significativas nas taxas de filtração de *Tapes decussatus*, testando temperaturas entre 19 e 29° C. Savina & Pouvreau (*op. cit.*) justificam esses resultados pelo fato de que todas as espécies testadas, inclusive as que foram seu alvo de estudo são espécies euritérmicas, com uma larga distribuição.

Para que se estabeleçam e dominem um novo ambiente, as espécies invasoras devem possuir grande flexibilidade de adaptações fisiológicas. Reeders & bij de Vaate (1990), verificaram que a taxa de filtração de outro bivalve invasor, *Dreissena polymorpha*, foi indiferente às variações de temperatura entre 5 e 20°C e que em temperaturas mais baixas a atividade praticamente cessou.

Os mesmos autores, em 1992, analisando o processamento de material em suspensão poluído por *D. polymorpha*, concluíram que a temperatura teve um papel pouco determinante na taxa de filtração, e que a quantidade de material em suspensão teria maior influência sobre a atividade.

Fanslow et al (1995), verificando o impacto causado pela filtração da mesma espécie na baía de Saginaw (região dos Grandes Lagos), deduziram que os valores máximos de filtração são provavelmente relacionados com a temperatura, talvez não diretamente sobre a atividade em si mas por causar a diminuição no seston e isso, por sua vez, causa o aumento na taxa de filtração.

Aldridge et al (1995) encontraram relação inversa entre aumento de temperatura e taxas de filtração de *D. polymorpha*. Afirmaram que as taxas de filtração a 20 e 24°C não apresentaram diferenças entre si, assim como entre 28 e 30 °C, sendo que os valores mais altos foram detectados na temperatura de 24°C. Esses valores seriam coerentes com o local de origem dos mexilhões zebra utilizados no experimento, onde a temperatura máxima no verão alcança 24,5°C.

No único trabalho em que foram avaliadas as taxas de filtração de *Limnoperna fortunei* em relação à temperatura até o presente momento, Sylvester et al. (2005) testaram três temperaturas (15 °C, 20 °C e 25 °C). Os autores verificaram que, em valores absolutos (mL//mexilhão), o mais alto valor foi observado na menor temperatura (15° C).

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem supor que, no caso de *L. fortunei*, as taxas de filtração são independentes da temperatura da água. Isso pode significar que os impactos decorrentes das atividades alimentares permanecem relativamente constantes ao longo do ano.

## TAXA DE FILTRAÇÃO X ÍNDICES ALOMÉTRICOS

Os baixos índices de correlação entre taxa de filtração e os índices alométricos (comprimento do corpo e índice de condição) sugerem que mexilhões dourados que pertençam ao intervalo de classe testado (>15 mm),

independentemente de seus comprimentos, podem ocasionar o mesmo impacto com sua filtração. Estes resultados obtidos discordam da grande maioria dos trabalhos que relacionam o tamanho (em comprimento de concha) ou a biomassa (peso fresco ou seco) com a taxa de filtração em *Dreissena polymorpha* (mexilhão zebra). Bunt *et al.* (1993) afirmaram que as taxas de filtração de juvenis (<7 mm) dessa espécie são uma função direta de seu comprimento, relatando que o impacto da filtração de indivíduos jovens, pela quantidade de indivíduos, pode ser significativo em um ecossistema.

Berg *et al.* (1996), avaliando diferentes alimentos para dreissenídeos (*D. polymorpha* e *D. bugensis*), observaram que o tamanho do mexilhão pode ser determinante para a definição das taxas de filtração, porém, segundo eles, isso depende do tamanho da célula-alimento. Reeders & Bij de Vaate (1990) encontraram uma relação sigmóide entre esses dois fatores. Os mexilhões zebras de maior tamanho teriam menor volume de filtração do que os indivíduos de menor tamanho. Explicaram que, provavelmente, isto se devesse a uma degeneração dos indivíduos mais velhos e de maior tamanho.

Em bivalves, a relação entre o tamanho e taxa de filtração é usualmente caracterizada por um coeficiente alométrico menor que 1,0, indicando que animais menores filtram mais que os de maior tamanho (Bougrier *et al.*, 1995). Entretanto, há evidências que o comprimento da concha nem sempre é um reflexo preciso da biomassa de um organismo. Vários fatores como estado reprodutivo do animal, densidade populacional e habitat têm demonstrado influenciar independentemente o aumento em peso (tecidos) e dimensões de concha.

Lei *et al.* (1996), estudando a dinâmica de filtração de *D. polymorpha*, obtiveram uma alta correlação ( $r^2 = 0,96$ ) entre área de brânquias e comprimento de concha. Portanto, seria esperado que quanto maior o comprimento de concha, maior a área ocupada pelas brânquias, aumentando a taxa de filtração pelo mexilhão. Apesar disso, comparando a taxa de filtração proporcionalmente à área ocupada pelas brânquias (volume por área) esses autores verificaram que a taxa de filtração de mexilhões zebra menores é proporcional à taxa de filtração por mexilhões maiores, ou seja, a relação volume por área seria um parâmetro mais influente sobre a filtração do que o comprimento de concha. Além de a filtração ser limitada pela área das brânquias, há indícios de que o desenvolvimento destas estruturas dependa das condições ambientais. Franz (1993) observou que bivalves da espécie

*Geukensia demissus* que viviam na zona intermareal superior apresentavam brânquias mais desenvolvidas do que aqueles que viviam na zona inferior. A zona intermareal superior apresenta menores períodos de submersão e o autor sugere que isso determine brânquias maiores, com conseqüente aumento nos volumes filtrados. Bivalves que habitam locais com concentração de sólidos em suspensão relativamente baixa desenvolvem, proporcionalmente, brânquias maiores e, presumivelmente, maiores taxas de filtração (Payne *et al.*, 1995).

Segundo Sylvester *et al.* (2005), a associação entre a taxa de filtração de *L. fortunei* e a biomassa nas temperaturas testadas se apresentaram muito “frágeis” (termo utilizado pelos próprios autores). Apenas a 20° C essas variáveis tiveram correlação significativa ( $r^2=0,49$ ). Eles explicaram que esses resultados provavelmente aconteceram pelas diferenças entre os indivíduos e pelas condições experimentais. A metodologia utilizada pelos autores, por ser bastante diferente das usualmente aplicadas nesse tipo de análise (Riisgard, *op.cit.*) e o número amostral reduzido (variando entre 14 e 20 indivíduos testados em cada experimento), podem ter sido a causa dos resultados pouco consistentes obtidos pelos autores.

Os resultados obtidos no presente trabalho não indicaram a ocorrência de correlações significativas entre as taxas de filtração e o comprimento de concha (no experimento com Algamac®) dos animais, assim como entre as taxas de filtração e os índices de condição (no experimento com *Scenedesmus* sp.). Não é possível, contudo, justificar estes resultados apenas como diferenças individuais, uma vez que foi utilizado um número amostral bastante grande nos dois experimentos (773 indivíduos nos experimentos com Algamac® e 131 indivíduos nos experimentos com *Scenedesmus* sp.). A grande variação entre os valores obtidos pode ter acontecido por características intrínsecas da própria espécie e não por problemas metodológicos. Mesmo a relação quantificada entre comprimento de concha e o peso seco dos animais, que para *Dreissena polymorpha* e *D. bugensis* usualmente são extremamente elevadas (apresentando, respectivamente  $r^2= 0,97$  e  $r^2= 0,96$ , segundo estudos de Haag & Garton, 1992 e de Ross & Lima, 1994), apresentou, para *L. fortunei*, no presente trabalho, um índice de correlação ( $r^2$ ) que explicou somente 50% da variação observada entre tais variáveis.

## TAXA DE FILTRAÇÃO X TAMANHO DA PARTÍCULA:

As diferenças significativas entre as taxas de filtração quantificadas com os dois alimentos testados (Algamac-2000® e *Scenedesmus* sp.) podem ser explicadas pela diferença entre os tamanhos das respectivas partículas alimentares. Os dois alimentos são formados por algas coloniais, porém cada célula de *Schizochytrium* sp.(Algamac-2000®) pode ter 10 µm e pode formar agregados de muitas células, aumentando o tamanho final da partícula. Por outro lado, a espécie de *Scenedesmus*, utilizada nos experimentos, era formada por colônias de 4 e/ou 8 células (observação pessoal), em que cada célula tinha aproximadamente 5 µm. Assim, enquanto o tamanho máximo dos agregados de *Scenedesmus* era de 40 µm, os agregados de Algamac-2000® podiam superar 100 µm (observação pessoal).

O efeito do tamanho das partículas sobre a taxa de filtração de bivalves tem sido avaliado em diversos estudos (para uma ampla revisão, ver Ward & Shumway, 2004). Os dados disponíveis indicam que bivalves de água doce são mais efetivos em reter partículas pequenas do que os marinhos (Lei, 1996).

O tamanho de partículas capturadas por uma espécie pode ser adaptação da mesma ao alimento disponível no ambiente. Assim, essa seria uma característica espécie-específica e a eficiência da retenção dependeria também de outros fatores, como a morfologia dos cílios latero-frontais (Mohlenberg & Riisgård, (1978), citados por Ward & Shumway, 2004).

Baker *et al.* (1998) e Vanderploeg *et al.* (2001) observaram modificações na composição da comunidade fitoplanctônica depois da invasão do ambiente por *D. polymorpha*. Estes autores confirmaram a habilidade da espécie em escolher partículas de tamanhos mais adequados, sendo que as partículas rejeitadas voltavam à coluna d'água, na forma de pseudofeces não consolidadas. Como as condições vitais desses alimentos-vivos eram preservadas, eles poderiam continuar se desenvolvendo normalmente. Dessa forma, Vanderploeg *et al.* (2001) associaram as florações de *Microcystis aeruginosa*, uma cianobactéria tóxica para vários grupos animais, à atividade filtradora de *D. polymorpha* na baía de Saginaw (Grandes Lagos). A cianobactéria seria seletivamente rejeitada, o que provocaria seu retorno à coluna d'água, com conseqüente eutrofização do corpo hídrico, o que funcionaria principalmente em lagos rasos. Os resultados obtidos por Von Rückert *et al.* (2004), analisando as taxas de filtração em laboratório, utilizando cianobactérias potencialmente tóxicas, concordaram com essa afirmação e ressaltam que *L.fortunei*

é capaz de se alimentar desses organismos, apresentando um potencial de bioacumulação e transferência na cadeia trófica de cianotoxinas.

Essa aparente seletividade na filtração de partículas demonstrada por *L. fortunei* no presente trabalho pode ocasionar, portanto, a modificação na estrutura trófica do ambiente invadido, causando, por exemplo, a dominância de uma determinada espécie fitoplanctônica e a fuga ou até mesmo supressão de determinadas espécies do ecossistema invadido. Essa característica pode ter conseqüências bastante sérias, principalmente se levado em consideração que a seletividade se mostrou bastante significativa nos experimentos a 25° C, temperatura semelhante à média da região invadida (reservatório de Itaipu).

## **2.7. CONCLUSÕES:**

A influência da temperatura sobre as taxas de filtração de *L. fortunei* só foi significativa na temperatura de 25°C, no experimento com *Scenedesmus* sp. A reduzida influência desse parâmetro sobre as taxas de filtração pode estar relacionada com o hábito euritérmico da espécie.

As taxas de filtração não apresentaram correlação significativa com o índice de condição nem com o comprimento de concha, sugerindo que o volume filtrado pelo indivíduo independe de seu tamanho ou biomassa.

As diferenças nas taxas de filtração entre os alimentos testados sugerem que o tamanho de partícula teria tido mais influência do que a temperatura, sendo que os maiores valores de filtração (724,94 mL/h) registrados para um bivalve invasor até o presente momento foram obtidas no experimento com *Scenedesmus* sp como alimento em temperatura de 25°C, cuja partícula é menor que de Algamac-2000®.

Os potenciais impactos causados pela filtração de *L. fortunei* no ambiente invadido tendem, portanto, a ser significativos, já que: a) a espécie forma aglomerados de milhares de indivíduos por metro quadrado; b) que os volumes filtrados são bastantes elevados; c) que a taxa de filtração dos animais não sofre grandes variações devido à temperatura da água e não depende da biomassa dos indivíduos.

## 2.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldridge, D.W.; Payne, B.S.& Miller, A.C. Oxygen consumption, nitrogenous excretion, and filtration rates of *Dreissena polymorpha* at acclimation temperatures between 20 and 32°C. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** v.52. p.1761-1767. 1995.
- Baker, S.M.; Levinton, J.S; Kundziel, J. P. & Shumway, S.E. – Selective feeding and biodeposition by zebra mussel and their relation to changes in phytoplankton composition and seston load. **Journal of Shellfish Research** v.17 n.4. p.1207-1213. 1998.
- Barbieri, R.C. & Ostrensky, A. **Camarões Marinhos. Volume I Maturação, reprodução e larvicultura**. Aprenda Fácil Editora. Viçosa, MG, Brasil. 225 p. 2001.
- Beninger, P.G. & Lucas, A. Seasonal variations in condition, reproductive activity and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussates* L. (Jeffrey) and *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v. 79. p19-37. 1984.
- Berg, D.J.; Fisher, S.W. & Landrum, P.F. – Clearance and processing of algal particles by zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). **Journal of Great Lakes Research** v. 22 n.3. p. 779-788. 1996.
- Boltovskoy, D. & Cataldo, D. Population Dynamics of *Limnoperna fortunei*, an Invasive fouling mollusc, in the Lower Parana River (Argentina). **Biofouling** v.14.n.3.p.255-263. 1999.
- Bougrier, S., Geairon, P., Deslous-Paoli, P. M. ; Bacher, C.& Jonquière, G. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg) **Aquaculture** v.134. n.1-2.p.143-15. 1995.
- Bunt, C.M.; MacIsaac, H.J. & Sprung, W.G. Pumping rates and projected filtering impacts of juvenile zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) in Western Lake Erie. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** v.50. p.1017-1022. 1993.
- Cataldo, D.; Boltovskoy, D. Marini, V & Correa, N. - Limitantes de *Limnoperna fortunei* en la cuenca del Plata: la predación por peces. Apresentado na: "Tercera jornada sobre conservación de la fauna íctica en el río Uruguay" Organizada por la Comisión Administradora de Río Uruguay. Abril de 2002, Paysandu Uruguay. 2002
- Coughlan, J. The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions **Marine Biology** v.2 . p. 356-358. 1969.
- Darrigran, G. and G. Pastorino. The recent introduction of a freshwater Asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South America. **The Veliger** v. 38. p.171-175. 1995.



- Darrigran, G., Martin, S.M., Gullo, B., and Armendariz, L. Macroinvertebrates associated with *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in Rio de la Plata, Argentina. **Hydrobiologia** v.367. p. 223-230. 1998.
- Fanslow, D. L. Nalepa, T F. & Lang, G. A. Filtration Rates of the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) on Natural Seston from Saginaw Bay, Lake Huron. **Journal of Great Lakes Research** v.21 n.4. p.489-500. 1995.
- Franz, D. Allometry of shell and body weight in relation to shore level in the intertidal bivalve *Geukensia demissa* (Bivalvia: Mytilidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v.174 n.2 .p.193-207. 1993.
- Haag, W. R. & Garton, D Synchronous spawning in a recently established. **Hydrobiologia** v.234.n.2.p. 103-110. 1992.
- Higgins, P.J. Effects of food availability on the valve movements and feeding behavior of juvenile *Crassostrea virginica* (Gmelin). II Feeding rates and behavior. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v.46. p. 17-27. 1980.
- Horgan, M.J. & Mills, E.L. Clearance rates and filtering activity of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*): implications for freshwater lakes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v.54. p.249 -255. 1997.
- Laing, I. Filtration of king scallops (*Pecten maximus*). **Aquaculture** v.240. p.369-384. 2004
- Lei, J. Payne, B.S. & Wang, S.Y. Filtration dynamics of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v.53. p. 29 -37. 1996.
- Masilamoni J. G. Nandakumar, K.; Jesudoss K.S.; Azariah, J, Satapathy, K.K. & K. V. K. Nair. Influence of temperature on the physiological responses of the bivalve *Brachidontes striatulus*. **Marine Environmental Research** v.53: 51-63.2002
- Mgaya, Y.D. & Mercer, J.P. The effects of size grading and stocking density on growth performance of juvenile abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus. **Aquaculture** v.136. p.297-312. 1995
- Montaldo, L, Oliveros O. B., Ezcurra de Drago, I. & Demonte, L.D. Peces del rio Parana Medio predadores de una especie invasora: *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae). **Revista de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral** v.3.p. 85-101.1999
- Oliveira, M.D.; Pellegrin, L.A.; Barreto, R.R. e Xavier, I.G. - Área de ocorrência do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) na Bacia do Alto Paraguai entre os anos de 1998 e 2004. **Embrapa Documentos** 64. 19 p. 2004
- Payne, B.S.; Lei, J.; Miller, A. C. & Hubertz, E.D. – Adaptive variation in palp and gill size of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and Asian clam (*Corbicula fluminea*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v.52: 1130-1134. 1995.

Porta,A. Biomarkers of contamination in coastal aquatic organisms of Rio de la Plata (Argentina). **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana** v.35.p. 261-271. 2001.

Reeders, H & bij de Vaate, A. Bioprocessing of polluted suspended matter from the water column by the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) Pallas **Hydrobiologia** v.239. p.53-63. 1992.

Reeders,H & bij de Vaate, A.. Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*): A New Perspective For Water Quality Management. **Hydrobiologia** v.200/201.p.437-450. 1990.

Ricciardi, A. *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): The Next Macrofouling Mussel to Invade North America? Abstract from “The Sixth International Zebra Mussel and Other Aquatic Nuisance Species Conference”, McGill University, Dearborn, Michigan, March 1996.

Riisgard,H.U. On measurement of filtration rates in bivalves – the stony road to reliable data: review and interpretation. **Marine Ecology Progress Series** v.211.p. 275-291. 2001.

Ross,T & Lima,G. 1994 Measures of allometric growth: The relationship of shell length, shell height and volume to ash-free dry weight in the Zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas) and the quagga mussel, *Dreissena bugensis* (Andrusov) Proceedings of The Fourth International Zebra Mussel Conference, Madison,Wisconsin, March 1994 <http://www.sgnis.org/publicat/105.htm> (acesso em 23/06/2005)

Savina, M. & Pouvreau ,S. A comparative ecophysiological study of two infaunal filter-feeding bivalves: *Paphia rhomboïdes* and *Glycymeris glycymeris*. **Aquaculture** v. 239 n.1-4.p.289-306. 2004.

Statsoft, Inc 2001 - STATISTICA (data analysis software system) versão 6 – [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)

Sylvester, F.; Dorado, J.; Boltovskoy, D. Juarez, A & Cataldo, D. – Filtration rates of the invasive pest bivalve *Limnoperna fortunei* as a function of size and temperature. **Hydrobiologia** v.534. p. 71-80. 2005.

Vanderploeg, H. A.; Liebig, J.A. ;Carmichael, W. W. ;Agy, M. A.;Johengen, T.H. Fahnenstiel, G.L. & Nalepa T. F. -Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v.58. p.1208–1221. 2001.

Von Rückert, G; Campos, M.C.S. e Rolla, M.E. - Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de Cyanobacteria **Acta Scientiarum Biological Sciences** v.26 .n.4. p.421-429. 2004.

Ward, J. E. & Shumway , S. E. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension and deposit-feeding bivalves . **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v.300 .n.1-2.p.83-130. 2004.

### **3. EFEITOS DA TEMPERATURA SOBRE O CRESCIMENTO E MATURAÇÃO GONADAL DO MEXILHÃO DOURADO (*Limnoperna fortunei*) EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS**

#### **3.1. RESUMO**

Experimentos em laboratório verificaram os efeitos da temperatura sobre o crescimento e maturação gonadal de *Limnoperna fortunei*, molusco asiático que vem se tornando um invasor em diversos ambientes da América do Sul. A espécie apresentou, nos experimentos realizados, uma série de características que explicariam a sua elevada capacidade de invasão de ambientes aquáticos tropicais como: maiores taxas de crescimento e os maiores ganhos em massa obtidos na temperatura mais elevada (25°C); crescimento rápido, alcançando até 144% ao final de seis meses de experimento; aumento das taxas de sobrevivência com o aumento das classes de tamanho, reduzindo a suscetibilidade às principais causas de mortalidade nas classes de menor tamanho e maturação precoce a partir de uma determinada classe de tamanho (no presente experimento, a partir de 10 mm de comprimento de concha).

#### **3.2. ABSTRACT**

Laboratory assays were carried out to assess the effect of temperature on growth and gonadal maturation of *Limnoperna fortunei*, an Asiatic mussel that has been introduced to several regions in South America. According to these experiments, this species shows several characteristics that explain its high capacity for invasion in tropical aquatic environments, namely: high growth and mass increase rates in highest tested temperature (25°C); a rapid growth of up to 144% at the end of experiments (six months); increasing survival rates with age, decreasing sensitivity to the principal causes of mortality in the lowest age class and premature maturation starting from a given size class (in this experiment, from 10 mm in shell length).

#### **3.3. INTRODUÇÃO**

O mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) é um molusco bivalve, originário do sudeste asiático e vem se estabelecendo como organismo invasor (Darrigran & Pastorino, 1995) em diversas partes do mundo, inclusive na América do Sul, onde sua presença foi reportada pela primeira vez em 1991, na Bacia do Rio de la Plata, Argentina (Pastorino et al., 1993). Do estuário da Bacia do Prata, *L. fortunei* expandiu sua distribuição rapidamente para as porções superiores da Bacia do Rio Paraná, invadindo principalmente os grandes rios, numa velocidade de cerca de 240 km/ano (Darrigran, 2002), atingindo o Paraguai e Brasil. Este organismo apresenta alta resistência a variações ambientais e suporta viver em densidades muito elevadas, de até 150.000 indivíduos/m<sup>2</sup> (Darrigran et al., 1998; Boltovskoy and Cataldo, 1999; Kimura and Sekiguchi, 1996). Tal capacidade é uma das características que os tornam

verdadeiras pragas, tanto em termos ambientais como econômicos, pois o seu controle exige vultosos investimentos em medidas de prevenção e de remediação. *L. fortunei* representa hoje uma enorme preocupação para todos os setores que desenvolvem atividades associadas ao uso da água.

Apesar disso, poucos estudos têm sido feitos a respeito da biologia desta espécie. Morton analisou aspectos da biologia e morfologia, dinâmica da população e ciclo de vida (1973; 1977; 1982) de *L. fortunei* na Ásia. Na América do Sul, a dinâmica populacional (Boltovskoy & Cataldo, 1999), a biologia reprodutiva (Darrigran et al, 1999) e o ritmo de crescimento no ambiente (Maroñas et al., 2003) foram alvos de pesquisa.

Este trabalho tem por objetivo analisar a influência da temperatura sobre o crescimento e maturação gonadal de *L. fortunei*, gerando subsídios que possibilitem um melhor entendimento dos aspectos biológicos envolvidos no processo de bioinvasão da espécie em território brasileiro.

#### **3.4. MATERIAL E MÉTODOS**

Os mexilhões foram coletados manualmente no reservatório de Itaipu, Foz do Iguaçu (PR) e enviados para Curitiba em caixas térmicas. No Laboratório do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), da Universidade Federal do Paraná, os animais eram mantidos em aquários dotados de sistema de filtração biológica, sob aeração contínua. Sua alimentação era composta por três porções diárias de uma solução de algas *Chlorella* sp. (Chlorophyceae - Chlorococcales), *Spirulina* sp (Cyanobacteriae-Oscillatoriales), desidratadas e dissolvidas (um grama de cada) em um litro de água desclorada, e, duas vezes por dia, um litro de cultura de *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae - Chlorococcales), numa concentração média entre  $30 \times 10^4$  e  $70 \times 10^4$  células/mL.

Os mexilhões foram retirados do aquário no dia do início do experimento; cuidadosamente separados uns dos outros, através do corte dos biscoes com estilete, e colocados em bandeja plástica. Com auxílio de um paquímetro digital, os animais foram medidos, em seu maior comprimento de concha. Os mexilhões foram então agrupados de acordo com sua classe de tamanho (Tabela 3-I), de modo que se fizessem representar as principais classe identificadas na população original no Reservatório de Itaipu.

Tabela 3-I. Classes de tamanho de *Limnoperna fortunei* e limites de comprimento de concha dos mexilhões de cada classe no início do experimento.

Classe (mm)	Limites de comprimento da concha (mm)
5	2,5-8,0
10	9 -13
15	13,5 -16,5
20	17-23,5
25	Maiores que 24 mm

O crescimento dos mexilhões foi testado em duas diferentes temperaturas, 18°C e 25° C. Em cada classe, foram testados 45 indivíduos por tratamento, separados em três réplicas, com 15 indivíduos cada. Os animais eram mantidos em cestas plásticas vazadas e estas em bandejas plásticas, onde permaneciam em contato com a cultura de *Scenedesmus* sp, renovada a cada dia, através da substituição total da cultura.

O preparo da cultura de *Scenedesmus* sp. era feito de forma a garantir que todos os animais de todas as classes e réplicas recebessem a mesma concentração de algas em um mesmo período. Em cada bandeja foi colocado um sistema de aeração, com pedra porosa, para evitar a decantação excessiva das algas.

Depois de separados por classes, os mexilhões foram colocados em incubadoras com fotoperíodo (12h claro:12h escuro) e temperaturas controladas (18 e 25° C), de onde só eram retirados para renovação diária da cultura de algas e para a realização das mensurações, uma vez por mês. A metodologia das mensurações mensais foi a mesma utilizada para a separação dos animais em classes. A duração total do experimento foi de seis meses.

Após agrupamento, os dados foram analisados pelo Programa STATISTICA (versão 6.0), STATSOFT™ (2003). Primeiramente, verificou-se a homogeneidade das variáveis dependentes pelo Teste de Shapiro-Wilk, com 95% de confiabilidade. Considerando o fato de todas estas variáveis analisadas terem apresentado dados que não se adequaram à curva normal de Gauss, efetuou-se a comparação entre as medianas dos diferentes tratamentos constituintes das variáveis independentes (fontes de variação) pelo teste (Não-Paramétrico) de Kruskal-Wallis ou através de testes de medianas (teste U de Mann-Whitney).

Ao término do experimento, os animais foram sacrificados para a determinação do índice de condição. Para obtenção do peso seco, os animais foram retirados das conchas através da secção de seus músculos adutores, colocados em recipientes de papel alumínio previamente pesados e numerados e levados à estufa por 14 horas a

60° C. Depois de secos, foram pesados em balança digital e os valores anotados em planilha eletrônica Excel® para obtenção dos valores dos índices de condição.

O índice de condição dos moluscos é uma relação entre seu peso e comprimento. No presente estudo, o índice utilizado foi baseado no índice de Fulton, cuja equação é (CONE, 1989 citado por MGAYA & MERCER, 1995):

$$IC = \frac{\text{peso seco (g)} \times 10^6}{\text{comprimento(mm)}}$$

Esse parâmetro biológico vem sendo calculado mensalmente em laboratório, utilizando animais enviados de Foz do Iguaçu (PR). Os dados dos índices de condição obtidos ao final do experimento de crescimento foram comparados aos índices auferidos ao longo de 12 meses (medições mensais).

Os dados foram anotados em planilhas para posterior tratamento estatístico com o programa Statistica 6.0®. As comparações entre os índices de condição foram feitas pelo método de Kruskal-Wallis.

## MATURAÇÃO GONADAL

Para analisar a influência da temperatura sobre a maturação gonadal, ao final do experimento foram escolhidos, aleatoriamente, 5 indivíduos de cada classe e de cada temperatura para a confecção de lâminas histológicas (uma lâmina por indivíduo). Os espécimes foram fixados em ALFAC (solução de álcool, formalina e ácido acético) por três horas e depois desidratados em álcool 70° por 24 horas; clarificadas em xilol e incluídas em parafina. A seguir, eram realizados cortes histológicos de 5 µm de espessura em micrótomo Leica RM2125RT, corados com hematoxilina de Harris e eosina. As análises histológicas de desenvolvimento gonadal do experimento de crescimento foram realizadas em um microscópio Leica DMLS (aumento 200 x), com auxílio do programa Leica Qwim Lite V 2.4 (Imaging Solution®, 1998).

De cada lâmina, foram feitas quatro imagens digitalizadas das gônadas femininas, em campos amostrados aleatoriamente, dos quais foram medidos de 4 a 16 ovócitos com nucléolo aparente (16 a 64 ovócitos por lâmina) Os valores obtidos foram utilizados como indicadores do estágio de maturação gonadal das fêmeas.

Para determinar o grau de maturação dos indivíduos machos, também foram feitas quatro imagens de cada lâmina. De cada imagem, era medida a área total ocupada pelos folículos e calculada a sua porcentagem de ocupação em relação à totalidade da área amostral, dando origem ao índice de ocupação dos folículos. Os dados finais obtidos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis.

### **3.5. RESULTADOS**

Constatou-se, ao final de seis meses, que os animais experimentais das classes 5, 10 e 15 mm apresentaram tamanho significativamente superior ( $p < 0,05$ ) do que aquele do início do experimento. Houve, portanto, crescimento significativo nas condições experimentais adotadas. Já os animais das classes 20 e 25 mm apresentaram comprimento final semelhantes ao que apresentavam no início do experimento (Figura 3-1).

Os animais da classe de 15 mm não apresentaram diferença significativa de comprimento ao final do experimento nas duas temperaturas testadas. Constatou-se, porém, que, apesar do cuidado inicial na separação dos indivíduos, utilizando um método aleatório para formação dos grupos, os animais dessa classe testados a 18° C apresentavam maior comprimento médio que aqueles testados na temperatura de 25° C. Apesar disso, ao ser analisado o ganho percentual de crescimento (Tabela 3-II), observa-se que a classe 15 mm a 18°C alcançou um ganho significativamente inferior (de 4,4%) àquele alcançado a 25° C (cujo aumento de comprimento foi de 14,1%).

Nas demais classes, o aumento de crescimento dos animais (crescimento total) apresentou diferença, com os maiores valores no tratamento a 25 °C nas classes 5, 10 e 20 mm. Na classe 25 mm a ordem foi inversa.

O mesmo resultado pode ser visto nos gráficos das curvas de crescimento (Figura 3-1) obtidas nas diferentes condições experimentais, que mostraram que a temperatura mais alta (25°C) foi responsável por um maior ganho no comprimento nas classes 5, 10, 15 e 20 mm.

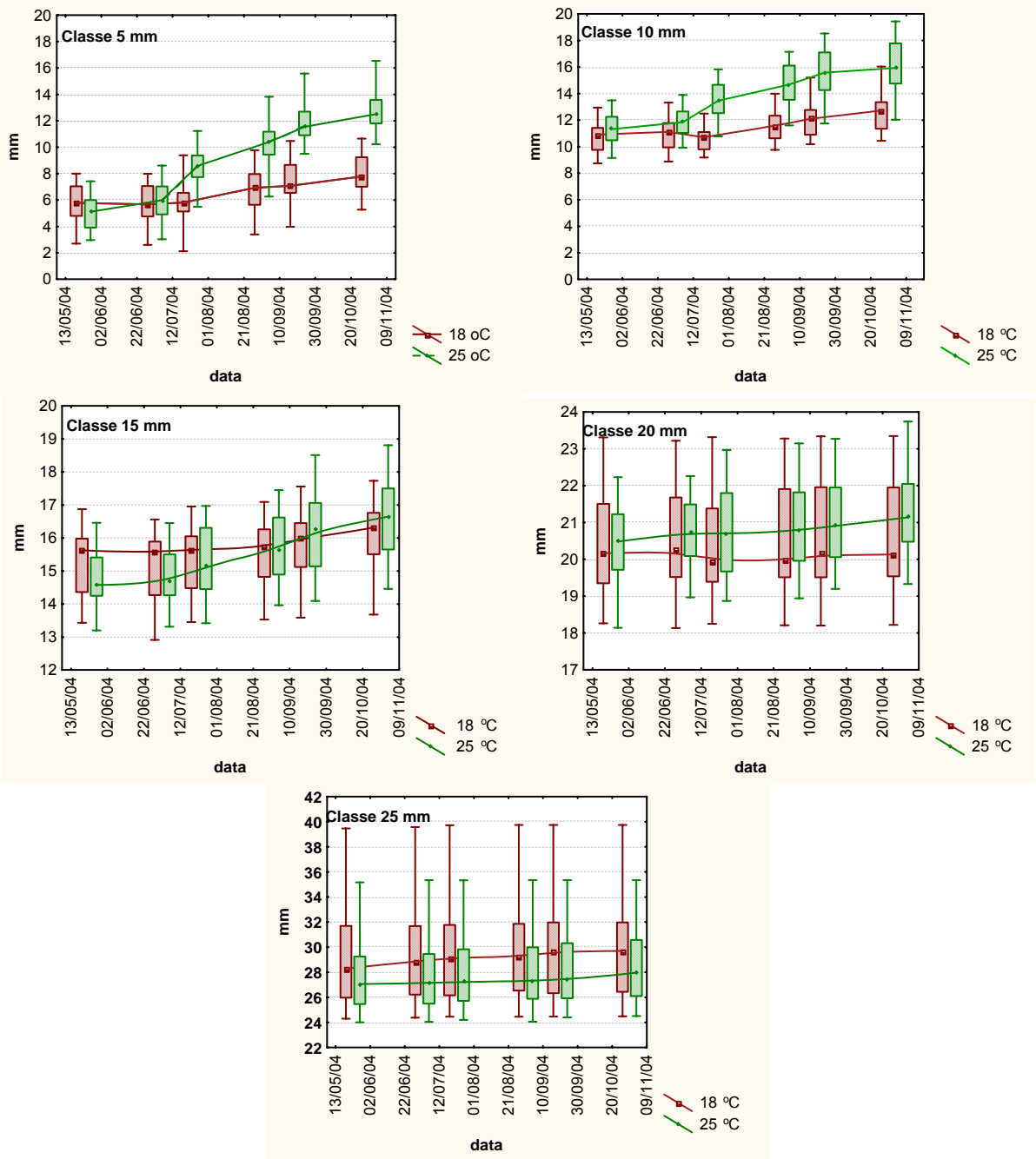


Figura 3-1. Curvas de crescimento de *L. fortunei* nas cinco classes testadas. As barras representam os valores mínimos e máximos. Os retângulos hachurados agrupam 50% dos dados. As medianas são representadas pelos quadrados no interior dos retângulos

Para verificar o ganho real de crescimento (em porcentagem, relacionando comprimento final e inicial) em cada classe, foi feita a comparação entre o comprimento inicial e o comprimento ao fim do experimento. O comprimento inicial



diferiu do final nas três primeiras classes (5, 10 e 15 mm). Nas outras classes (20 e 25 mm), não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Tabela 3-II. Síntese dos resultados obtidos no experimento com crescimento de *L. fortunei* em laboratório.

Classe	Temp (° C)	Comprimento (mm)		Crescimento (%)	n°. inicial de indivíduos	n°. final de indivíduos	sobrevivência (%)
		mediana inicial	mediana final				
5mm	18° C	5,8 <sup>a1</sup>	7,8 <sup>b</sup>	34,5	45	24	53,3
	25° C	5,1 <sup>a</sup>	12,5 <sup>c</sup>	144,8	45	32	71,1
10mm	18° C	10,9 <sup>d</sup>	12,7 <sup>e</sup>	15,8	45	31	68,9
	25° C	11,3 <sup>d</sup>	15,9 <sup>f</sup>	40,7	45	38	84,4
15mm	18° C	15,6 <sup>g</sup>	16,3 <sup>h</sup>	4,4	45	34	75,6
	25° C	14,6 <sup>i</sup>	16,6 <sup>h</sup>	14,1	45	38	84,4
20mm	18° C	20,2 <sup>j</sup>	20,1 <sup>j</sup>	-0,4	45	36	80,0
	25° C	20,6 <sup>j</sup>	21,1 <sup>j</sup>	2,6	45	27	60,0
25mm	18° C	28,3 <sup>k</sup>	29,2 <sup>k</sup>	3,3	45	40	88,9
	25° C	27,1 <sup>k</sup>	27,2 <sup>k</sup>	0,5	45	36	80,0

Letras iguais identificam os grupos homogêneos ( $p > 0,05$ ) formados a partir do teste de medianas de Kruskal-Wallis. As análises foram realizadas exclusivamente com o objetivo de comparar as medianas dentro de uma mesma classe de tamanho, não sendo realizadas análises entre as diferentes classes.

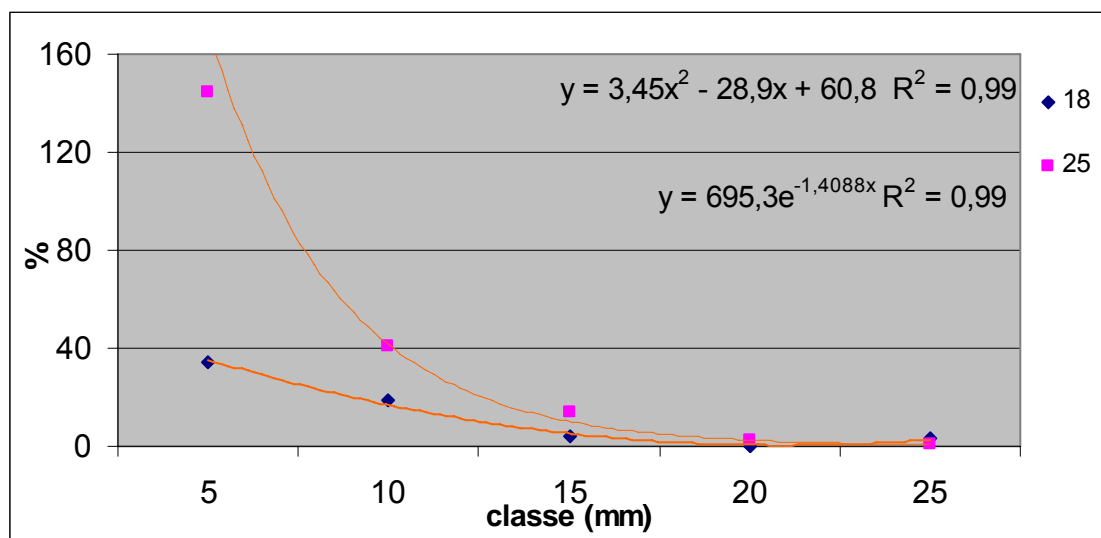


Figura 3-2. Curva de incremento percentual de tamanho da concha de *L. fortunei* a 18°C e a 25°C.

Os indivíduos de menor tamanho tenderam a apresentar taxas de sobrevivência inferiores aos de tamanho maior, com exceção da classe 20 mm

submetida à temperatura de 25°C. Nas três primeiras classes (5, 10 e 15 mm) a taxa final de sobrevivência foi maior em 25°C do que em 18°C.

Quando se analisam as curvas de incremento percentual de comprimento das conchas (Figura 3-2), observa-se que a maior influência da temperatura sobre o crescimento do mexilhão dourado em laboratório foi registrada nas menores classes de tamanho (5 e 10 mm). À medida que classes mais avançadas de comprimento foram testadas, a influência da temperatura foi se reduzindo gradativamente, a ponto de se tornar imperceptível para mexilhões da classe de 25 mm.

### ÍNDICE DE CONDIÇÃO:

Os índices de condição dos animais das classes menores (5, 10 e 15mm) no experimento foram, em média, muito superiores (Tabela 3-III) aos apresentados pelos animais mantidos nos aquários do laboratório (mediana 3,62).

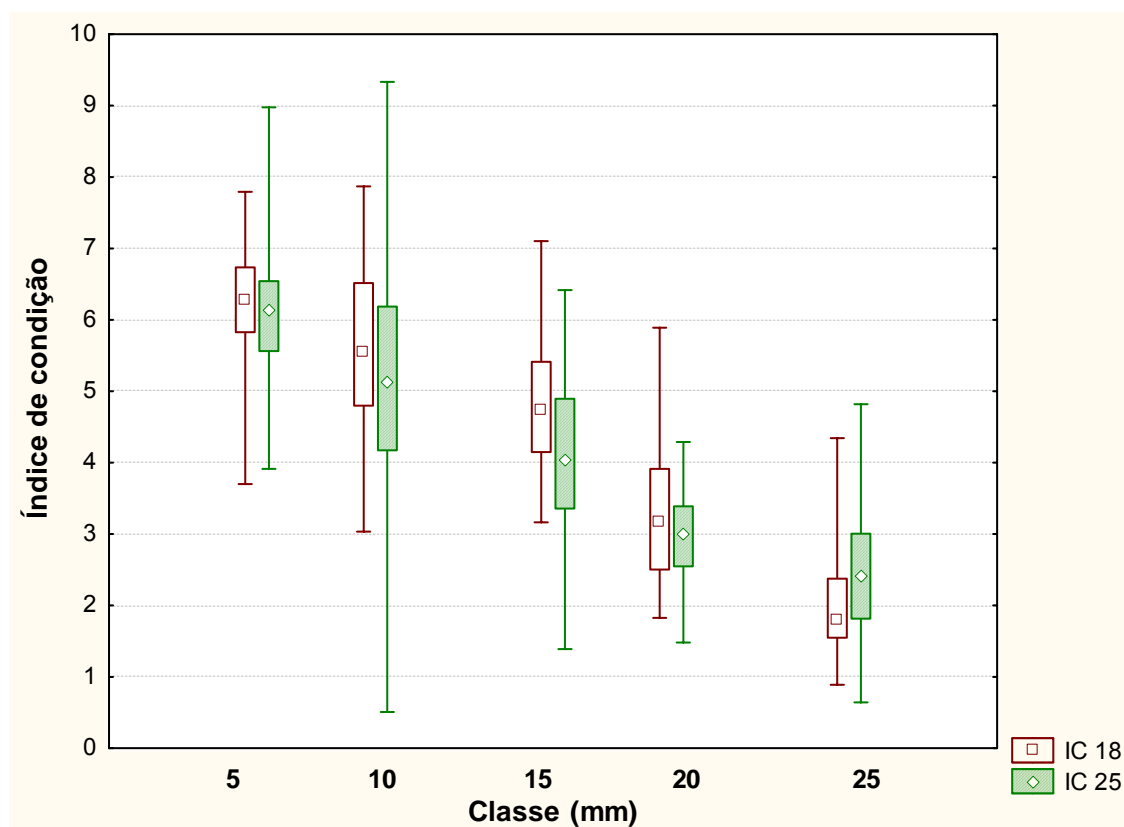


Figura 3-3. Índices de condição (IC) obtidos nas diferentes classes ao final do experimento de crescimento

Esses índices demonstraram relação inversa com a classe testada: quanto menor a classe, maior o índice. Isso acontece por causa do comprimento da concha, que na fórmula de cálculo de IC tem um peso maior, já que é utilizado elevado à terceira potência.

Os índices de condição das classes iniciais de tamanho (5 e 10 mm) e na classe de 20 mm não apresentaram diferenças significativas entre si. Já nas classes 15 e 25 mm, essas diferenças foram significativas (Figura 3-3).

Tabela 3-III. Síntese dos resultados de índice de condição (IC) obtidos no experimento com crescimento de *L. fortunei* em laboratório. Letras iguais identificam os grupos homogêneos ( $p > 0,05$ ) formados a partir do teste de medianas de Kruskal-Wallis. As análises foram realizadas exclusivamente com o objetivo de comparar as medianas dentro de uma mesma classe de tamanho, não sendo realizadas análises entre as diferentes classes.

Classe	Temperatura	N	Mediana <sup>1</sup>	Mínimo	Máximo
5 mm	18	20	6,27 <sup>a</sup>	3,70	7,79
5 mm	25	25	6,14 <sup>a</sup>	3,91	8,98
10 mm	18	26	5,55 <sup>b</sup>	3,03	7,87
10 mm	25	34	5,12 <sup>b</sup>	0,51	9,33
15 mm	18	29	4,73 <sup>c</sup>	3,16	7,10
15 mm	25	33	4,04 <sup>d</sup>	1,39	6,42
20 mm	18	31	3,18 <sup>e</sup>	1,82	5,89
20 mm	25	21	3,01 <sup>e</sup>	1,48	4,29
25 mm	18	33	1,80 <sup>f</sup>	0,89	4,34
25 mm	25	31	2,40 <sup>g</sup>	0,64	4,82

A correlação entre índice de condição e comprimento de concha se mostrou mais alta ( $r^2=0,75$ ) a 18°C que a 25 ( $r^2=0,46$ ). Indivíduos da mesma classe de comprimento apresentaram, nas diferentes temperaturas, massas diferentes (Figura 3-4).

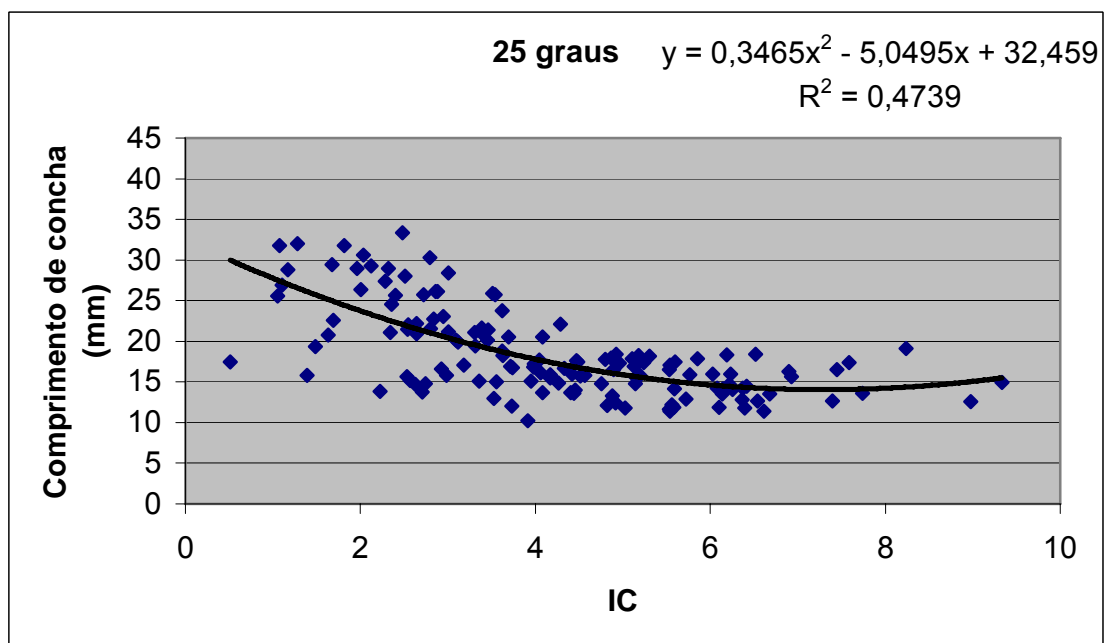
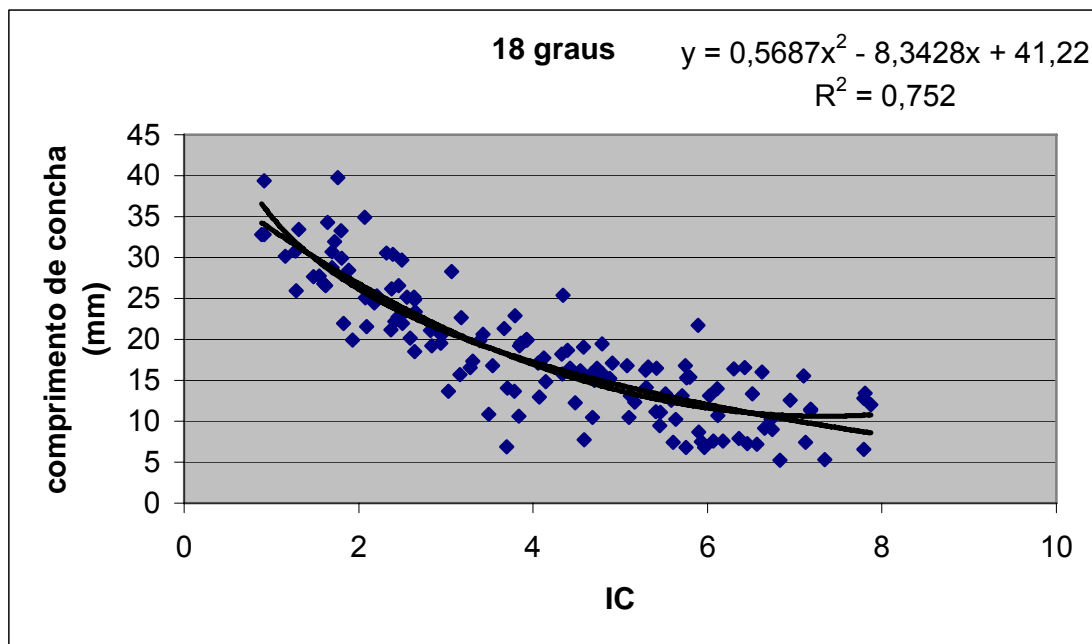


Figura 3-4. Relação entre Índices de condição (IC) e comprimento de concha (mm) obtidos nas temperaturas testadas ao final do experimento de crescimento

As massas (peso seco do corpo sem a concha) apresentaram diferenças estatísticas entre as duas temperaturas testadas nas duas primeiras classes de tamanho (Tabela 3-IV). Nas classes 15, 20 e 25 mm, as diferenças não foram significativas. É interessante notar que os resultados com crescimento de concha se apresentaram de forma semelhante, ou seja, nas classes 5 e 10 a temperatura teve influência significativa (Figura 3-5).

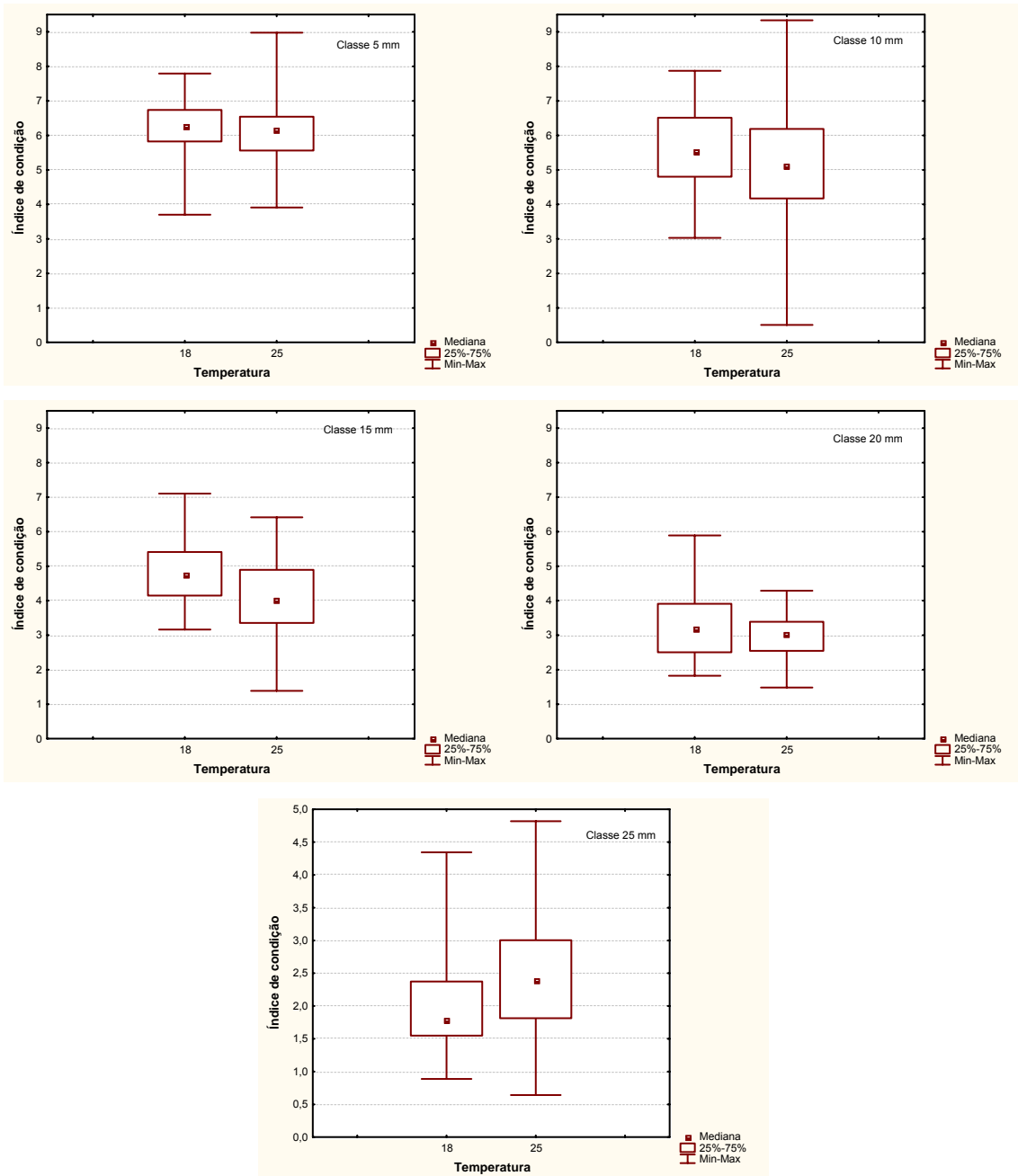


Figura 3-5. Comparação entre índices de condição (IC) obtidos nas temperaturas testadas ao final do experimento de crescimento.

Tabela 3-IV. Comparação entre as medianas das massas (mg) nas temperaturas testadas ao final do experimento de crescimento. Barras unem os resultados que não apresentaram diferenças significativas

Classe de tamanho	Massa (mg)	
	18	25
5 mm	2,6	13,4
10 mm	10,7	20,1
15 mm	<u>20,3</u>	<u>18,1</u>
20 mm	<u>27,2</u>	<u>28,4</u>
25 mm	<u>42,5</u>	<u>46,2</u>

### MATURAÇÃO GONADAL

Foram confeccionadas 52 lâminas, sendo 55,8% dos indivíduos machos, 26,9% fêmeas, 15,4% não identificados (com gônadas incipientes) e 1,91% não apresentavam gônadas visíveis. Não foram utilizados todos os indivíduos do experimento porque um dos objetivos do trabalho era o de analisar o IC, inviabilizando a confecção das lâminas.

Como a escolha dos indivíduos foi feita aleatoriamente, não foi possível determinar o sexo antes da confecção das lâminas. Por isso, não foi possível a comparação entre classes na mesma temperatura, pois o número amostral foi bastante desigual.

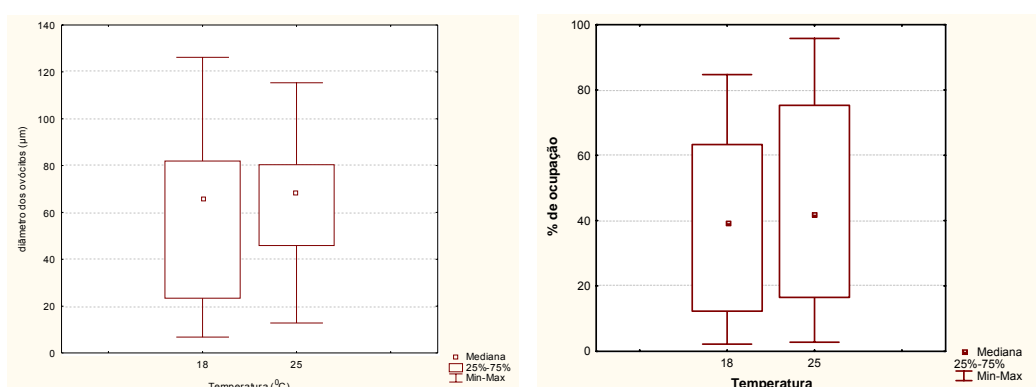


Figura 3-6. Comparação entre os desenvolvimentos gonadais obtidos nas temperaturas testadas ao final do experimento de crescimento

A temperatura influenciou significativamente ( $p < 0,05$ ) o desenvolvimento gonadal das fêmeas, quando os dados foram analisados agrupados (sem

separação entre as classes de tamanho dos indivíduos). Entre os machos, apesar de a 25°C o grau de ocupação das gônadas em relação à área amostral ter chegado a mais de 90%, as diferenças não foram estatisticamente significativas (Figura 3-6).

Observou-se uma tendência de aumento no grau de maturação gonadal das fêmeas com aumento do tamanho dos indivíduos nas diferentes classes (Figura 3-7). A classe de 5 mm apresentou grau de maturação significativamente ( $p < 0,05$ ) inferior a todas as outras. As classes 10, 15 e 20 mm não apresentaram diferenças significativas entre si e a classe 25 mm apresentou diâmetros de ovócitos significativamente maiores que todas as classes. Entre os machos, a porcentagem de ocupação da área amostral só apresentou diferença significativa em relação à classe ( $p > 0,05$ ) quando comparadas as classes de 5mm com as de 20 e 25 mm, havendo um aumento gradual de ocupação da área amostral ao longo das classes.

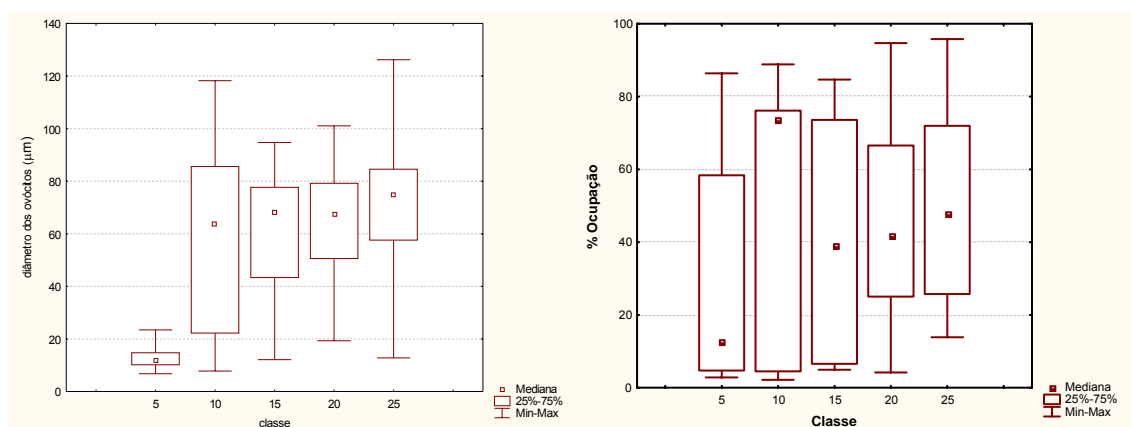


Figura 3-7. Desenvolvimento gonadal nas diferentes classes de tamanho. À esquerda, diâmetro dos ovócitos ( $\mu\text{m}$ ). À direita, porcentagem de ocupação da área amostral das gônadas masculinas.

### 3.6. DISCUSSÃO

As taxas de crescimento de invertebrados bênticos exibem geralmente uma variação anual bastante considerável. A análise dessa taxa pode dar uma indicação da condição relativa da população, pois representa as respostas fisiológicas do organismo às condições ambientais às quais está submetido (MacDonald & Thompson 1985a, citado por Chase & Bailey, 1999).

Segundo Beukema (1993) e Matthews & Fairweather (2003), bivalves exibem um padrão de mortalidade dependente da idade ou da classe de tamanho. Ou seja, determinadas idades ou classes de tamanho parecem ser mais sensíveis aos agentes causadores de mortalidade que outras. As taxas de sobrevivência bastante reduzidas nas menores classes obtidas com este estudo parecem concordar com essa afirmação, ou seja, nesse caso, quanto menor o comprimento, mais altas as taxas de mortalidade. As conchas muito finas de *L. fortunei*, ao mesmo tempo em que permitem um rápido crescimento em comprimento, fazem com que estes animais se tornem muito suscetíveis às várias causas de mortalidade, como predação e esmagamento.

Os mesmos autores anteriormente citados sugerem que crescimento rápido e maturação precoce são ótimas estratégias para bivalves que têm altas taxas de mortalidade em seu ciclo de vida. Outros podem direcionar todas as suas energias para o crescimento, postergando a reprodução até que alcancem um tamanho em que não sejam mais tão suscetíveis à mortalidade. O mexilhão dourado se encaixa na primeira categoria, pois, pelo fato de formar grupos com altíssimas densidades de indivíduos, apresenta altas taxas de mortalidade, tamanho relativamente pequeno (raramente além de 40mm). Por isso, crescimento rápido e maturação gonadal precoce são características extremamente vantajosas para a espécie.

Observou-se uma relação negativa entre comprimento de concha e taxa de crescimento. Os indivíduos da menor classe (5 mm), submetidos à temperatura de 25°C, alcançaram um ganho de comprimento de até 144% no período do experimento (seis meses). Por outro lado, os maiores indivíduos (classe 25) submetidos a essa mesma temperatura tiveram apenas 0,5% de ganho de comprimento ao longo do mesmo período.

Estes resultados concordam com os obtidos por Walz (1978) e Neumann et al. (1993) que estudaram a dinâmica populacional de *Dreissena polymorpha*, outro molusco invasor.

O fato das classes 20 mm e 25 mm terem apresentado, nas duas temperaturas testadas, comprimentos finais estatisticamente semelhantes aos iniciais (com um reduzido incremento total em comprimento), além de massas semelhantes ao final do experimento, parecem sugerir que a energia que seria utilizada para o aumento corporal foi alocada para a reprodução. Esta



afirmação também pode ser corroborada pela análise do grau de maturação gonadal das fêmeas, que apresentou uma relação direta entre o aumento dos diâmetros dos ovócitos e o comprimento da concha dos indivíduos testados. Isso parece sustentar a hipótese de que, no caso das fêmeas, uma vez alcançado um tamanho em que a suscetibilidade à mortalidade se reduz (explicando as altas taxas de sobrevivência entre os indivíduos pertencentes a essas classes), a energia disponível para o crescimento corporal passa a ser utilizada para a reprodução. Entre os machos, as classes de maior tamanho (20 e 25 mm) apresentaram porcentagens de ocupação da área amostral significativamente maiores em relação à de menor tamanho (5 mm), ou seja, também um maior grau de maturidade gonadal relacionado ao comprimento de concha, mas apresentando uma maior precocidade em relação às fêmeas.

O que parece bem claro, em ambos os sexos, é que a partir de um determinado comprimento de concha (no presente experimento, representado pela classe iniciada com indivíduos de 5 mm de comprimento e ao final com comprimento médio de 10,61 mm) o grau de maturação praticamente se iguala às classes subseqüentes, confirmando a característica de maturação precoce e de alocação de recursos energéticos para a reprodução, o que torna ainda maior seu potencial como espécie invasora.

O índice de condição, por sua vez, é uma indicação do estado fisiológico do bivalve e é proporcional à energia armazenada. Assim sendo, é bastante utilizado para caracterizar a hígidez ou, em outras palavras, para resumir a atividade fisiológica do animal sob determinadas condições ambientais (Lucas & Beninger, 1985). Contudo, esse índice deve ser usado criteriosamente, comparando-se apenas indivíduos de uma mesma classe, uma vez que é fortemente influenciado pelo comprimento dos indivíduos analisados.

Esse índice pode ser afetado por uma grande variedade de fatores, como temperatura, ciclo gametogênico da espécie e disponibilidade de alimento, sendo esses dois últimos os mais influentes (Orban et al, 2002).

Condições estressantes ou situações ambientais que requerem maior gasto energético (liberação de gametas, por exemplo) podem ser responsáveis por baixos índices de condição, observados em certas épocas do ano. Günther et al. (1999), utilizaram bivalves como biomonitores de qualidade da água para

elementos-traço e contaminantes orgânicos e verificaram que um índice (fator) de condição  $< 1$  sugere que o animal não se alimenta (seja por estresse osmótico ou baixa disponibilidade de alimento) ou está sob estresse fisiológico (incluindo os efeitos da reprodução).

Os índices de condição dos mexilhões dourados do experimento de crescimento, bastante superiores aos obtidos ao longo de 12 meses em experimentos laboratoriais com mexilhões vindos do ambiente, podem ser explicados pelo manejo diferenciado, uma vez que nesse experimento o alimento era ofertado em concentrações maiores do que as normalmente encontradas no ambiente, concordando com os trabalhos de Laing (2004) e Orban et al. (2002), que obtiveram maiores índices com bivalves cultivados em locais onde a concentração de fitoplâncton era maior.

Os resultados obtidos por Bonsdorff & Wenne (1989), comparando índices de condição de bivalves da espécie *Macoma balthica* de duas localidades diferentes, também demonstram a importância que a disponibilidade de alimento apresenta sobre os índices de condição. Seus dados mostraram que a desova de um bivalve nem sempre é seguida de uma queda no conteúdo de lipídios. Isso pode ser explicado como resultado de uma sobreposição na desova e um pico de alimentação, resultando em um intenso armazenamento de lipídios.

A temperatura mais alta (25°C) foi determinante para o aumento em comprimento de concha, o ganho em massa e a maturação gonadal em fêmeas, sendo que nos machos a maturação foi semelhante nas duas temperaturas, porém, com altos valores. Essa adaptação a temperaturas mais altas pode ser uma excelente estratégia para uma espécie como *L. fortunei*, durante a invasão de ambientes tropicais.

### **3.7. CONCLUSÕES**

*L. fortunei* apresentou, nos experimentos realizados, uma série de características que explicariam a sua elevada capacidade de invasão de ambientes aquáticos tropicais:

- As maiores taxas de crescimento e os maiores ganhos em massa foram alcançados na temperatura mais elevada (25°C).

- Crescimento rápido, alcançando até 144% ao final de seis meses de experimento, com taxas de incremento do comprimento de concha apresentando relação inversa e negativa com o tamanho da classe, ou seja, quanto menor a classe, maior o incremento em comprimento.
- Aumento das taxas de sobrevivência com o aumento das classes de tamanho, reduzindo a suscetibilidade às principais causas de mortalidade nas classes de menor tamanho.
- Maturação precoce a partir de uma determinada classe de tamanho (no presente experimento, a partir de 10 mm de comprimento de concha).

### 3.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Beukema, J.J. Successive changes in distribution patterns as an adaptive strategy in the bivalve *Macoma balthica* (L.) in the Wadden Sea. **Helgolander Meeresunters** v.47 . pp. 287–304. 1993

Boltovskoy, D. e Cataldo, D.H.. Population Dynamics of *Limnoperna fortunei*, an Invasive Fouling Mollusc, in the Lower Parana River (Argentina). **Biofouling** v.14: 255-263. 1999

Bonsdorff, E. & Wenne, R A comparison of condition indices of *Macoma balthica* (L.) from the northern and southern baltic sea. **Netherlands Journal of Sea Research** v.23 n.1 p. 45-55. 1989

Borzone, C. Pezzuto, P.R. & Tavares, Y.A.G, Um nuevo estudio histológico del ciclo reproductivo de *Euvola ziczac* (Pectinidae: Bivalvia) del litoral sur-sudeste del Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** v.20 (4):763:772. 2003

Chase, M & Bailey, R.C.. The ecology of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in the lower Great Lakes of North America: I Population Dynamics and Growth. **Journal of Great Lakes Research** v.25(1):107-121. 1999

Darrigran, G. Potencial Impact of Filter-Feeding invaders on Temperate in freshwater environments. **Biological Invasions** v.4, 145-156. 2002.

Darrigran, G.; Penchaszadeh, P. & Damborenea, M.C. The reproductive cycle of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae) from a neotropical temperate locality. **Journal of Shellfish Research** v. 18:361-365. 1999.

Darrigran, G.; Martin, S.M.; Gullo, B. & Armendáriz, L. Macroinvertebrate associated to *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) Rio de la Plata, Argentina **Hidrobiología** 367:223-230. 1998

Darrigran, G. & Pastorino, G. The recent introduction of a freshwater asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South America. **The Veliger**, Berkeley, v.32 n. 2 p171-175. 1995

Gunther, A.J.; Davis, J.A.; Hardin, D.D.; Gold, J.; Bell, D.; Crick, J. Scelfo, G.; Sericano, J. & Stephenson, M. Long-term Bioaccumulation Monitoring with Transplanted Bivalves in the San Francisco Estuary. **Marine Pollution Bulletin** v.38 n.3 p.170-181. 1999

Kimura, T. & Sekiguchi, H.. Effects of temperature on larval development of two mytilid species & their implication. **Venus Japanese Journal of Malacology**. v.55: 215-222. 1996

Laing, I. Filtration of king scallops (*Pecten maximus*) **Aquaculture** v.27 : 369-384. 2004

Lucas, A. & Beninger, P.G. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. **Aquaculture** v.44 p.187-200. 1985

MacIsaac, H. Comparative growth and survival of *Dreissena polymorpha* and *Dreissena bugensis*, exotic molluscs Introduced to the Great Lakes **Journal of Great Lakes Research** v.20(4):783-790. 1994

Mackie, G. L.. Biology of the exotic zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in relation to native bivalves and its potential impact in Lake St. Clair. **Hydrobiology** 219: 251-268. 1991

Matthews, G. & Fairweather, P.G. Growth rates of the infaunal bivalve *Soletellina alba* (Lamarck, 1818) (Bivalvia:Psammobiidae) in an intermittent estuary of southern Australia. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 58:873-885. 2003

Mgaya, Y. & Mercer, J. P. The effects of size grading and stocking density on growth performance of juvenile abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus **Aquaculture** v.136 : 297-312. 1995

Morton, B. The reproductive cycle in *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Bivalvia:Mytilidae) fouling Hong Kong's raw water supply system. **Oceanol. Limnol. Sin.** v.13: 312-325. 1982.

Morton, B. Some aspects of the biology and functional morphology of the organs of feeding and digestion of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Bivalvia:Mytilidae). **Malacologia** v. 12:265-281. 1973

Morton, B. The population dynamics of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (BIVALVIA:MYTILACEA) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. **Malacologia** v.16 n.1 p. 165-182. 1977.

Neumann, D., Borcherting, J. & Jantz, B. Growth and seasonal reproduction of *Dreissena polymorpha* in the Rhine River and adjacent waters *in Zebra*

**mussels – Biology, impacts and control.** Ed. Thomas f. Nalepa e Donald W. Schloesser. Lewis Publishers.1993

Orban, E., Di Lena, G.; Navigato, T.; Casini, I.; Marzetti, A. & Caproni, R  
Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition  
of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites.**Food  
Chemistry** v.77 pp. 57 -65. 2002

Pastorino, G., G. Darrigran, S.M. Martin, and L. Lunaschi. *Limnoperna fortunei*  
(Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del Rio de la Plata.  
**Neotropica**. v.39. p. 34. 1993.

## **4. EFEITOS DA ALIMENTAÇÃO SOBRE O ÍNDICE DE CONDIÇÃO E BIOMASSA DA CONCHA DE *Limnoperna fortunei***

### **4.1. RESUMO:**

Experimentos em laboratório testaram o desempenho dos Índices de Condição (IC) em relação à ausência ou presença de alimento. *Limnoperna fortunei* se mostrou uma espécie bastante tolerante à ausência de alimento, já que os grupos mantidos sob essa condição experimental sobreviveram por 63 dias, quando foi feita a última medição dos IC e foi necessário sacrificar os animais. Os animais mantidos com alimentação apresentaram aumento de massa de até 240%. Não houve influência da alimentação sobre os pesos secos de conchas, cujos valores não diferiram entre os tratamentos.

### **4.2. ABSTRACT:**

Laboratory assays were carried out in order to evaluate the performance of Condition Index (CI) in respect to absence or presence of food. *L. fortunei* was shown to be a tolerant species to starvation, surviving for 63 days without food. The mussels under feeding condition showed mass gain over 240%. The feeding condition did not show influence on shell dry weight.

### **4.3. INTRODUÇÃO**

O Índice de condição (IC) é uma indicação do estado fisiológico do bivalve e é proporcional à energia armazenada pelo indivíduo. Assim sendo, é bastante utilizado para caracterizar a higidez ou, em outras palavras, para resumir a atividade fisiológica do animal sob determinadas condições ambientais (Lucas & Beninger, 1985).

Muitos autores têm utilizado esse índice para analisar populações de bivalves sob vários aspectos: investigar o efeito da densidade sobre as taxas de crescimento (Mgaya & Mercer, 1995); avaliar o efeito dos parâmetros ambientais sobre essas populações (Laing, 2002; Gunther, 1999); para promover comparação do estado fisiológico de animais de diferentes localidades e avaliar os efeitos de variações sazonais (Bonsdorff & Wenne, 1989; Orban et al., 2002); estudar os efeitos da exposição a contaminantes (Gauthier-Clerc et al., 2002; Robillard et al., 2003); avaliar sazonalmente duas espécies da mesma localidade (Beninger & Lucas, 1984; Baker & Hornbach, 2001); estudar processos de bioacumulação (Widdows & Donkin, 1991; Martin et al., 1986; Sokolowsky et al., 1999).

A inanição (“starvation”) de organismos heterotróficos tem sido definida como uma insuficiência na ração alimentar, que não permite a compensação de suas perdas metabólicas, conduzindo à perda de peso (García-Esquivel et al., 2002).

A restrição de alimento não é rara no meio aquático. Periodicamente, o alimento se torna escasso ou indisponível por um longo período e, em resposta a essa situação, o metabolismo dos indivíduos é reduzido para economizar energia até que o alimento esteja novamente disponível (Durazo-Beltran et al., 2004).

As flutuações sazonais do fitoplâncton podem expor os organismos filtradores como *Limnoperna fortunei* a prolongados períodos sem alimento, principalmente durante o inverno, quando a densidade do fitoplâncton é baixa, e, mesmo durante o verão, quando há possibilidade de espécies do fitoplâncton que não fazem parte dos itens alimentares desses filtradores dominarem o plâncton (Chase & McMahon, 1994).

O presente trabalho tem por objetivo estudar os efeitos do regime alimentar de mexilhões dourados (*L. fortunei*) sobre os respectivos índices de condição e avaliar se tal parâmetro é um eficiente indicador do estado de hígidez da espécie.

#### **4.4. MATERIAIS E MÉTODOS:**

Os mexilhões foram coletados manualmente no Reservatório de Itaipu em Foz do Iguaçu e levados em caixa térmica até o Laboratório do Grupo Integrado de Aqüicultura (GIA) em Curitiba (PR), onde foram mantidos em aquários (130 l) em água desclorada, com filtro, temperatura (20° C) e pH (7,4) controlados, com iluminação 12h claro: 12 h escuro, sobre grades plásticas até a realização dos experimentos.

Sua alimentação era composta por três porções diárias de uma solução de algas *Chlorella* sp. (Chlorophyceae-Chlorococcales) e *Spirulina* sp (Cyanobacteriae-Oscillatoriales) desidratadas e dissolvidas em água desclorada (um grama de cada) e cultura de *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae - Chlorococcales).

Para determinação do índice de condição, foram separados quatro grupos de 120 mexilhões com tamanhos de concha superiores a 17 mm. O processo de separação foi feito respeitando as proporções entre as classes de tamanhos presentes na população de origem. Os quatro grupos foram colocados em baldes plásticos contendo 10 litros de água desclorada e identificados como tratamentos “com alimentação” e “sem alimentação”. Cada grupo foi testado em duplicata, identificadas como réplicas “A” e “B”. Os baldes contendo os animais foram mantidos em estufa incubadora com temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 12 h claro : 12 h escuro, com aeração contínua. Diariamente, era feita a troca total de água dos quatro grupos. Dois grupos (“com alimentação A” e “com alimentação B”) eram então alimentados *ad libitum* através de culturas de microalgas *Scenedesmus* sp. e os outros dois (“sem alimentação A” e “sem alimentação B”) permaneceram todo o período do experimento em total jejum, sem receber nenhum tipo de alimento.

A cada semana, eram retirados, ao acaso, dez mexilhões de cada balde, num total de vinte mexilhões “com alimentação” e outros vinte “sem alimentação”. Os animais eram medidos em seu maior comprimento de concha por meio de paquímetro digital.

Para obtenção do peso seco, os animais foram retirados de suas conchas, através da secção de seus músculos adutores, colocados em recipientes de papel alumínio previamente pesados e numerados e levados à estufa por 14 horas a 60° C. As conchas desses animais também foram secas, utilizando a mesma metodologia. Depois de secos, foram pesados (a carne e as conchas, em separado) em balança digital e os valores anotados em planilha eletrônica Excel® para obtenção dos valores dos índices de condição e peso seco de concha.

No presente estudo, o IC utilizado foi baseado no índice de Fulton, cuja equação é (Cone, 1989 citado por Mgaya & Mercer, 1995):

$$IC = \frac{\text{peso seco (g)} \times 10^6}{\text{comprimento(mm)}}$$



#### 4.5. RESULTADOS:

O período experimental estendeu-se entre 15/06/2004 e 02/09/2004, sendo que os indivíduos sem alimentação tiveram seu IC obtido pela última vez no dia 16/08/2004, após 63 dias de experimento, quando já não restavam mais animais nesse tratamento.

Os grupos retirados a cada semana, apesar de serem formados ao acaso, foram sempre semelhantes ( $p > 0,05$ ) entre si em relação ao comprimento dos animais, em todas as datas e tratamentos testados. Por isso, optou-se por realizar análises agrupadas, sem separações dos animais em classes de tamanho.

Os indivíduos dos dois tratamentos iniciaram o experimento sem apresentar diferenças significativas em seus IC. Já a partir da primeira semana, o valor do IC entre os indivíduos mantidos sem alimentação passou a ser estatisticamente inferior ( $p < 0,05$ ) aos apresentados por animais mantidos com alimentação. Essa diferença permaneceu presente durante todo o experimento (Figura 4-1).

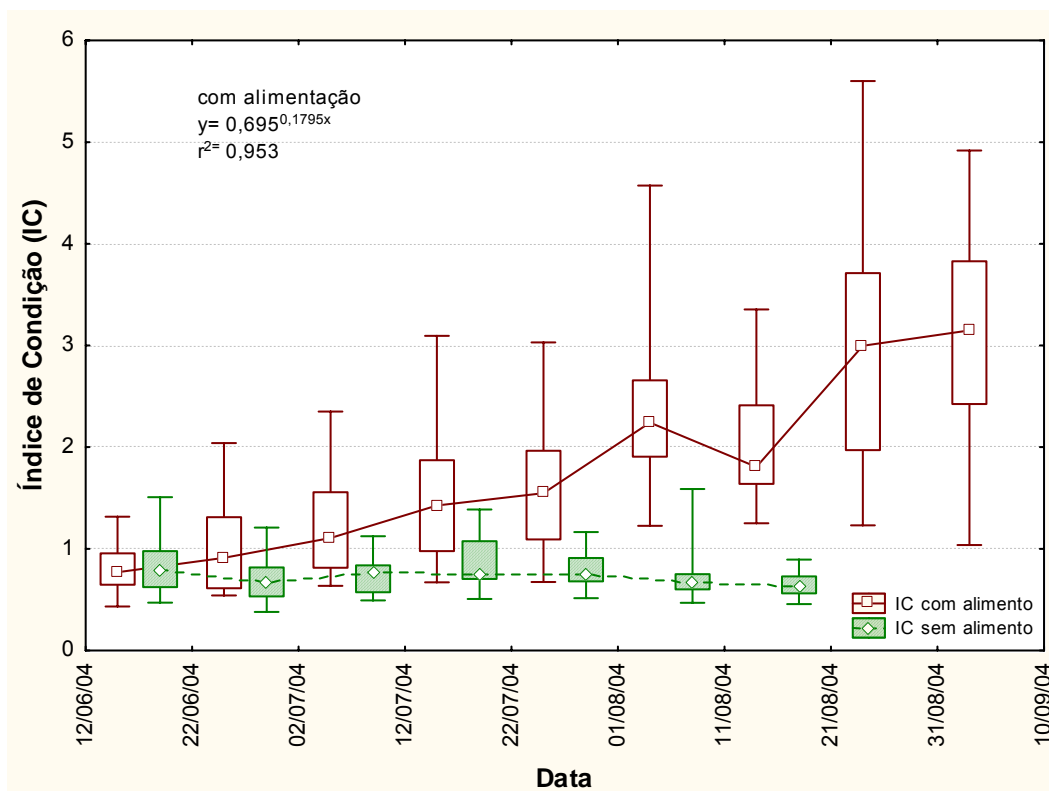


Figura 4-1. Variação temporal do Índice de condição de *L. fortunei*.

Os IC dos mexilhões mantidos sem alimentação, por sua vez, apresentaram ligeira tendência de queda ao longo do tempo, porém não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) entre si nas diferentes datas em que a análise foi realizada

Já os indivíduos mantidos com alimentação durante todo o experimento apresentaram uma tendência de aumento exponencial de seus IC ao longo do tempo (Figura 4-1)

Enquanto aqueles animais mantidos sem alimentação apresentaram um decréscimo final de 22,2% em seu IC quantificado em relação ao início do experimento, os mexilhões alimentados apresentaram um ganho final de cerca de 306 % (Tabela 4-I). Em relação à massa (peso seco da carne, sem a concha), foi registrada uma perda de cerca de 62% nos indivíduos sem alimentação, considerando a diferença obtida entre a primeira até a última análise realizada. Já os indivíduos alimentados apresentaram um ganho aproximado de biomassa 240% nesse parâmetro (Tabela 4-I)

Tabela 4-I. Síntese dos resultados obtidos nos testes com e sem alimentação em relação ao índice de condição de *Limnoperna fortunei*. N= número amostral; Massa (g)= peso seco sem a concha; IC= índice de condição.

Data	Com alimento			Sem alimento		
	N	Massa (mg)	IC	N	Massa (mg)	IC
15/06/2004	30	9,2	0,77	30	9,5	0,80
23/06/2004	20	9,4	0,98	20	8,2	0,66
05/07/2004	20	16,9	1,11	20	8,7	0,76
16/07/2004	20	18,1	1,42	20	8,3	0,75
26/07/2004	20	15	1,55	20	8	0,75
04/08/2004	20	30,9	2,24	20	7,5	0,67
16/08/2004	20	23,2	1,81	26	5,8	0,63
26/08/2004	19	22,6	2,90	-	-	-
02/09/2004	25	21,6	3,15	-	-	-

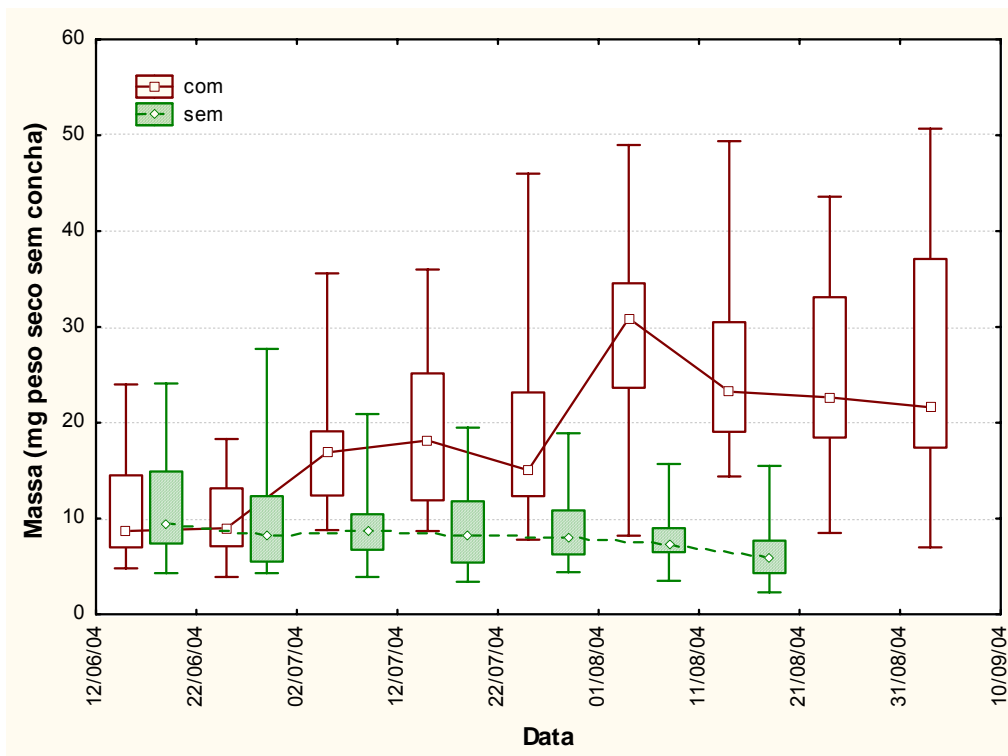


Figura 4-2. Variação temporal da massa (peso seco, sem concha) dos mexilhões com e sem alimentação.

Constatou-se que, apesar dos dois tratamentos (com e sem alimentação) terem iniciado o experimento com valores de peso seco de concha semelhantes entre si, ao final, esses valores eram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) distintos (Tabela 4-II). Quando comparadas as datas de início e de final de cada tratamento separadamente, observa-se que, mesmo no tratamento em que os animais foram alimentados, os pesos iniciais das conchas eram significativamente maiores que os seus pesos finais, o que indica que ao longo do tempo houve perda de material da concha (Figura 4-1). No tratamento sem alimentação, essa perda foi de 39,6% e no tratamento com alimentação, a perda de material de concha chegou a 21,5%.

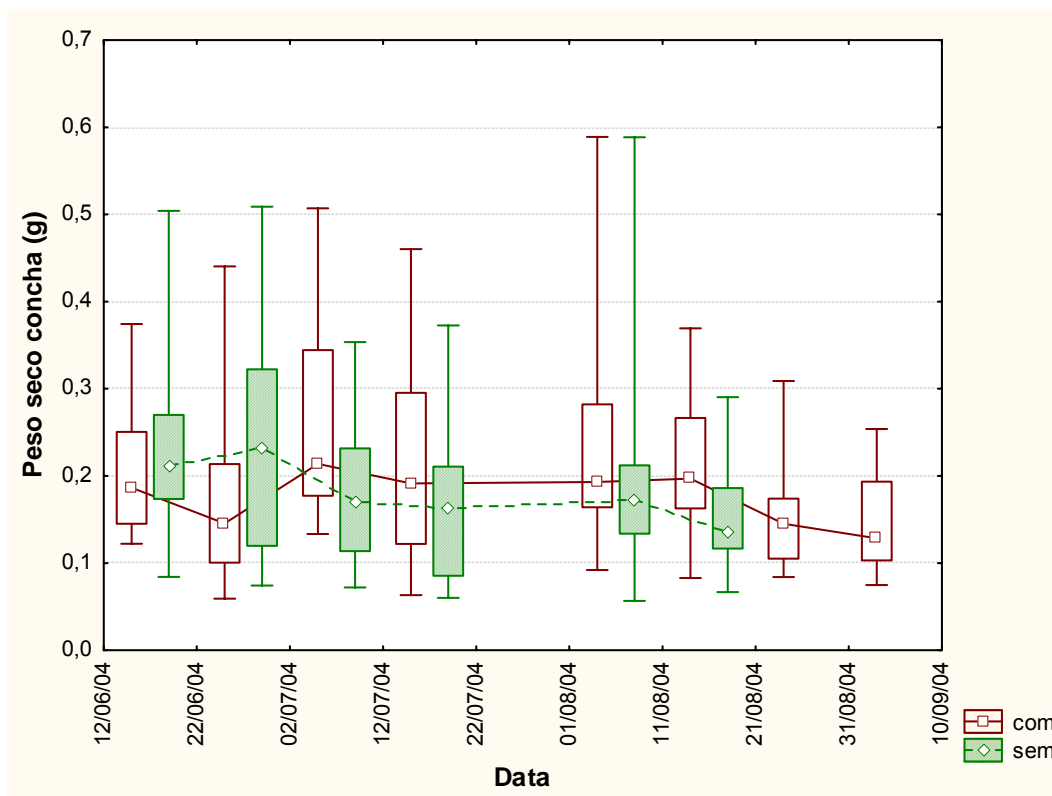


Figura 4-3. Peso seco da concha (g) nos dois tratamentos, com e sem alimentação.

Tabela 4-II Peso seco de concha nos dois tratamentos (g)

Data	Com alimento		Sem alimento	
	N	Mediana	N	Mediana
15/06/2004	30	0,186	30	0,212
23/06/2004	10	0,145	18	0,232
05/07/2004	17	0,213	18	0,169
16/07/2004	20	0,191	20	0,162
04/08/2004	19	0,193	19	0,171
16/08/2004	20	0,197	26	0,135
26/08/2004	18	0,145	-	-
02/09/2004	24	0,128	-	-

Não houve variação significativa em relação ao comprimento de concha, no tratamento sem alimentação. No tratamento com alimentação, houve diferença apenas nas duas últimas datas, significando que os animais mantidos alimentados, além de apresentarem uma perda do material de concha, não tiveram crescimento em comprimento no período total do experimento.

#### 4.6. DISCUSSÃO:

*Limnoperna fortunei* se mostrou uma espécie bastante tolerante à ausência de alimento, uma vez que os grupos mantidos nessa condição experimental sobreviveram por 63 dias, quando foi feita a medição dos IC do último lote sobrevivente. É bastante provável que esse período se estendesse por um tempo ainda superior, caso não houvesse a necessidade de se sacrificar periodicamente lotes de animais para a determinação dos parâmetros monitorados. Essa longevidade em condições extremas parece ser uma característica comum à alguns moluscos aquáticos invasores. Chase & McMahon (1994) encontraram valores bastante altos de sobrevivência de *Dreissena polymorpha* submetidos à ausência de alimento, variando conforme a temperatura experimental: 166 dias a 25°C e 545 dias a 15°C.

Os índices de condição dos mexilhões alimentados indicaram que, em contato com alimentação adequada e em concentração suficiente, *L. fortunei* pode reverter um quadro fisiológico desfavorável, aumentando sua massa em até 240%, como foi o caso registrado neste experimento. A disponibilidade de alimentos, por sua vez, possibilita que os organismos aumentem sua massa corpórea e invistam na maturação gonadal. Os bivalves, em geral, acumulam reservas energéticas nos tecidos do corpo e então gastam essas reservas durante a produção e eventual liberação de gametas (Nalepa et al, 1993).

Apesar dos IC iniciais e finais dos indivíduos sem alimentação não apresentarem diferenças, os valores de massa (peso seco da carne sem a concha) finais apresentaram-se 62% abaixo dos iniciais, ou seja, houve significativa perda de massa ao longo do experimento com animais mantidos sem alimentação.

Os valores quantificados em relação aos pesos secos iniciais e finais de concha, em ambos os tratamentos, demonstraram que não houve influência da alimentação sobre esse parâmetro. Chase & McMahon (1994) verificaram que o peso seco da concha de *Dreissena polymorpha* não variou ao longo de 132 dias sem alimentação a 25°C, mas que a 5°C houve perda pela volatilidade do cálcio nesta temperatura, junto com a incapacidade metabólica do mexilhão zebra de secretar cálcio numa proporção equivalente à perda para o meio,

concluindo que a temperatura foi um fator mais importante que a alimentação sob esse aspecto.

Bivalves de água doce requerem cálcio absorvidos do ambiente para o crescimento e manutenção de concha. Em condições de estresse fisiológico, como hipoxia, bivalves de água doce podem perder íons, e essa perda é primeiramente causada pela redução na taxa de assimilação desses íons do meio para o animal, o que pode levar à utilização de parte do carbonato de cálcio (um dos principais constituintes das conchas de mitilídeos) para a manutenção do equilíbrio ácido-base (Byrne & McMahon, 1990).

Hughes & Byrne (1999) também constataram que em condições de hipoxia as reservas de energia do animal são reduzidas, afetando o transporte de íons e quebrando a homeostasia iônica, resultando numa acidose interna (acúmulo de CO<sub>2</sub>) que pode causar mudanças nas concentrações no cálcio e bicarbonato na hemolinfa.

O que pode ter ocorrido, no presente experimento, é que o período e as condições em que foram mantidos os mexilhões (sete a nove semanas de experimento em alta densidade) causaram um estresse tal que essa remobilização do material da concha foi necessária.

#### 4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baker, S.M. & Hornbach, D.J. Seasonal metabolism and biochemical composition of two unionid mussels *Actinonaias ligamentina* and *Amblema plicata*. **Journal of Molluscan Studies** v.67 p.407- 416. 2002

Beninger, P.G. & Lucas, A. Seasonal variations in condition, reproductive activity and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussates* (Jeffrey) and *Tapes Philippinarum* (Adams & Reeve). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v.79 p. 19-37. 1984

Bonsdorff, E. & Wenne, R A comparison of condition indices of *Macoma balthica* (L.) from the northern and southern baltic sea. **Netherlands Journal of Sea Research** v.23 n.1 p. 45-55. 1989

Byrne, R.A. & McMahon, B. R. Acid-base and ion regulatory responses to environmental O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> in a freshwater bivalve. **American Zoologist** v.30 p. 385-388. 1990.

Carefoot, T.H.; Qian, P-Y.; Taylor, B.E.; West, T. & Osborne, J. Effect of starvation on energy reserves and metabolism in the Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana* **Aquaculture** 118 v.3-4 p 315-325 . 1993

Chase R. & McMahon, R. F. Effects of starvation at different temperatures on dry tissue and dry shell weights in the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas). Proceedings of the Fourth International Zebra Mussel Conference, Wisconsin, March 1994.

Durazo-Beltrán, E; Viana, M.T. ; D'Abramo, R.D. & Toro-Vazquez, J.T Effects of starvation and dietary lipid on the lipid and fatty acid composition of muscle tissue of juvenile green abalone (*Haliotis fulgens*). **Aquaculture** v.238 n.1-4 p.329-341. 2004.

Garcya-Esquivel, Z.; Bricelj, M.; Felbeck, H. Metabolic depression and whole body response to enforced starvation by *Crassostrea gigas* postlarvae. **Comparative Biochemistry and Physiology A** v.133 p.63 –77. 2002

Gauthier-Clerc, S., Pellerin, J., Blaise, C., Gagne, F.. Delayed gametogenesis of *Mya arenaria* in the Saguenay fjord (Canada): a consequence of endocrine disruptors? **Comparative Biochemistry and Physiology C** v. 131 p. 457–467. 2002.

Gunther, A.J.; Davis, J.A.; Hardin, D.D.; Gold, J.; Bell , D.; Crick, J. Scelfo, G.; Sericano, J. & Stephenson, M. Long-term Bioaccumulation Monitoring with Transplanted Bivalves in the San Francisco Estuary. **Marine Pollution Bulletin** v.38 n.3 p.170-181. 1999

Hughes,R. & Byrne, R. <http://www.fredonia.edu/StudentExpo/HugBio.htm> acesso em 01/10/2005. 1999.

Laing, I. Effect of salinity on growth and survival of king scallop spat (*Pecten maximus*). **Aquaculture** v. 205 p.171– 181. 2002.

Lucas, A. & Beninger, P.G. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. **Aquaculture** v.44 p.187-200. 1985

Martin, D.; Nurnberg, H.W.& Branica, M. Bioaccumulation of heavy metals by bivalves from Limski Kanal (North Adriatic Sea) II. Copper distribution between oysters, *Ostrea edulis*, and ambient water. **Marine Chemistry** v. 18 p. 299-319. 1986

Mgaya, Y.D. & Mercer, J.M. The effects of size grading and stocking density on growth performance of juvenile abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus **Aquaculture** v.136 p. 297-312. 1995

Nalepa, T. F., Cavaletto, J. F; Ford, M.; Gordon, W.; M & Wimmer, M.J. Seasonal and annual variation in weight and biochemical content of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in Lake St. Clair. **Journal of Great Lakes Research** v. 19 n.3 p. 541-546. 1993.

Orban, E, Di Lena, G.; Navigato, T. Casini, I.; Marzetti, A. & Caproni, R. Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. **Food Chemistry** v.77 p. 57-65. 2002

Robillard, S. Beauchamp, G.; & Laulier, M. The role of abiotic factors and pesticide levels on enzymatic activity freshwater mussel *Anodonta cygnea* at three different exposure sites. **Comparative Biochemistry and Physiology C** v.135 p.49–59. 2003.

Sokolowsky , A.; Wolowicz, M. ; Hummel, H. Bogaards, R. Physiological responses of *Macoma balthica* to copper pollution in the Baltic. **Oceanologica Acta** v.22 n.4 .p.431-439. 1999.

Widdows, J. & Donkin, P. Role Of Physiological Energetics In Ecotoxicology . **Comparative Biochemistry and Physiology C** v.100n.1/2 p.69-75. 1991.



## 5. CICLO REPRODUTIVO DE *Limnoperna fortunei* NO RESERVATÓRIO DE ITAIPU, NO PONTO DE CAPTAÇÃO DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ÁGUA VILA C (FOZ DO IGUAÇU, PR, BRASIL).

### 5.1. RESUMO

O ciclo reprodutivo de *Limnoperna fortunei* foi analisado no reservatório de Itaipu, no ponto de captação da ETA Vila C (Sanepar), em Foz do Iguaçu, PR. As análises realizadas envolveram a comparação entre o desenvolvimento gonadal (com a avaliação dos índices de condição e gonadosomático, do diâmetro dos ovócitos e da ocupação de folículos); a densidade de estágios de desenvolvimento no plâncton; e as taxas de assentamento em substratos artificiais. Os resultados demonstraram que os processos que regeram o ciclo reprodutivo de *L. fortunei* no ambiente estudado aconteceram em dois períodos principais: entre fevereiro e junho e entre agosto e outubro, épocas não coincidentes com as variações extremas de temperatura da água. Entre esses períodos, a reprodução não cessou, mas foram registrados eventos menos pronunciados de produção larval.

### 5.2. ABSTRACT

The reproductive cycle of *Limnoperna fortunei* was studied in the Itaipu Reservoir, in the ETA Vila C collection point (Sanepar), municipality of Foz do Iguaçu, PR, Brazil. The analysis involved the comparison between gonadal development (including an evaluation of condition and gonadosomatic indexes, oocyte diameter and follicular occupation), density of developmental stages in plankton, and settlement rates in artificial substrates. The results indicate that the processes involved in the *L. fortunei* reproductive cycle in this environment take place in two main periods: between February and June and between August and October. Both periods do not correspond to extreme variations in water temperature. In the interval between these periods, the reproduction did not cease, although the records of larval production were less marked.

### 5.3. INTRODUÇÃO

*Limnoperna fortunei*, um molusco bivalve originário do sudeste asiático, vem se tornando uma espécie invasora com grande potencial de impacto na América do Sul, aonde chegou em 1991 (Pastorino et al., 1993), provavelmente via água de lastro de navios oriundos da Ásia (Mansur et al., 2004).

Apesar de pertencerem a níveis taxonômicos diferentes, *L. fortunei* (família Mytilidae) possui algumas características em comum com *Dreissena polymorpha* (mexilhão zebra, família Dreissenidae), uma espécie invasora da América do Norte. Uma das razões do sucesso dessas espécies na colonização

de novos ambientes advém do fato de possuírem estágio larval planctônico (véliger), ao contrário da maioria dos bivalves de água doce, que possui desenvolvimento direto ou um breve estágio larval parasita (Mackie, 1991). Essa característica, associada à alta fecundidade e à presença de bisso nos adultos, que também não é encontrado em outras espécies de bivalves de água doce (Johnson & Carlton, 1996), cria condições propícias para que essas espécies dominem rapidamente o ambiente invadido (Garton & Haag, 1991).

A colonização de um novo ambiente por *L. fortunei* causa uma série de impactos ambientais, podendo causar a redução da biomassa e modificação da comunidade fitoplanctônica, modificando a cadeia trófica da região invadida (Von Rückert et al, 2004). Os principais impactos econômicos causados por essa espécie são provocados após o assentamento das larvas e fixação dos juvenis e adultos, o que frequentemente causa a obstrução de encanamentos em usinas hidrelétricas, em sistemas de tratamento e distribuição de água e nas redes de drenagem pluviais.

Informações sobre flutuações reprodutivas sazonais são essenciais para o estabelecimento de estratégias de controle de espécies aquáticas invasoras (Cataldo & Boltovskoy, 2000). No entanto, poucos estudos analisaram o ciclo de vida da *L. fortunei*. Morton (1977, 1982) estudou a dinâmica populacional de *L. fortunei* em Hong Kong, que teve seu sistema de distribuição de água colonizado pela espécie a partir de 1966. Na América do Sul, Boltovskoy & Cataldo (1999) também analisaram a dinâmica populacional da espécie no rio Paraná (Argentina) e, assim como Morton (op.cit.), utilizaram substratos artificiais para análise e determinação do assentamento das formas larvais e juvenis da espécie. Cataldo & Boltovskoy (2000) analisaram sua atividade reprodutiva anual no estuário do rio da Prata e baixo Paraná (Argentina).

No reservatório de Itaipu, onde teve sua presença registrada pela primeira vez em 2001 (Zanella & Marenha, 2002), o único levantamento de informações sobre o ciclo reprodutivo da espécie aconteceu sob a forma de um relatório técnico (Boltovskoy & Cataldo, 2003).

O presente trabalho tem como objetivo analisar o ciclo reprodutivo de *L. fortunei* no reservatório de Itaipu, em local utilizado pela Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), para captar parte da água que abastece a cidade de Foz do Iguaçu.

#### 5.4. MATERIAIS E MÉTODOS

O ciclo reprodutivo de *L. fortunei* foi avaliado através de análises que envolveram: a comparação entre o desenvolvimento gonadal (com a avaliação dos índices de condição e gonadossomático, do diâmetro dos ovócitos e da ocupação de folículos); a densidade de formas jovens no plâncton; e as taxas de assentamento em substratos artificiais.

As coletas foram realizadas no reservatório de Itaipu, no ponto de captação da Estação de Tratamento de Água Vila C, da SANEPAR (coordenadas geográficas: 25°26.728' S; 54°33.034' W), de janeiro a dezembro de 2005.

Os indivíduos adultos foram coletados manualmente, retirando-se os mexilhões aderidos nas estruturas presentes no reservatório. Após a coleta, eles eram levados, em caixas térmicas, até Curitiba, onde eram feitas as lâminas histológicas e determinados os índices de condição e gonadossomáticos.

Índice de condição (IC) e Índice gonadossomático (IG):

O índice de condição dos moluscos é uma relação entre seu peso e comprimento. No presente estudo, o índice utilizado foi baseado no índice de Fulton (Mgaya & Mercer, 1995), cuja equação é:

$$IC = \frac{\text{peso seco (g)} \times 10^6}{\text{comprimento(mm)}}$$

Para cálculo do índice de condição, ao término do experimento, os animais eram retirados da concha, através da secção de seus músculos adutores, colocados em recipientes de papel alumínio previamente pesados e numerados e levados à estufa a 60° C, por 14 horas. Depois de secos, e sem a

concha eram pesados em balança digital e os valores utilizados para determinação dos índices de condição.

Para cálculo do índice gonadossomático, as conchas foram abertas através da secção do músculo adutor e as gônadas eram separadas e colocadas em recipientes de papel alumínio previamente pesados e numerados. A massa visceral também passava pelo mesmo processo. Os recipientes eram levados à estufa, a 60°C, por 14 horas. Depois de secos, eram pesados em balança digital.

O índice gonadossomático foi calculado como uma porcentagem da massa total do indivíduo:

$$IG(\%) = \frac{\text{peso da gônada (g)} \times 100}{\text{Peso total (g)}}$$

Após agrupamento, os dados foram analisados pelo Programa STATISTICA (versão 6.0), STATSOFT™ (2003). Primeiramente, verificou-se a homogeneidade das variáveis dependentes pelo Teste de Shapiro-Wilk, com 95% de confiabilidade. Considerando o fato das variáveis analisadas terem apresentado dados que não se adequaram à curva normal de Gauss, efetuou-se a comparação entre as medianas dos diferentes tratamentos constituintes das variáveis independentes (fontes de variação) pelo teste de Kruskal-Wallis.

## DESENVOLVIMENTO GONADAL

A análise do desenvolvimento gonadal foi feita através de técnicas histológicas. A cada mês foram avaliados dez indivíduos de cada sexo. Os espécimes eram fixados em ALFAC (solução de álcool, formalina e ácido acético) por três horas e depois desidratados em álcool 70° por 24 horas; depois de retirados das conchas, clarificados em xilol e incluídos em parafina. A seguir, eram realizados cortes histológicos de 5 µm de espessura em micrótomo Leica RM2125RT e corados com hematoxilina de Harris e eosina. As lâminas foram analisadas em um microscópio Leica DMLS (aumento 200 x), com auxílio do programa Leica Qwin Lite V 2.4 (Imaging Solution®, 1998).

De cada lâmina, foram feitas quatro imagens digitalizadas das gônadas femininas, em campos escolhidos ao acaso, dos quais eram medidos de 4 a 16 ovócitos com nucléolo aparente (16 a 64 ovócitos por lâmina) Assim, o diâmetro dos ovócitos foi utilizado como indicador do estágio de maturação gonadal das fêmeas.

Para determinar o grau de maturação dos indivíduos machos, também foram feitas quatro imagens de cada lâmina. De cada imagem, era medida a área total ocupada pelos folículos e calculada a sua porcentagem de ocupação em relação à totalidade da área amostral, dando origem ao índice de ocupação dos folículos.

Os dados foram analisados estatisticamente através da comparação entre as medianas dos diferentes tratamentos constituintes das variáveis independentes (fontes de variação) pelo teste de Kruskal-Wallis.

#### DENSIDADE DE FORMAS PLANCTÔNICAS DE *L. fortunei* NO RESERVATÓRIO DE ITAIPU

A densidade larval foi determinada através de coletas mensais realizadas no mesmo ponto de coletas. As amostras de plâncton eram obtidas a um metro de profundidade, através da filtração com bomba submersa de um volume de água variável, mas sempre previamente quantificado, utilizando-se rede de plâncton de 64 µm de abertura de malha. A rede era colocada dentro de um balde, para que a pressão da água não danificasse as larvas coletadas. O material filtrado era concentrado e posteriormente transferido para frascos de plástico e fixado com formol tamponado a 4%. As coletas eram realizadas em triplicata e sempre no mesmo ponto amostral.

O material obtido foi triado e identificado quanto aos estágios de desenvolvimento de *L. fortunei*. Para efeito de análise as larvas foram classificadas em larva-D, véliger, umbonada (agrupando larvas umbonadas e pediveliger). Nas análises quantitativas, sob microscópio óptico binocular, eram contados no mínimo 300 indivíduos de todos os grupos presentes no plâncton por amostra, sub-amostrados em Câmara de Sedgwick-Rafter, com capacidade de 1 mL.

## DETERMINAÇÃO DAS TAXAS DE ASSENTAMENTO DOS ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DE *L. fortunei*:

Foram utilizados 13 conjuntos de placas de PVC transparentes, com dimensões de 30 cm x 30 cm. Cada conjunto era composto por duas placas, uma horizontal (placa A) e outra vertical (placa B), ligadas entre si por mosquetões plásticos (Figura 5-1). Essas placas foram colocadas na plataforma de captação de água do reservatório de Itaipu, onde permaneciam imersas por dois meses, antes de serem retiradas e analisadas (Figura 5-1).

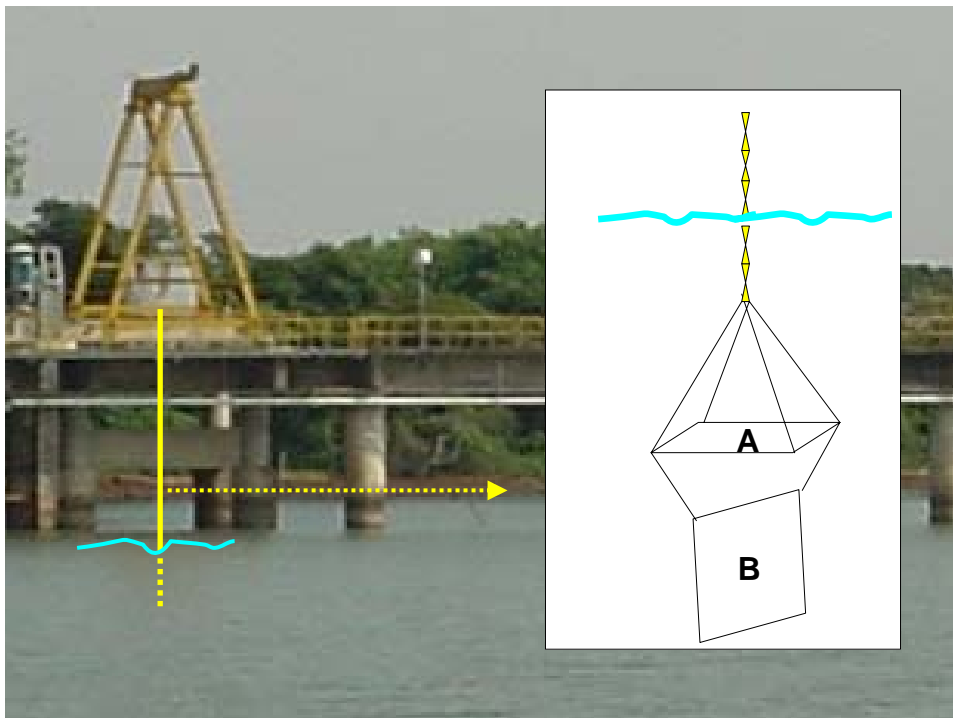


Figura 5-1. Localização das placas de assentamento no Reservatório de Itaipu

Placas/ Datas	SET	OUT	NOV	DEZ	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV
4 A/4B	C		R												
5 A/5B		C		R											
6 A/6B			C		R										
7A/7B				C		R									
8 A/8B					C		R								
9 A/9B						C		R							
10A/10B							C		R						
11A/11B								C		R					
12A/12B									C		R				
13A/13B										C		R			
14A/14B											C		R		
15A/15B												C		R	
16A/16B													C		R

Figura 5-2. Cronograma de colocação das placas no reservatório de Itaipu. C= colocadas; R= retiradas.



Figura 5-3. Placa retirada do reservatório após dois meses de permanência

Ao final desses dois meses de imersão, cada conjunto de placas era separado e embalado individualmente em sacos plásticos, de modo que não houvesse perda de material, e enviado para Curitiba no mesmo dia de sua retirada. No laboratório, a superfície de cada placa (A e B) era cuidadosamente raspada com pincel macio, para a completa retirada do material aderido. Os indivíduos maiores (visíveis a olho nu, Figura 5-3) eram retirados com pinça, classificados e contados e todo esse material era fixado em formol (4%) tamponado, para posterior análise.

Antes da análise, cada amostra era filtrada em peneira de 60  $\mu\text{m}$  de abertura de malha, para a retirada de partículas de sedimentos e algas. O material retido na peneira era então colocado em um béquer, onde era adicionada água, até completar o volume de 1.000 mL. Depois de homogeneizada, de cada amostra eram retiradas oito alíquotas de 3 mL, triadas sob microscópio estereoscópico para contagem e verificação dos estágios de desenvolvimento de *L. fortunei*, sendo calculados os valores médios presentes nessas alíquotas (de 3 mL) e determinada a quantidade total de formas jovens de *L. fortunei* por placa.

O período dessa análise estendeu-se entre setembro de 2004 e dezembro de 2005 e a comparação entre os dados foram feitas através do teste U de Mann-Whitney.

## **5.5. RESULTADOS:**

### ÍNDICE DE CONDIÇÃO (IC) E ÍNDICE GONADAL (IG)

O IG de ambos os sexos apresentou maiores valores no período em que as temperaturas da água no ponto de coleta alcançaram os valores mais elevados (janeiro de 2005), sendo que o índice utilizado para os machos (porcentagem de ocupação dos folículos) registrado no mesmo mês apresentou valores proporcionalmente superiores ao índice utilizado para as fêmeas (diâmetros dos ovócitos). Este foi o único mês em que os IG's de machos e fêmeas apresentaram uma discrepância mais evidente entre seus valores. Nos demais meses, eles seguiram uma tendência e amplitude bastante semelhante de variação (Figura 5-4).



Por outro lado, os valores dos IC's em janeiro de 2005, tanto de machos quanto de fêmeas, foram baixos. Ambos os índices apresentam aumento em seus valores nos meses em que a temperatura foi mais reduzida.

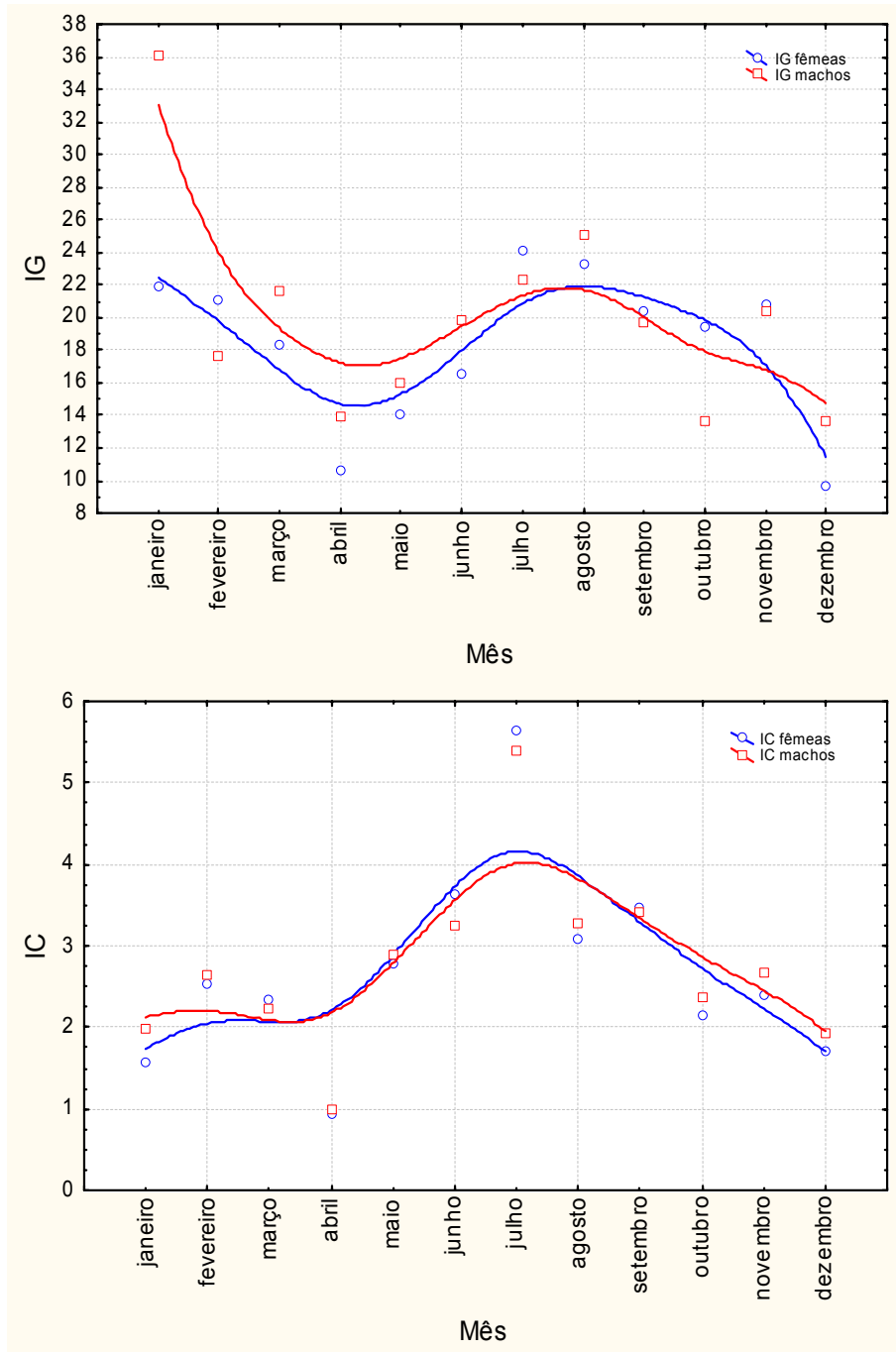


Figura 5-4. Variação temporal do índice gonadosomático (IG) e do índice de condição (IC) de *L. fortunei* no ponto de captação de água da ETA Vila C em 2005.

A análise de regressão entre IC's e a temperatura média da água apresentou índices relativamente baixos, porém significativos de correlação ( $r^2 = 0,4$ ;  $p = 0,04$ ). Porém não houve correlação significativa entre IG's e a temperatura média da água ( $r^2 = 0,022$ ;  $p = 0,67$ ).

Já a análise de regressão entre os IG's de machos e fêmeas apresentou índice de correlação relativamente reduzido, porém significativo ( $r^2 = 0,38$ ;  $p = 0,032$ ). Quando a mesma análise foi feita em relação aos IC's obtidos para machos e fêmeas a correlação foi altíssima e altamente significativa ( $r^2 = 0,97$ ;  $p = 0,000$ ) (Figura 5-5)

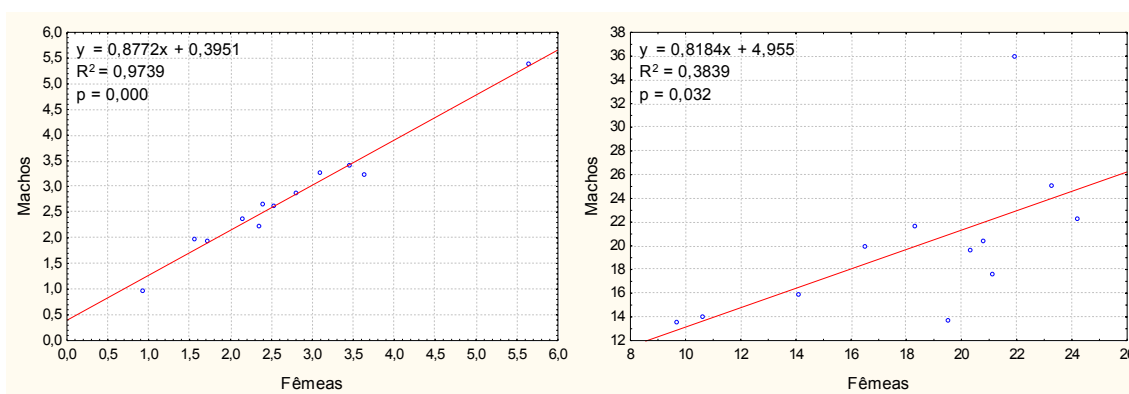


Figura 5-5. Análises de regressão dos índices de condição (esquerda) e dos índices gonadossomáticos entre machos e fêmeas de *L. fortunei*.

#### DESENVOLVIMENTO GONADAL:

Observou-se uma grande variação mensal nos valores dos índices de desenvolvimento gonadal registrados (Figura 5-6). Em alguns meses, como junho de 2005 (que apresentou a maior variação tanto nos machos como nas fêmeas), os valores oscilaram entre 12,3  $\mu\text{m}$  e 70,6  $\mu\text{m}$  (diâmetro dos ovócitos), e entre 9,3% e 73,3% (taxa de ocupação de folículos). O valor máximo de diâmetro de ovócito foi de 84,1  $\mu\text{m}$  registrado em março e o de taxa de ocupação de folículos de 97,3%, registrado no mês de dezembro.

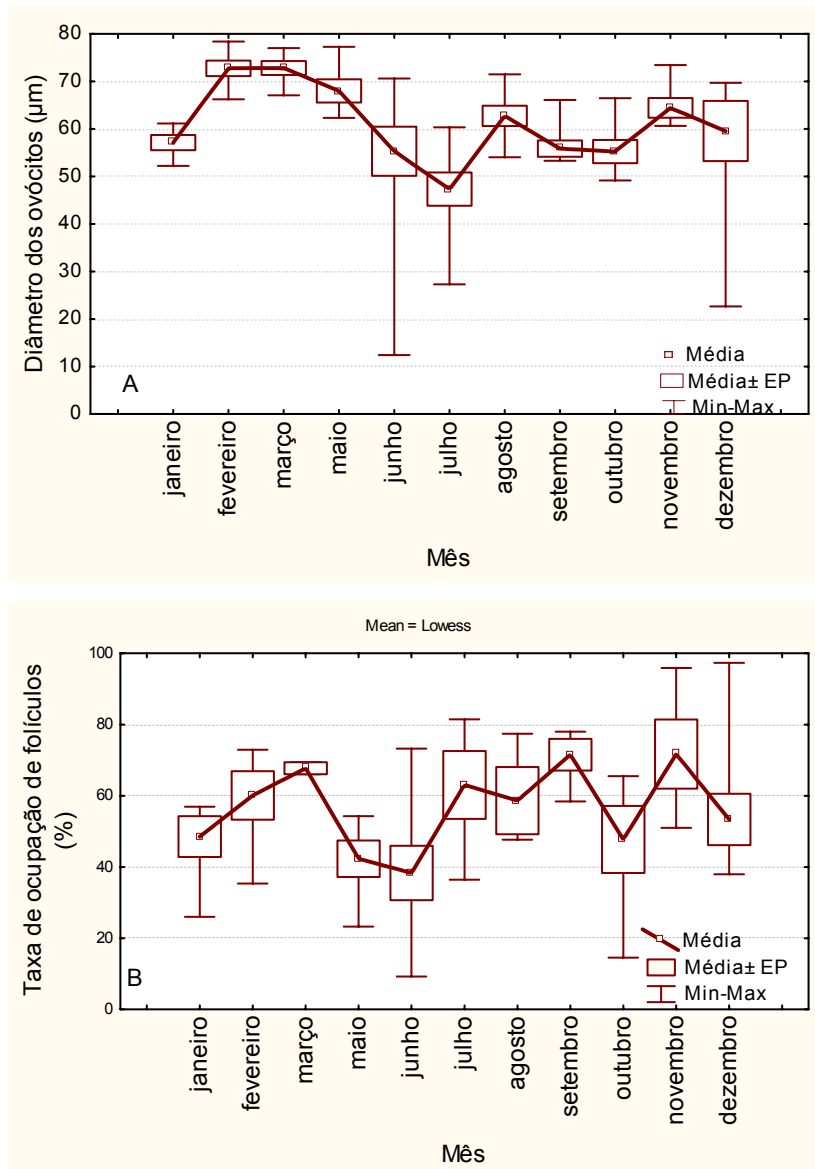
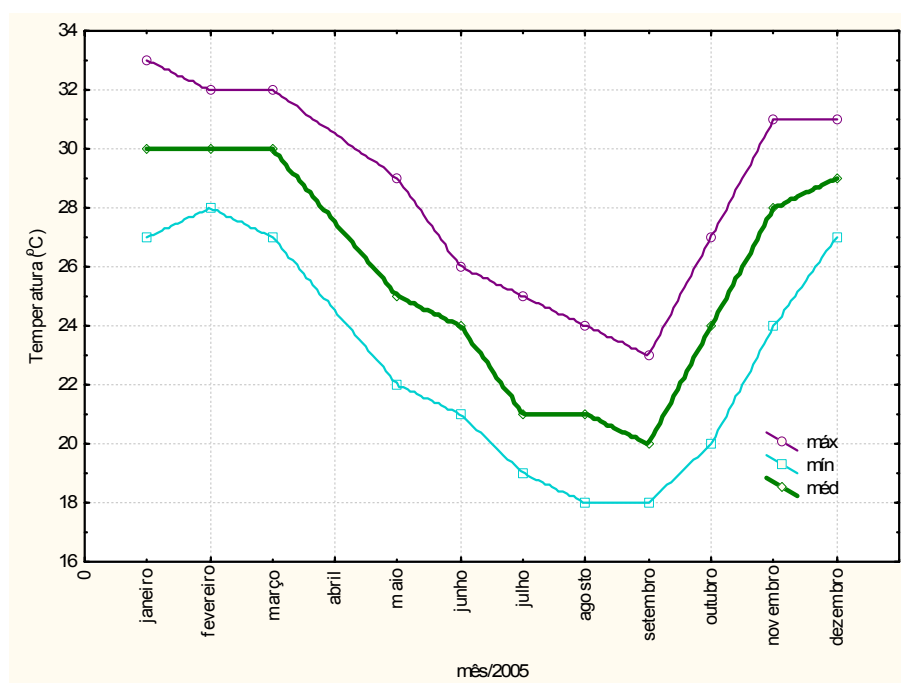


Figura 5-6. Valores médios, mínimos e máximos dos índices de desenvolvimento gonadal de *L. fortunei* no ano de 2005. A) diâmetro dos ovócitos; B) porcentagem de ocupação dos folículos masculinos.

Foram identificados vários picos de desenvolvimento gonadal de *L. fortunei* durante o ano de 2005: entre os meses de fevereiro-março, agosto-setembro e em novembro, no caso das fêmeas, e um pico adicional, em julho, no caso dos machos. Os picos de desenvolvimento gonadal das fêmeas (expresso em diâmetro de ovócitos) aconteceram de forma sincronizada com os dos machos, no primeiro e no último período. No período entre agosto-setembro, não houve concordância entre os picos de desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas (Figura 5-6). Os valores mínimos de desenvolvimento

gonadal aconteceram no período entre junho-julho, época de acentuado declínio na temperatura da água (Figura 5-7).

Por outro lado, observou-se que nos meses de janeiro e dezembro de 2005 foram registrados valores bastante baixos tanto nos diâmetros dos ovócitos quanto no índice de ocupação dos folículos masculinos. Nesse mesmo período, foram registrados os valores mais elevados de temperaturas da água no local de coleta, que chegou a 33°C, segundo dados fornecidos pela Sanepar.



Fonte: Sanepar (dados não publicados)

Figura 5-7. Temperatura da água no reservatório de Itaipu, no ponto de captação de água da ETA Vila C, no ano de 2005

Quando se agrupam os dados por estação do ano, observa-se que houve uma tendência de influência da temperatura sobre os diâmetros dos ovócitos. Os maiores diâmetros médios dos ovócitos foram identificados no verão (temperatura média da estação 30° C), seguidos pelos quantificados durante a primavera (temperatura média 27° C) (Figura 5-8).

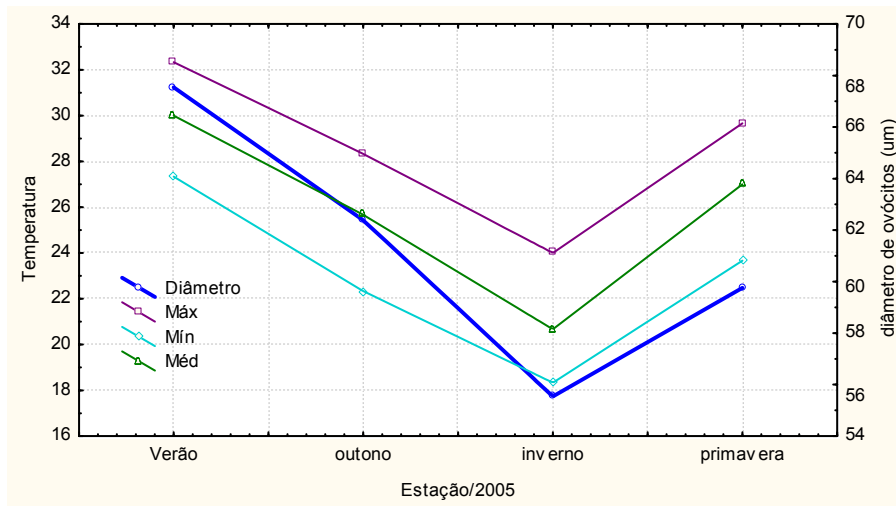


Figura 5-8. Variação média da temperatura da água e do diâmetro médio dos ovócitos de *L. fortunei* segundo as estação do ano.

No caso dos machos, a relação entre o estágio de desenvolvimento gonadal e as diferentes estações do ano não seguiu a mesma tendência de variação em função da temperatura média observada para as fêmeas. Neste caso, o grau mais elevado de desenvolvimento gonadal foi registrado no inverno e o menor no outono. (Figura 5-9).

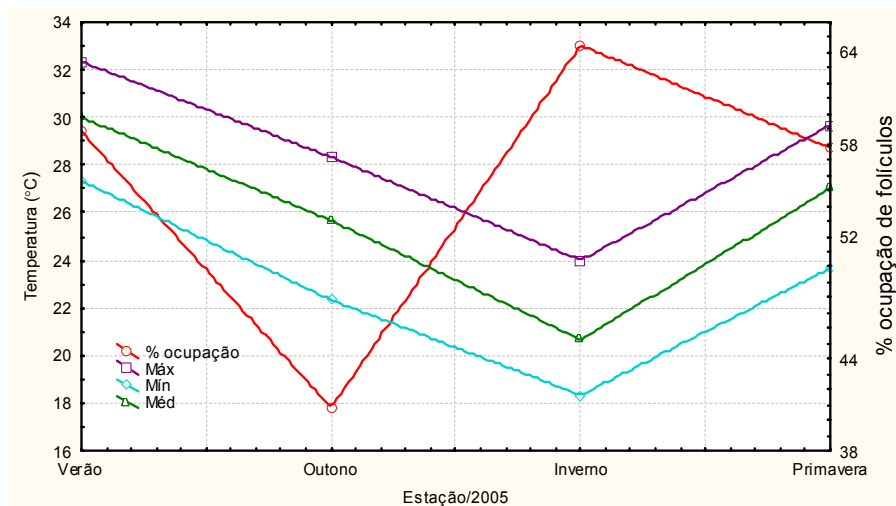


Figura 5-9. Variação média da temperatura da água e da porcentagem de ocupação dos folículos masculinos de *L. fortunei* segundo as estação do ano.

## DENSIDADE LARVAL NO PLÂNCTON:

As coletas realizadas no reservatório de Itaipu ao longo do ano de 2005 mostraram um pico bastante acentuado no número de larvas de *L. fortunei* no plâncton no mês de outubro, com cerca de 17.400 indivíduos/m<sup>3</sup>. Um segundo pico foi registrado no mês de junho. Os menores valores de densidade larval apareceram nos meses de janeiro (temperaturas entre 30-34° C), julho-agosto (17-23 ° C) e dezembro (24-30 ° C), ou seja, nos meses onde foram registradas as temperaturas extremas (Figura 5-10).

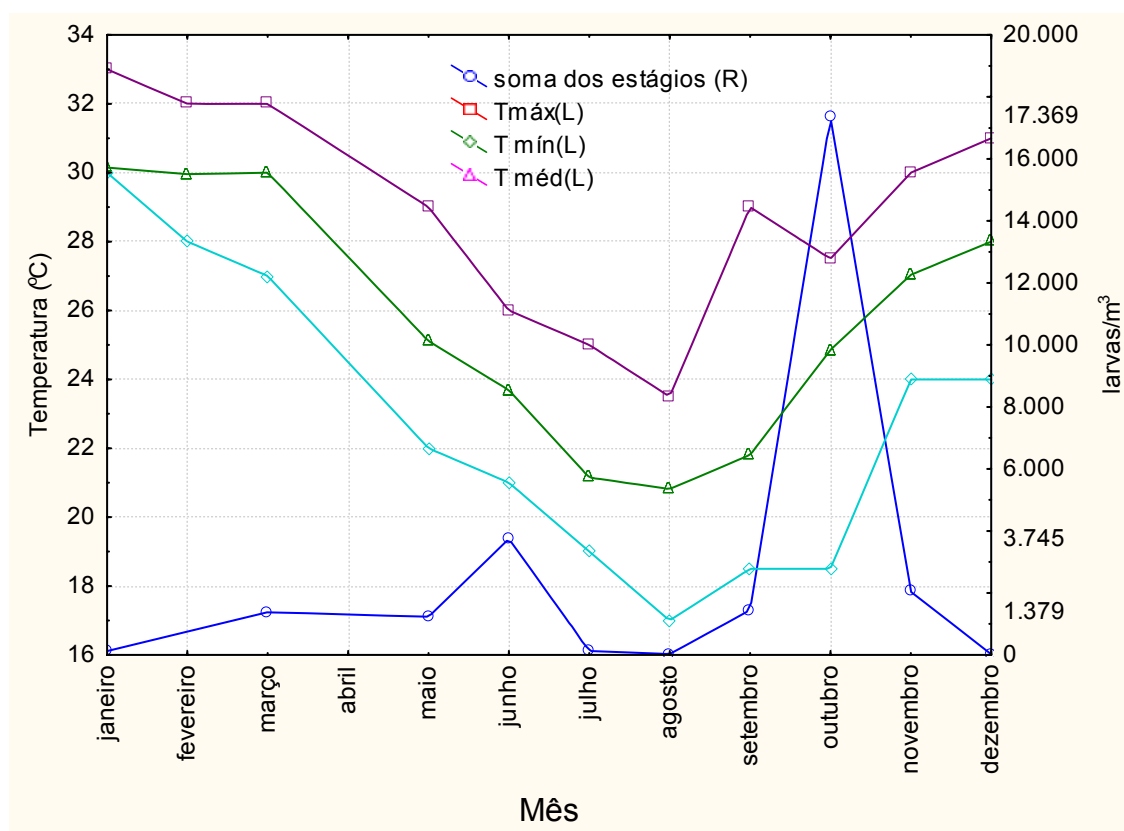


Figura 5-10. Variação temporal da densidade total de larvas de *L. fortunei* no ponto de captação de água da ETA Vila C no ano de 2005.

O pico de larvas registrado no mês de junho ocorreu basicamente em função da quantidade de larvas umbonadas amostradas. Por sua vez, o pico quantificado no mês de outubro foi influenciado principalmente pelas larvas D coletadas nas amostras realizadas, embora também tenha sido elevado o número de larvas véliger e umbonadas nas amostras. (Figura 5-11).

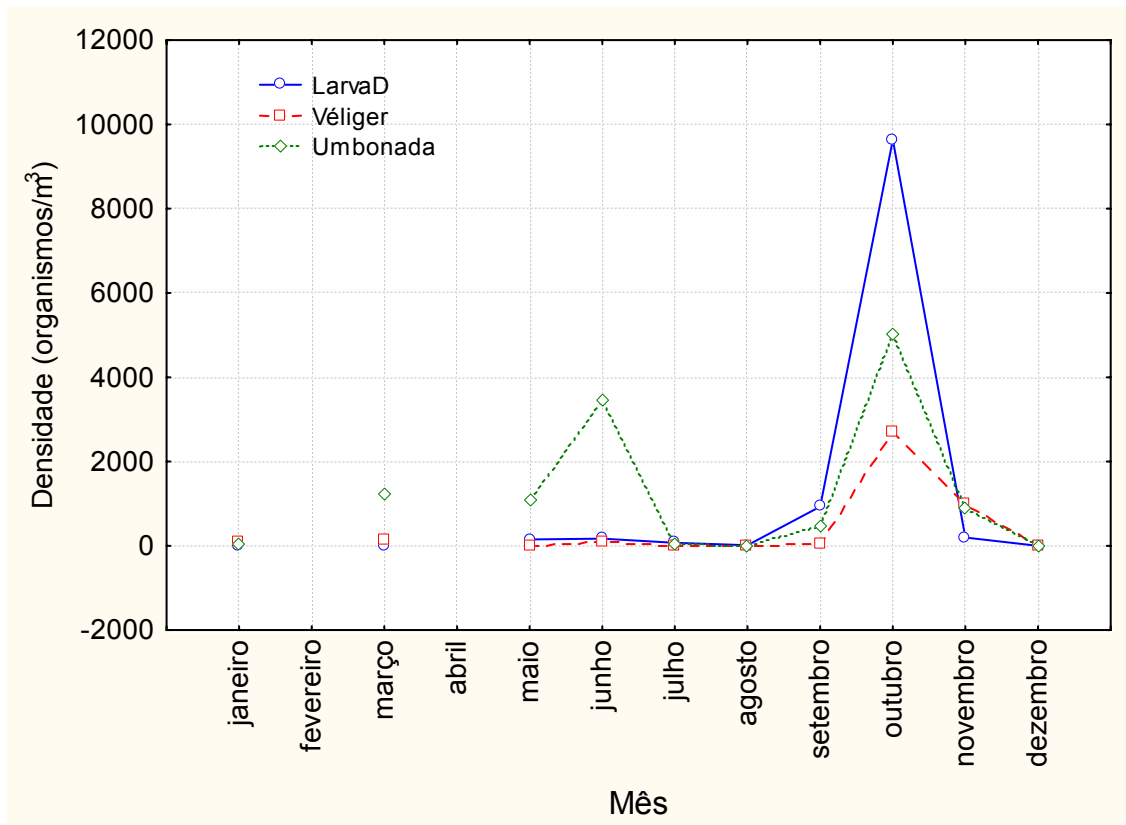


Figura 5-11. Variação temporal da densidade dos diferentes estágios larvais de *L. fortunei* no ponto de captação de água da ETA Vila C no ano de 2005.

#### TAXAS DE ASSENTAMENTO:

Após a retirada do primeiro conjunto de placas, foi possível estabelecer a divisão dos animais assentados em três categorias, segundo seu comprimento e estágio de desenvolvimento: larvas (menores que 5mm), juvenis entre 6 e 15 mm e juvenis maiores que 15 mm.

Indivíduos menores que 5 mm:

Quando analisados globalmente, durante todo o período monitorado, a taxa de assentamento de organismos menores que 5 mm foi maior nas placas A (horizontais) do que nas placas B (verticais) ( $p= 0,025$ ).

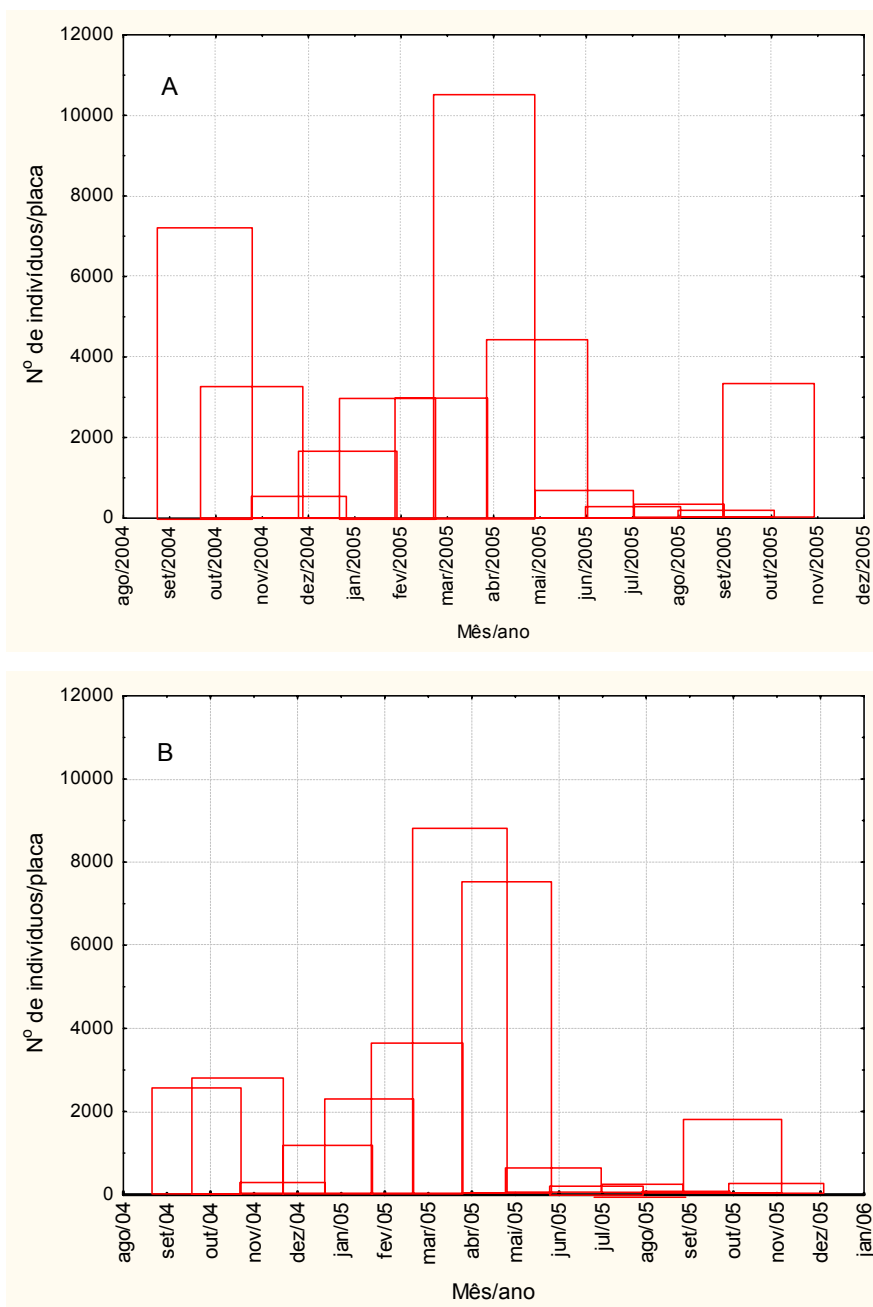


Figura 5-12. Assentamento de indivíduos menores que 5 mm: A) placas horizontais; B) placas verticais.

Foram registrados dois picos de assentamento de indivíduos menores que 5 mm nas placas horizontais: entre setembro e novembro de 2004 e entre março e maio de 2005. Nas placas posicionadas verticalmente houve apenas um pico: entre março e junho de 2005 (Figura 5-12).



Indivíduos iguais ou maiores que 6 mm:

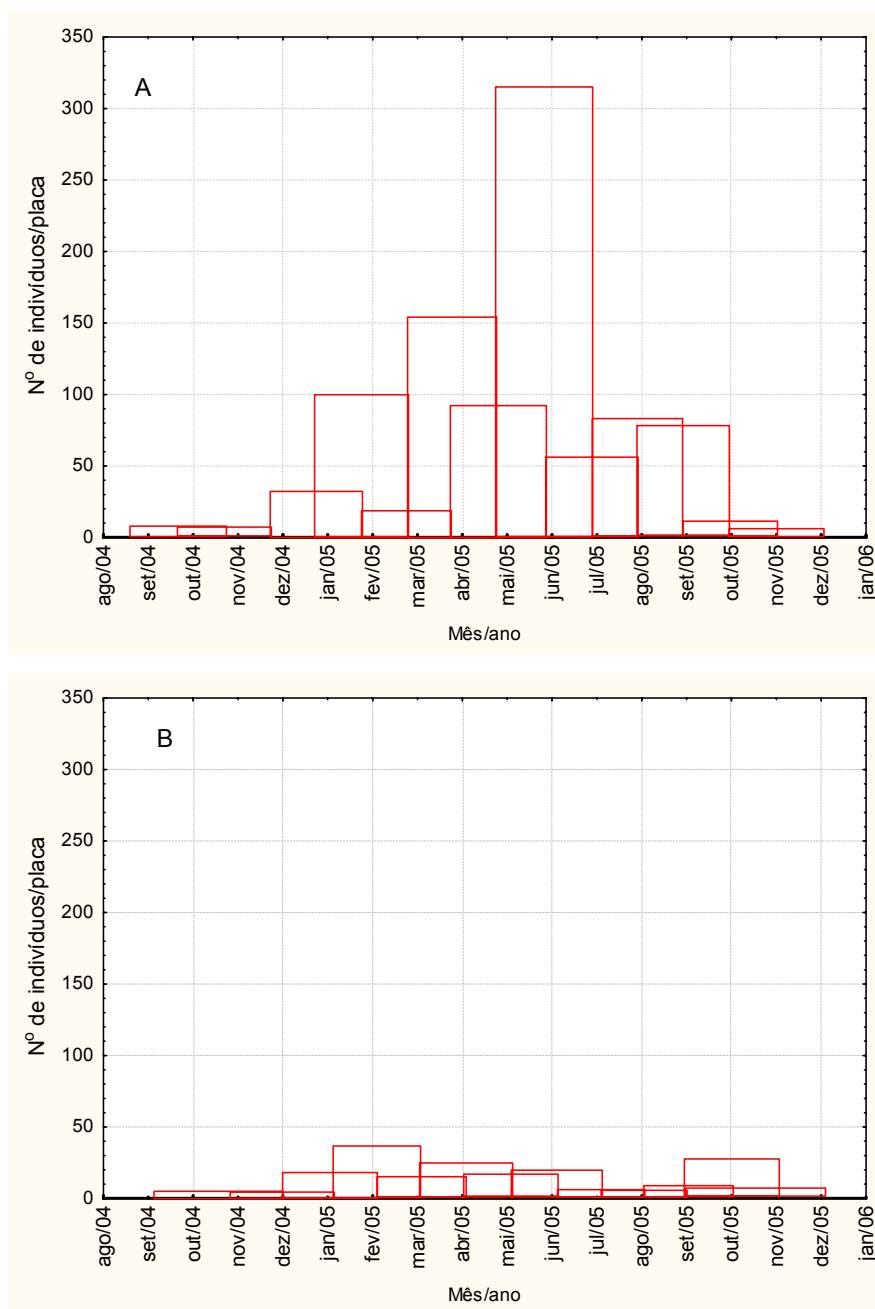


Figura 5-13 Assentamento de indivíduos maiores ou iguais a 6 mm: A) placas horizontais; B) placas verticais.

Também no caso de organismos maiores ou iguais a 6 mm, a taxa de assentamento foi significativamente maior nas placas horizontais que nas verticais ( $p=0,016$ ) (Figura 5-13).

Houve um pico de assentamento entre os meses de maio a julho de 2005, mas apenas nas placas horizontais. Nas placas verticais não foram detectados períodos de significativo aumento nas taxas de assentamento.

Indivíduos iguais ou maiores que 15 mm:

Os valores de assentamento de indivíduos da classe de comprimento maior ou igual a 15 mm nas placas horizontais foram bastante superiores aos quantificados nas , placas verticais.

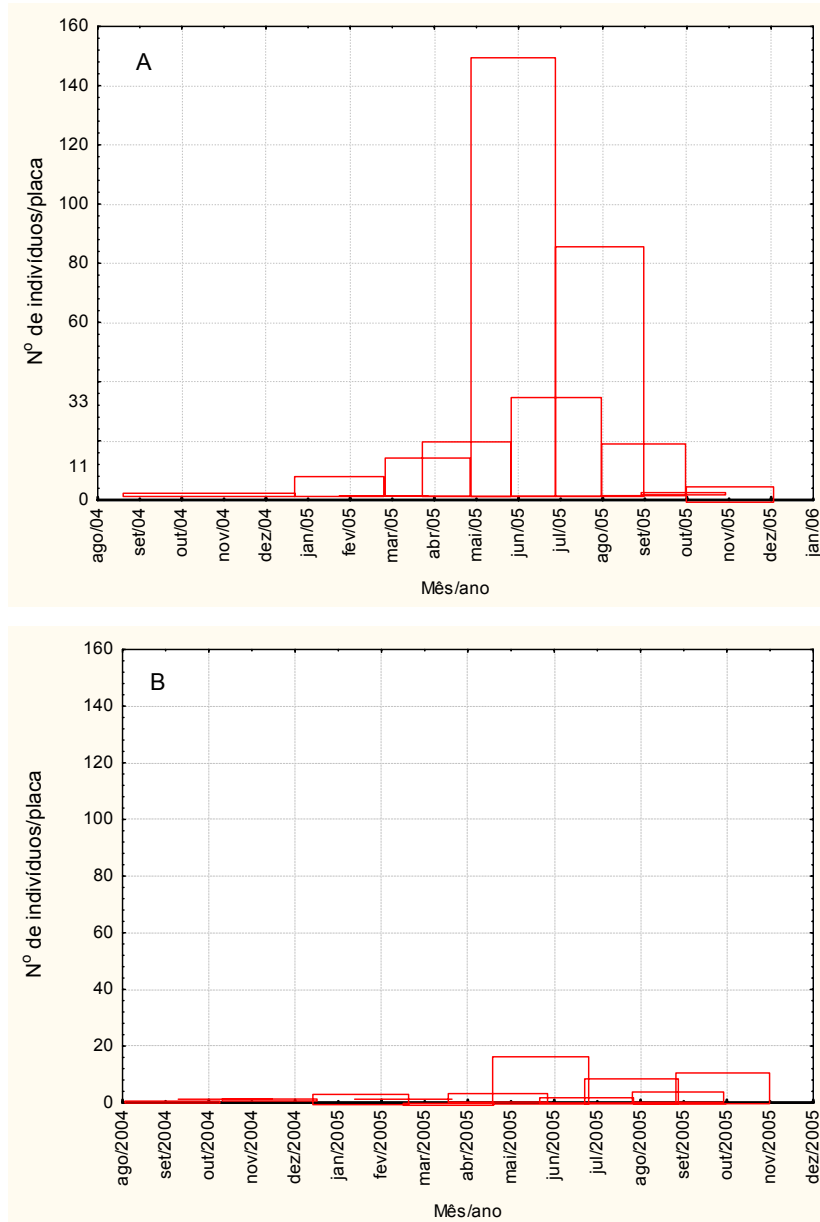


Figura 5-14 Assentamento de indivíduos maiores ou iguais a 15 mm. A) placas horizontais; B) placas verticais.

Nesse primeiro caso, foi registrado um pico de assentamento entre os meses de maio a setembro de 2005 (Figura 5-14).

## 5.6. DISCUSSÃO:

### ÍNDICES DE CONDIÇÃO E DE DESENVOLVIMENTO GONADAL:

Os valores médios registrados para os diâmetros dos ovócitos de *L. fortunei* quantificados neste trabalho foram compatíveis com os registrados por Darrigran et al. (1999), que monitoraram o ciclo reprodutivo de *L. fortunei* no rio de la Plata (Argentina), com médias entre 41,19  $\mu\text{m}$  (agosto) e 64,37  $\mu\text{m}$  (fevereiro).

As diferenças entre os diâmetros dos ovócitos no mesmo período podem corresponder a uma resposta flexível à disponibilidade de fitoplâncton (Le Pennee & Beninger, 2000), uma vez que a atividade reprodutiva em bivalves é uma interação entre fatores externos como disponibilidade de alimento, temperatura, salinidade, luz, entre outros, e fatores internos (Rodríguez-Moscoso & Arnaiz, 1998).

Os picos quantificados em fevereiro-março e em agosto-setembro se refletiram na densidade dos estágios de desenvolvimento larval e nas taxas de assentamento (indivíduos menores que 5 mm), que apresentaram valores elevados nos períodos entre março e junho e setembro-outubro. Esses resultados corroboram os resultados obtidos por Morton (1982), que afirma que temperaturas crescentes e em declínio (aproximadamente entre 27-28°C e entre 16-17°C) claramente orientam a gametogênese de *L. fortunei* e estimulam a desova. Assim sendo, os períodos reprodutivos da espécie estariam correlacionados com temperaturas máximas e mínimas. Temperaturas extremas podem também inibir a desova, apesar de serem menos limitantes em climas mais quentes (Moore & Reish, 1969, citado por Morton, op.cit.).

No presente estudo não foi observada uma correlação direta entre os índices de condição (IC) e os índices gonadossomáticos (IG), especialmente nos meses de temperaturas mais altas. Essa falta de correlação pode ser explicada de várias formas: as gônadas são tecidos energeticamente mais ricos e crescem com mais eficiência do que os tecidos somáticos (Sprung, 1991); todo o esforço energético realizado é direcionado para a reprodução, uma vez que os gastos energéticos como consumo de oxigênio, por exemplo, são mais altos em temperaturas mais altas (Stoeckmann & Garton, 1997); e,

por fim, se a energia é limitada, os indivíduos abrem mão do crescimento somático e de concha para desenvolvimento do tecido gonadal (Chase & Bailey, 1999).

O alto grau de correlação apresentado pelo IC entre machos e fêmeas ( $r^2 = 0,97$ ) indica que ambos os sexos respondem de forma bastante semelhante às condições alimentares. Já as condições reprodutivas expressas através do IG parecem não seguir a mesma tendência entre os sexos.

O fato do diâmetro dos ovócitos e da taxa de ocupação de folículos ter apresentado valores baixos em janeiro, ao contrário do que ocorreu com o IG no mesmo mês, indica que as gônadas se desenvolvem, mas as células reprodutivas dependem da existência de alimento ou de reservas energéticas para evoluir até um estágio mais avançado de maturação. Além disso, o IC baixo no mesmo período sugere que a massa visceral dos indivíduos esteja menor que a habitual, e, com isso, o peso das gônadas em relação à massa total acaba se sobressaindo.

A aparente falta de sincronia registrada no presente trabalho entre o grau de desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas nos períodos do ano em que as temperaturas registradas foram as mais baixas pode estar relacionada ao custo energético para produção de células reprodutivas.

O modelo de custo energético sexo-dependente argumenta que há diferença nos requerimentos de produção de gametas: a produção feminina necessitaria maiores custos energéticos do que a masculina, e que essa ocorreria mais rapidamente (Baeza & Bauer, 2004).

Mesmo que não tenha havido coincidência nas curvas apresentadas por ambos os sexos no mês mais frio (agosto), quando as fêmeas registraram elevados valores de diâmetros dos ovócitos, apesar de ter sido registrada uma queda acentuada nos índices de ocupação foliculares dos machos, muito provavelmente havia espermatozóides maduros em quantidade suficiente para promover a fecundação.

Dessa forma, os quatro picos de maturidade masculina apresentados por *L.fortunei* ao longo de 2005 sugerem que machos apresentam espermatozóides viáveis durante todo o ano, independentemente da temperatura da água, o que corroboraria conclusão semelhante de Darrigran et al (op. cit.).

A assincronia entre a liberação de gametas masculinos e femininos em uma população seria reflexo da assincronia entre o desenvolvimento desses gametas, o que poderia possibilitar a extensão do período reprodutivo ao longo do ano (Henley, 2002), o que para uma espécie invasora seria uma grande vantagem adaptativa.

#### DENSIDADE LARVAL NO PLÂNCTON

A densidade larval registrada durante o presente estudo (janeiro-dezembro de 2005) foi bem mais baixa do que a registrada por Cataldo & Boltovskoy (2000) na região do Baixo Paraná e do estuário do Rio da Prata (Argentina), no período entre setembro de 1997 e janeiro de 1999. Naquela região, os autores encontraram densidades de até 33.706 larvas/m<sup>3</sup> (fevereiro de 1998).

No relatório apresentado por Boltovskoy & Cataldo (2003) sobre as tentativas de controle de bivalves invasores na Hidrelétrica de Itaipu, foi observado que a grande maioria dos valores de densidade larval no reservatório se encontrava, no período monitorado (março de 2002 a abril de 2003), abaixo de 500 larvas/m<sup>3</sup> em média e muito raramente ultrapassaram 1.500 larvas/m<sup>3</sup> e somente um mês com registros superiores a 2.000 larvas/m<sup>3</sup> (março de 2003). No relatório, autores compararam esses dados com o trabalho anteriormente citado (Cataldo & Boltovskoy, 2000), onde as densidades eram superiores a 10.000, chegando a 20.000 larvas/m<sup>3</sup>, sendo que a média anual para o Baixo rio Paraná e rio da Prata variou entre 4.600-4.900 larvas/m<sup>3</sup> e do reservatório de Itaipu foi de 320 larvas/m<sup>3</sup>. Os autores justificaram essa grande diferença pela introdução relativamente recente da espécie no reservatório de Itaipu (registrada em 2000 por Zanella & Marena, 2002), contra os quase 10 anos da presença de *L. fortunei*, na ocasião do estudo no Baixo rio Paraná e rio da Prata.

A densidade larval obtida no presente trabalho registrou a média para o ano de 2005 de 2.755 larvas/m<sup>3</sup>, com pico de 17.369 larvas/m<sup>3</sup> no mês de outubro do mesmo ano. Portanto, percebe-se um aumento bastante importante da presença da espécie no reservatório, pois a densidade máxima de larvas cresceu 8,6 vezes em apenas dois anos.

Em relação à variação temporal da densidade de cada estágio larval de *L. fortunei* no plâncton, os dados revelam uma aparente contradição, pois entre maio e junho a maior abundância quantificada ocorreu com larvas aqui classificadas como umbonadas (categoria que incluía também as larvas pedivéliger). É importante citar que Cataldo & Boltovskoy (2000) também observaram situações semelhantes. Os autores explicaram o fato como função da duração diferencial de cada estágio larval planctônico da espécie.

Os estudos com densidade larval de *L. fortunei* indicam a existência de um período de pausa na reprodução da espécie. No Baixo Paraná, as larvas praticamente desaparecem do plâncton os meses de maio e julho (temperaturas entre 16-17 °C, com mínimas de 12 °C) (Boltovskoy & Cataldo, 2003). No reservatório de Itaipu esse período estendeu-se de julho a setembro, segundo estudo realizado por Boltovskoy & Cataldo (op cit), e entre os meses de julho e agosto, segundo o que foi observado no presente estudo.

A atividade reprodutiva de *L. fortunei* está, segundo os resultados obtidos, relacionada aos efeitos da temperatura da água sobre o desenvolvimento dos ovócitos, pois a produção de espermatozóides, apesar de sofrer oscilações, parece ocorrer ao longo de todo o ano,. Assim como existe a pausa na reprodução nos meses de temperatura mais baixas, o decréscimo na densidade larval nos meses onde as temperaturas ultrapassam a marca dos 30 °C (janeiro e fevereiro) e nos valores de desenvolvimento gonadal (diâmetro dos ovócitos e ocupação dos folículos), sugerem a existência de um limite superior de temperatura afetando as taxas reprodutivas de *L. fortunei*.

#### ASSENTAMENTO EM SUBSTRATOS ARTIFICIAIS:

Segundo Garton & Haag (1993), o assentamento larval mostra grande variabilidade espaço-temporal, provavelmente porque reflete a mesma variabilidade no estoque de larvas. Em se tratando de um organismo invasor como *L. fortunei*, é importante a determinação dessa flutuação, principalmente na região do presente estudo, que, além de fornecer a água utilizada na usina hidrelétrica de Itaipu, serve de ponto de captação de água destinada ao consumo de grande parte da população do município de Foz do Iguaçu.

O número de indivíduos menores que 5 mm assentados nos substratos artificiais no período entre março-junho de 2005 apresentou sincronia com o desenvolvimento gonadal dos indivíduos adultos, que atingiu valores bastante altos no mês de fevereiro. Assim, as larvas menores que 5 mm estariam aptas a se fixar no período entre março e maio. Segundo Cataldo et al (2005), o tempo de metamorfose desde a desova até larvas umbonadas pode levar entre 7 a 14 dias nas temperaturas entre 25-28° C. Da mesma forma, os altos valores de assentamento quantificados nos períodos setembro – novembro de 2004 no mesmo período de 2005 podem ter sido em decorrência do desenvolvimento gonadal registrado entre agosto e setembro.

Os dados relativos à densidade de larvas no plâncton quantificados no período parecem confirmar tais afirmações. A maior quantidade de larvas encontradas no reservatório ocorreu em outubro de 2005.

É preciso considerar que a dispersão de *L. fortunei* não acontece somente durante sua fase larval planctônica. Como ficou demonstrado no presente trabalho, juvenis e adultos podem se soltar de um local e se fixar em outro, com nova formação de bisso. A dispersão em estágios mais avançados de desenvolvimento (pós-metamórfico) é comum em bivalves e gastrópodes marinhos, sendo bastante importante no processo de dispersão e colonização (Martel & Chia, 1991). Esses autores discutem que tais invertebrados teriam um mecanismo alternativo e eficiente de dispersão e que esse mecanismo aumentaria as oportunidades de transporte, com maiores distâncias de dispersão.

Esse comportamento também já foi observado para o mexilhão zebra (*D. polymorpha*). Johnson & Carlton (1996), analisando a rápida colonização da espécie na América do Norte concluíram que ela está relacionada, provavelmente, à dispersão de adultos pelos mais variados vetores.

Martel (1993) realizou um trabalho bastante detalhado a respeito do comportamento de transporte de formas juvenis (pós-metamórficas) do mexilhão zebra pela água. Segundo o autor, o principal mecanismo desse tipo de dispersão envolve a produção de filamentos de muco, que atuaria como âncora, aumentando a força de resistência hidrodinâmica e permitindo a suspensão na coluna d'água através da corrente de água. O autor afirma ainda que essas formas pós-metamórficas têm maior potencial de colonização que as

próprias larvas, uma vez que já passaram pelo estresse da metamorfose e pela transição da vida plantônica para bentônica, um período que geralmente apresenta altas taxas de mortalidade. O mesmo autor afirma que há possibilidade desse tipo de transporte acontecer por longas distâncias, de centenas de metros ou até mesmo de quilômetros, se transportados por correntes de deriva de superfície.

O fato de indivíduos maiores terem se fixado nas placas indica que, assim como *D. polymorpha* e algumas espécies de bivalves marinhos, *L. fortunei* também apresenta capacidade de se destacar do local onde já estava fixado e ser levado por correntes até um outro local, onde poderá se fixar. Dessa forma, a capacidade de incrustação da espécie não se restringe às fases larvais, ampliando a extensão da invasão.

Conforme observações feitas nos aquários de manutenção de mexilhões dourados mantidos no GIA (UFPR), em Curitiba, essa espécie tem possibilidade de utilizar o pé como “leme” e apoio na flutuação, direcionando essa flutuação.

## **5.7. CONCLUSÕES:**

Os processos que regeram o ciclo reprodutivo de *L. fortunei* no ambiente estudado aconteceram em dois períodos principais: entre fevereiro e junho e entre agosto e outubro, épocas não coincidentes com as variações extremas de temperatura da água. Entre esses períodos, a reprodução não cessou, mas foram registrados eventos menos pronunciados de produção larval.

Com o comportamento reprodutivo descrito neste trabalho, *L. fortunei* reafirma sua condição espécie r-estrategista. Quando comparado com outro bivalve invasor, *D. polymorpha* (mexilhão zebra), espécie que vem causando grandes danos na América do Norte, conclui-se que a capacidade de invasão de *L. fortunei* possivelmente seja muito mais pronunciada que a do mexilhão-zebra, já que no Hemisfério Norte somente costuma ser registrado um único pico anual de reprodução, pelo fato das estações serem bastante marcadas. Além disso, *L. fortunei* apresenta marcante capacidade de deslocamento na fase pós-planctônica, aumentando as possibilidades de dispersão e invasão de novos ambientes.



As características supra-citadas aliadas às condições climáticas da região onde o reservatório de Itaipu está localizado fazem desse reservatório um local propício para desenvolvimento da espécie, de modo que a tendência é que os problemas ambientais e econômicos advindos da proliferação de *L. fortunei* no local venham a se agravar nos próximos anos.

## 5.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baeza, J.E. & Bauer R. T. Experimental test of socially mediated sex change in a protandric simultaneous hermaphrodite, the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea:Hippolytidae). **Behavioral Ecology And Sociobiology** v.55 p.544 –550. 2004

Boltovskoy, D. & Cataldo, D. H. Estudios de evaluación, monitoreo y análisis de medidas de control de incrustaciones de moluscos bivalvos (*Limnoperna fortunei*) en las instalaciones de la Central Hidroeléctrica Itaipu. **Relatório Técnico**.2003

Boltovskoy, D. & Cataldo, D. H. Population Dynamics of *Limnoperna fortunei*, an Invasive Fouling Mollusc, in the Lower Parana River (Argentina). **Biofouling** v.14 n.3 p. 255-263. 1999.

Cataldo, D.; Boltovskoy, D.; Hermosa, J.L. & Canzi, C. Temperature-dependent rates of larval development in *Limnoperna fortunei* (BIVALVIA:MYTILIDAE) **Journal of Molluscan Studies** V.71. p. 41-46. 2005.

Cataldo, D.H & Boltovskoy, D. Yearly reproductive activity of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) as inferred from the occurrence of its larvae in the plankton of the lower Paraná river and the Rio da Prata estuary (Argentina). **Aquatic Ecology** v.34 p.307-317. 2000.

Chase, M. E. & Bailey, R. The Ecology of the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) in the Lower Great Lakes of North America: II. Total Production, Energy Allocation, and Reproductive Effort. **Journal of Great Lakes Research** . v. 25 n.1 p. 122-134. 1999

Claudi, R. & Mackie, G.L **Practical Manual for zebra mussel monitoring and control**. Lewis Publishers. Boca Raton. Florida. USA. 1994

Darrigran G, Penchaszadeh P, Damborenea MC. 1999. The reproductive cycle of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857)(Mytilidae) from a neotropical temperate locality. *J. Shellfish Res.*, 18:361-365.

Garton, D. W. and Haag, W. D. Seasonal reproductive cycles and settlement patterns of *Dreissena polymorpha* in western Lake Erie. p. 111-128 In: **Zebra mussels: Biology, Impacts, and Control**. (eds. T. F. Nalepa and D. W. Schloesser). Lewis Publishers. Boca Raton, Florida .USA 1993.

Garton, D.W. & Haag, W. Heterozygosity, shell length and metabolism in the european mussel, *Dreissena polymorpha*, from a recently established population in Lake Erie. **Comparative Biochemistry and Physiology** v. 99A n.1/2 p. 45-48. 1991.

Henley, W.F. Evaluation of diet, gametogenesis, and hermaphroditism in freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae) Ph.D. Dissertation . Virginia Polytechnic Institute and State University. 148 p. 2002.

Johnson, L.E. & Carlton, J.T. Post-establishment spread in large-scale invasions: dispersal mechanisms of the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. **Ecology** v.77 n.6 p.1686-1690. 1996.

Mackie, G.L. Biology of the exotic zebra mussel *Dreissena polymorpha* in relation to native bivalves and its potential impacts in Lake St Clau. **Hydrobiologia** v.219 p. 215. 1991.

Mansur, M.C.D; Quevedo, C.B; Santos, C.P. & Callil C.T. Prováveis vias de introdução de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) na Bacia da Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul e novos registros de invasão no Brasil pelas Bacias do Paraná e Paraguai in **Água de lastro e bioinvasão**, capítulo 4, páginas 33-38. Editores Julieta Salles Vianna da Silva & Rosa Cristina Corrêa Luz de Souza. Editora Interciência. 2004.

Martel, A. & Chia, F.S Drifting and dispersal of small bivalves and gastropods with direct development . **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v.150 n.1 p. 131-147. 1991.

Martel, A. Dispersal and recruitment of zebra mussel ( *Dreissena polymorpha*) in a nearshore area in West-central Lake Erie: the significance of postmetamorphic drifting. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v.50 p. 3-12. 1993.

Morton, B. The population dynamics of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (BIVALVIA:MYTILACEA) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. **Malacologia** v.16 n.1 p. 165-182. 1977.

Morton, B. The reproductive cycle in *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (BIVALVIA:MYTILIDAE) fouling Hong Kong's raw water supply system. **Oceanology and Limnology Sinica**. v.13 p.312-325. 1982

Pastorino, G., G. Darrigran, S.M. Martin, and L. Lunaschi. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del Rio da Prata. **Neotropica** v.39 p. 34-36. 1993.

Rodriguez-Moscoso, E. & Arnaiz, R. Gametogenesis and energy storage in a population of the grooved carpet-shell clam, *Tapes decussates* Linne, 1787, in northwest Spain. **Aquaculture** v.162 p.125–139. 1998

Sprung, M. Costs of reproduction: a study on metabolic requirements of the gonads and fecundity of the bivalve *Dreissena polymorpha*. **Malacologia** v. 33 n.1-2.p. 63-70. 1991.

Stoeckmann, A. M. & Garton, D. W. A seasonal energy budget for zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) in western Lake Erie. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v.54 p.2743–2751. 1997

Von Rückert, G., Campos, M.C.S & Rolla, M.E Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de Cyanobacteria **Acta Scientiarum Biological Sciences** Maringá v.26 n.4 p. 421-429. 2004

Zanella, O.& Marenha, L. D. Ocorrência de *Limnoperna fortunei* na Central Hidrelétrica de Itaipu. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MALACOLOGIA, 5., São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Instituto Butantan/ Instituto de Biociências-USP, 2002. p.41. 2002.

## **6. ANÁLISE COMPARATIVA DA DENSIDADE LARVAL DE *Limnoperna fortunei* EM DOIS PONTOS DOS RIOS IGUAÇU E PARANÁ NA REGIÃO DE FOZ DO IGUAÇU, PARANÁ, BRASIL.**

### **6.1. RESUMO:**

A densidade larval do molusco invasor *Limnoperna fortunei* foi monitorada ao longo do ano de 2005, em dois pontos dos rios Paraná e Iguaçu, na região de Foz do Iguaçu, PR. Os resultados registraram dois picos de densidade no rio Paraná: entre março e junho e um maior em outubro. No rio Iguaçu, os valores foram muito inferiores, mas também com um pico entre setembro-outubro. Em ambos os rios foi verificada uma pausa reprodutiva entre os meses de julho-agosto. A densidade média de larvas de *L. fortunei* no ponto amostrado no rio Paraná chegou a 1.114,8 larvas/m<sup>3</sup>, com pico de 2.999,5 larvas/m<sup>3</sup>. A densidade larval de *L. fortunei* é registrada pela primeira vez no rio Iguaçu, a jusante das Cataratas do Iguaçu.

### **6.2. ABSTRACT**

The larval density of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* was monitored in the year of 2005, in two points of along the Paraná and Iguaçu Rivers near Foz do Iguaçu, PR, Brazil. The results indicated two density peaks in the Paraná River: a lower peak between March and June and a higher peak in October. In the Iguaçu River, the values were much lower, yet they also showed a peak between September and October. A cessation in reproductive activity was observed in both rivers between July and August. The average larval density in the collection point in the Paraná reached 1,114.8 larvae/m<sup>3</sup>, with peaks of 2,999.5 larvae/m<sup>3</sup>. The larval density of *L. fortunei* was recorded in the first time downstream of the Iguaçu Falls.

### **6.3. INTRODUÇÃO:**

A presença do molusco invasor *Limnoperna fortunei*, originário do sudeste asiático, foi registrada pela primeira vez no continente em 1991 (Pastorino et al., 1993). Desde então, vem expandindo rapidamente sua área de ocorrência na América do Sul. Além do estuário do rio da Prata, sua presença já foi detectada em várias bacias do Paraguai e Uruguai, sendo tratado como um sério problema para instalações industriais, estações de tratamento e distribuição de água e usinas hidrelétricas, grandes usuários das águas dessas bacias (Darrigran et al., 1998; Cataldo & Boltovskoy, 2000).

No Brasil, sua ocorrência está descrita para as bacias do rio Paraguai, Uruguai, Lago Guaíba (Mansur et al., 1999), Lagoa dos Patos (Capitoli & Bemvenuti, 2004), rio Tietê (MMA, 2004). Oliveira et al. (2004), detectaram a presença da espécie ao longo de toda a extensão do rio Paraguai, desde sua foz, no rio Paraná, até o rio Apa, extremo sul da bacia do Alto Paraguai (MS). Vários autores já registraram a presença de *L. fortunei* ao longo do rio Paraná (Zanella & Marena, 2002; Takeda et al., 2003; Avelar et al., 2004),

O rio Paraná tem 2.739 km de extensão e, segundo Depetris & Kempe (1993), possui a segunda maior bacia de drenagem da América do Sul (2,6 X 10<sup>6</sup> km<sup>2</sup>), drenando áreas do Brasil, Bolívia, Paraguai, Argentina e Uruguai. Estima-se que o sistema hidroviário Paraná-Paraguai movimente mais de seis milhões de toneladas de carga por ano (Silveira, 2005). Esse transporte de carga deve ser considerado como um meio potencial de dispersão do mexilhão dourado ao longo do rio Paraná.

Em extensão desse rio existem usinas hidrelétricas de grande e médio portes (Itaipu, Ilha Solteira, Jupiá e Porto Primavera) e a presença do mexilhão dourado foi reportada em todas elas (Oliveira, 2004). Oliveira et al (2000) consideraram que o sistema hidroviário Paraguai-Paraná é o principal meio de dispersão de *L. fortunei* para o centro do Brasil.

Apesar da importância dessa bacia e do fato de que a colonização desse ambiente pela espécie ser considerada irreversível e sua dispersão por outros sistemas da América do Sul ser apenas uma questão de tempo (Cataldo & Boltovskoy, 2000), há poucos dados disponíveis a respeito de sua ocorrência na porção brasileira do rio Paraná. Em um dos poucos registros - sob a forma de um relatório - Boltovskoy & Cataldo (2003) analisaram a presença de formas larvais no reservatório de Itaipu (Foz do Iguaçu, PR) durante os anos de 2002 e 2003.

Em relação ao rio Iguaçu, há igual ou ainda maior escassez de informações. Belz et al. (2005) realizaram a prospecção do molusco em reservatórios das principais bacias do estado do Paraná, incluindo a bacia do Iguaçu e não registraram a presença de *L. fortunei* em nenhuma das bacias analisadas, a não ser na do rio Paraná.

O presente trabalho teve por objetivo identificar e monitorar a variação temporal da densidade larval de *L. fortunei* em dois pontos dos rios Paraná e Iguazu, na região de Foz do Iguazu, ao longo de 2005.

#### 6.4. MATERIAL E MÉTODOS

Os dois pontos de coleta monitorados estão localizados no município de Foz do Iguazu, a jusante do reservatório de Itaipu. O ponto de coleta no rio Paraná ( $34^{\circ}34.42' S$  e  $54^{\circ}35.37.53' W$ ) está localizado em sua margem esquerda, na área do Clube de Pesca Maringá.

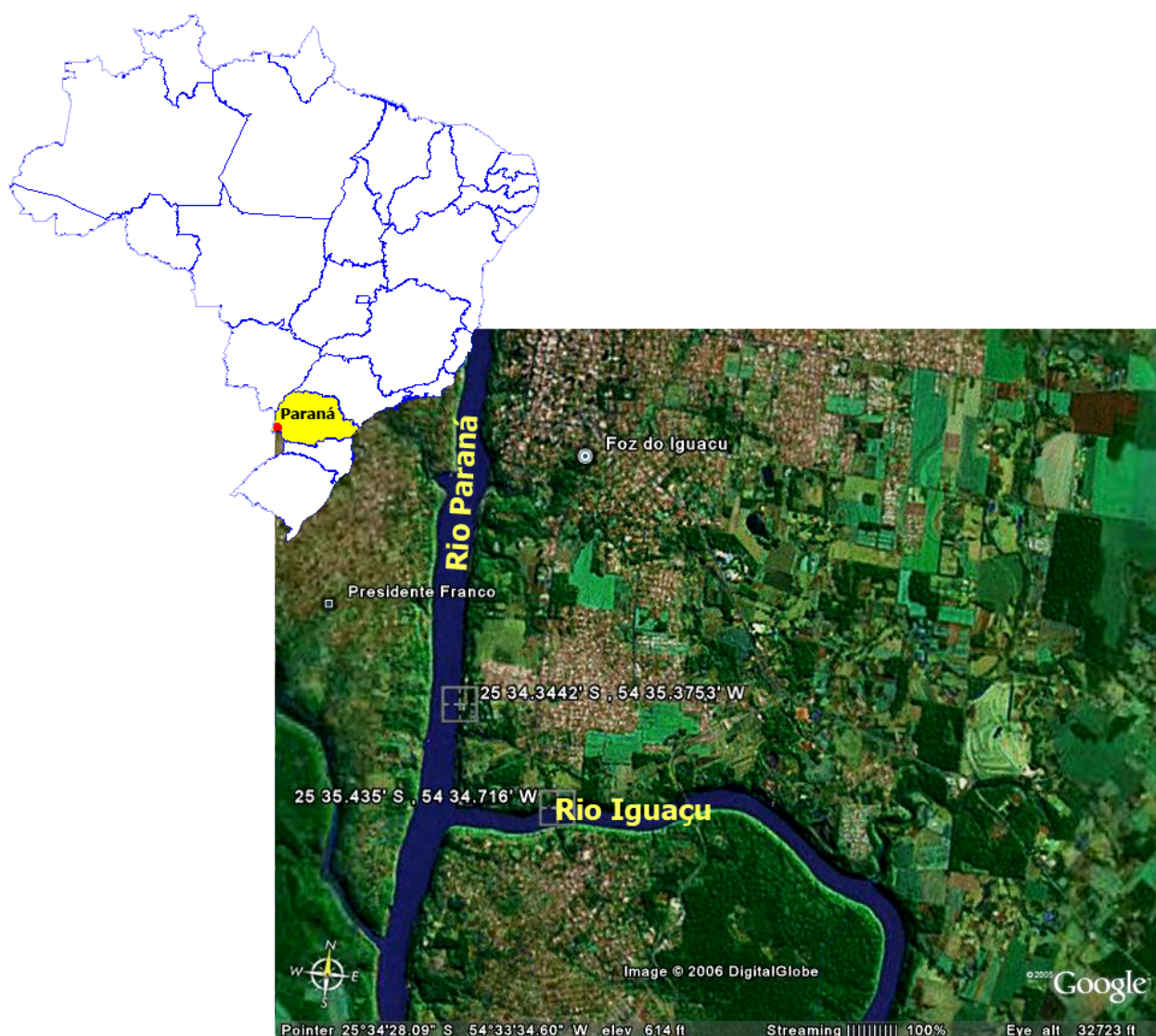


Figura 6-1. Localização geográfica dos pontos de coleta nos rios Paraná e Iguazu.

O ponto de coleta no rio Iguazu ( $25^{\circ}35.435' S$  e  $54^{\circ}34.716' W$ ) está localizado em sua margem direita, a aproximadamente 1 km da tríplice fronteira

entre Brasil, Paraguai e Argentina (Marco das Três Fronteiras), imediatamente a jusante das Cataratas do Iguaçu (Figura 6-1).

A densidade larval nos pontos analisados foi determinada através de coletas realizadas mensalmente ao longo de 2005. As amostras de plâncton foram obtidas através de coleta de 5.000 l de água, com auxílio de uma motobomba de 0,5 hp e conseqüente filtração através de rede de plâncton de 64 µm de abertura de malha. A rede de plâncton era colocada dentro de um balde grande, para que a pressão da água não danificasse o material coletado. O material filtrado era concentrado e posteriormente transferido para frascos de plástico e fixado com formol tamponado a 4%.

A triagem das amostras foi feita em microscópio estereoscópico. Para efeito de análise, as larvas foram classificadas em larva-D, véliger e umbonada (categoria que agrupava tanto larvas umbonadas quanto larvas pediveliger). As análises quantitativas foram realizadas sob microscópio óptico binocular, após sub-amostragem em Câmara de Sedgwick-Rafter com capacidade para 1 mL.

#### **6.5. RESULTADOS:**

A densidade larval quantificada no rio Paraná foi, em geral, superior à do rio Iguaçu. Em apenas umas das coletas (setembro de 2005) a densidade larval no rio Paraná foi menor que a quantificada no rio Iguaçu. Ao longo de 2005, foram registrados dois picos de densidade larval no rio Paraná. Uma maior, no período entre setembro e novembro e outro menor, entre março e maio. Os menores valores foram obtidos nos meses de temperaturas mais baixas, julho e agosto (Figura 6-2).

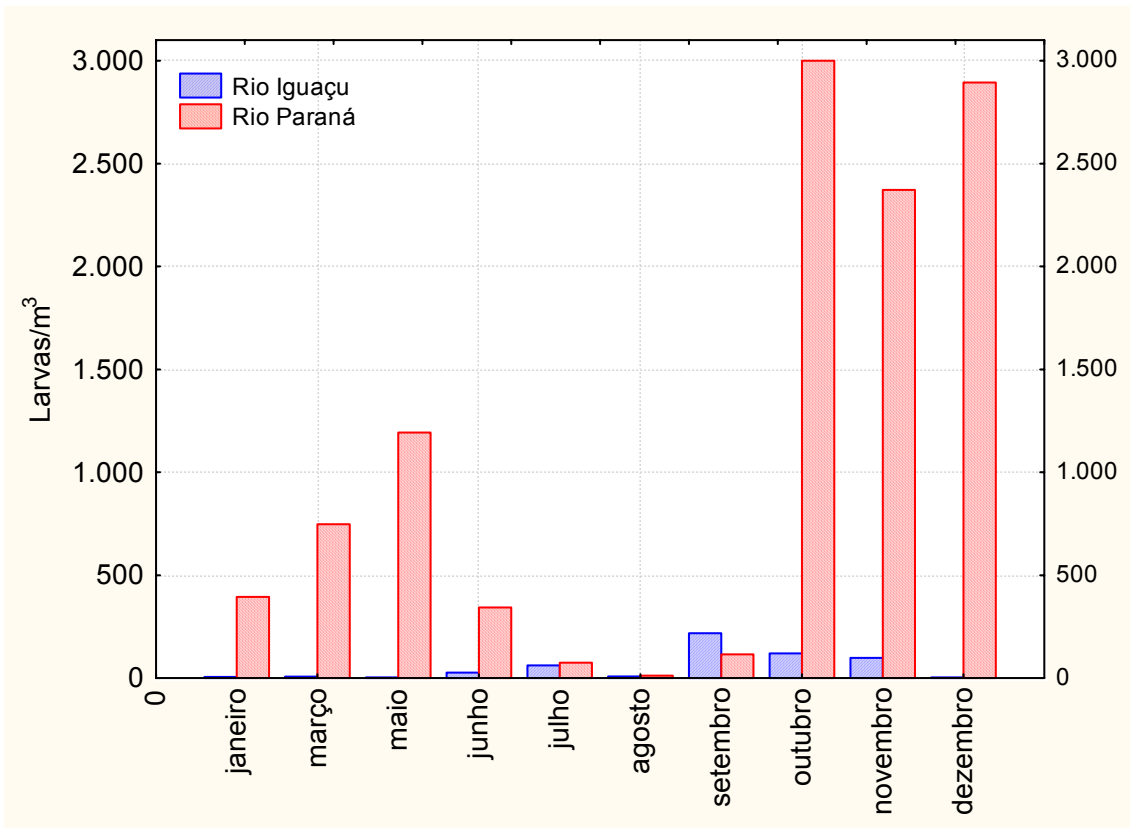


Figura 6-2. Densidades larvais de *L.fortunei* nos pontos amostrados nos rios Iguaçu e Paraná.

Em relação às fases larvais, no rio Paraná foram observados dois picos de larvas véliger, coincidentes com os picos de maior densidade larval. Na amostragem de dezembro foi registrado um pico de larvas umbonadas e a densidade de larvas véliger foi praticamente zero (Figura 6-3).

As densidades larvais no rio Iguaçu foram bastante baixas nas primeiras coletas, com valores entre 3 e 27,3 larvas/m<sup>3</sup>. Os picos foram registrados nos meses de setembro, outubro e novembro (Figura 6-4).



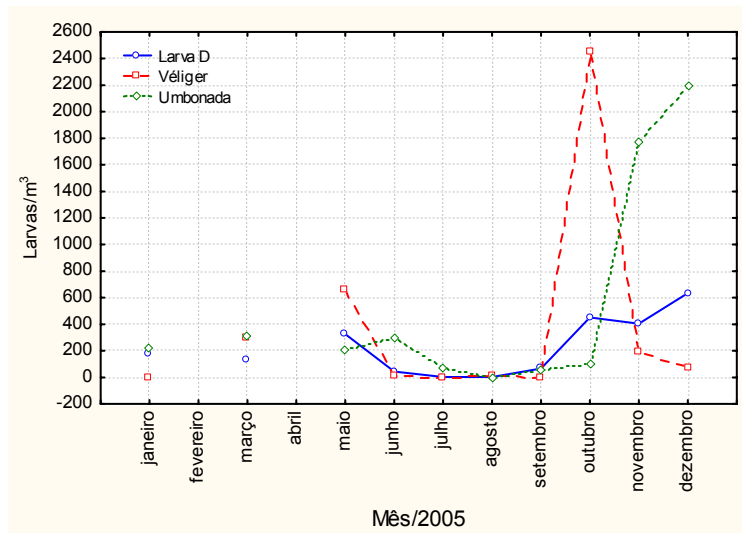


Figura 6-3. Estágios de desenvolvimento de *L. fortunei* no ponto amostral do rio Paraná.

No rio Iguaçu, os estágios que mais influenciaram nos picos de julho, setembro e novembro foram a larva D e as umbonadas. No pico do mês de outubro, a maior ocorrência foi de larvas véliger (Figura 6-4).

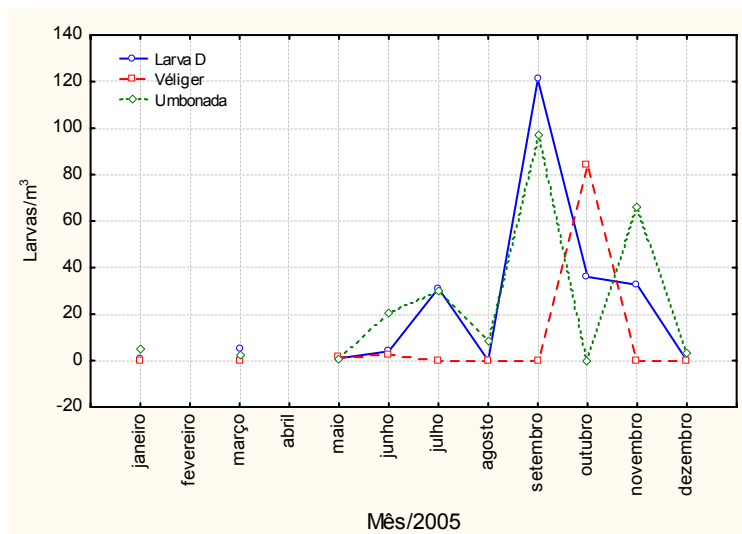


Figura 6-4. Estágios de desenvolvimento de *L. fortunei* no ponto amostral do rio Iguaçu

## 6.6. DISCUSSÃO:

Os picos de densidade larval registrados neste trabalho no rio Paraná (maio - junho e outubro) coincidem com os dados quantificados

junto ao ponto de captação de água da ETA Vila C, localizado no reservatório de Itaipu, a jusante dos pontos amostrais aqui adotados (Pestana et al, em preparação).

A diminuição na densidade larval no rio Paraná nos meses de temperatura mais baixa também encontra correspondência com os resultados obtidos naquele mesmo estudo. Esses resultados confirmam a existência de um período de pausa na reprodução de *L. fortunei* que, no referido trabalho, se estendeu entre os meses de julho e agosto.

Cataldo & Boltovskoy (2000) realizaram um levantamento de estágios larvais na região do Baixo Paraná e do estuário do Rio da Prata (Argentina), no período entre setembro de 1997 e janeiro de 1999. Naquela ocasião, os autores encontraram densidades de até 33.706 larvas/m<sup>3</sup> (fevereiro de 1998).

Em um outro levantamento realizado por Boltovskoy & Cataldo (2003), foi observado que a grande maioria dos valores de densidade larval no reservatório se encontrava, em média, no período monitorado (março de 2002 a abril de 2003), abaixo de 500 larvas/m<sup>3</sup> e muito raramente ultrapassaram 1.500 larvas/m<sup>3</sup>. No relatório, os autores compararam esses dados com o trabalho anteriormente citado (Cataldo & Boltovskoy, 2000), onde as densidades eram superiores a 10.000, chegando a 20.000 larvas/m<sup>3</sup>, sendo que a média anual para o Baixo rio Paraná e rio da Prata variou entre 4.600-4.900 larvas/m<sup>3</sup> e do reservatório de Itaipu foi de apenas 320 larvas/m<sup>3</sup>. Os autores justificaram essa grande diferença pela introdução relativamente recente da espécie no reservatório de Itaipu (registrada em 2000 por Zanella & Marenha, 2002), contra os quase 10 anos da presença de *L. fortunei*, na ocasião do estudo no Baixo rio Paraná e rio da Prata.

No presente trabalho, a densidade média anual de larvas de *L. fortunei* no plancton no rio Paraná chegou a 1.114,8 larvas/m<sup>3</sup>, com pico de 2.999,5 larvas/m<sup>3</sup> em outubro, valores inferiores à média registrada no ponto amostral localizado no reservatório de Itaipu, que foi de 2.755 larvas/m<sup>3</sup>, com pico de 17.369 larvas/m<sup>3</sup>, também em outubro do mesmo ano (Pestana et al., em preparação). Essa diferença na densidade pode ser justificada pela diferença na dinâmica desses ambientes, sendo que a menor dinâmica física de um ambiente lêntico favoreceria o estabelecimento mais rápido da espécie.

A maior importância deste trabalho é que registra, pela primeira vez, a densidade de estágios larvais de *L. fortunei* no rio Iguaçu. Ainda que em valores baixos (média anual de 55,4 larvas/m<sup>3</sup>), a identificação de larvas no rio Iguaçu serve de alerta para o risco de invasão deste importante rio paranaense.

Há que se considerar que, apesar da grande barreira natural existente, as Cataratas do Iguaçu, ao lado do ponto amostral do rio Iguaçu utilizado neste trabalho existe uma empresa de extração de areia, que poderia ser um meio de dispersão da espécie, uma vez que a areia é retirada do leito do rio. Assim, o mexilhão dourado poderia ser transportado nessa areia, por meio de caminhões, e, caso encontre condições ideais, colonizar o rio a montante das cataratas.

#### 6.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Avelar, W. E. P., Martim, S. L. And Vianna, M. P. A new occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1856) (Bivalvia, Mytilidae) in the State of São Paulo, Brazil. **Braz. J. Biol.**v.64 n.4. p.739-742. 2004.

Belz, C.E.; Boeger, W.A.P.; Alberti, S.M.; Patella, L. & Vianna, R.T. Prospecção do molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) em reservatórios e sistemas de usinas hidrelétricas da Companhia Paranaense de Energia – Copel **Acta Biologica Leopoldensia** v.27n.2 p.123-126.2005.

Boltovskoy, D. & Cataldo, D. H. Estudios de evaluación, monitoreo y análisis de medidas de control de incrustaciones de moluscos bivalvos (*Limnoperna fortunei*) en las instalaciones de la Central Hidroeléctrica Itaipu. Relatório Técnico.2003

Boltovskoy, D. & Cataldo, D. H. Population Dynamics of *Limnoperna fortunei*, an Invasive Fouling Mollusc, in the Lower Parana River (Argentina). **Biofouling** v.14 n.3 p. 255-263. 1999.

Capítoli, R.R. & Bemvenuti, C.E. Distribuição do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) na área estuarina da lagoa dos Patos e canal São Gonçalo. VI SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIROS, **Anais**. 07 a 11/09/2004. São José dos Campos (SP).. ACIESP, São Paulo.2004

Cataldo, D.H & Boltovskoy, D. Yearly reproductive activity of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) as inferred from the occurrence of its larvae in the plankton of the lower Paraná river and the Rio da Prata estuary (Argentina). **Aquatic Ecology** v.34 p.307-317. 2000

Darrigran,G., Martin,S.M., Gullo,B., and Armendariz,L. Macroinvertebrates associated with *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in Rio de la Plata, Argentina. **Hydrobiologia** v.367 p. 223-230. 1998.

Depetris, P.J. & Kempe, S. Carbon dynamics and sources in the Parana River **Limnology and Oceanography** v.38 n.2 p. 382-395. 1993.

Mansur, M. C. D.; Richinitti, L. M. Z.; Santos, C. P. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), molusco bivalve invasor, na bacia do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, Porto Alegre, v.7, n.2, p.147-150, 1999.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE / SECRETARIA DE QUALIDADE AMBIENTAL NOS ASSENTAMENTOS HUMANOS. Relatório final da Força-Tarefa Nacional para Controle do Mexilhão Dourado. Brasília. (11-12). 2004.

Oliveira, M. D.; Takeda, A. M.; Barbosa, D. S.; Calheiros, D. F. Ocorrência da espécie exótica Mexilhão Dourado (Bivalvia, Mytilidae) no rio Paraguai, Pantanal, Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 3, Corumbá. **Resumos...** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2000

Oliveira, M.D.; Pellegrin, L.A.; Barreto, R.R. e Xavier, I.G. 2004 - Área de ocorrência do mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) na Bacia do Alto Paraguai entre os anos de 1998 e 2004. **Embrapa Documentos** 64. 19 p.

Pastorino, G., G. Darrigran, S.M. Martin, and L. Lunaschi. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del Rio da Prata. **Neotropica** v.39 p. 34-36. 1993.

Silveira,J. P. [http://www.amcham.com.br/advocacy/informativos/advocacy2001-12\\_10f\\_arquivo](http://www.amcham.com.br/advocacy/informativos/advocacy2001-12_10f_arquivo) (acesso em 25/01/2006).2005

Takeda, A. M., Fujita, D. S.; Fontes Junior, H. M. Bivalves invasores do Rio Paraná. In: Encontro Brasileiro de Malacologia, 18., Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro, 2003. 247p.

Zanella, O.& Marena, L. D. Ocorrência de *Limnoperna fortunei* na Central Hidrelétrica de Itaipu. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MALACOLOGIA,5., São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Instituto Butantan/ Instituto de Biociências USP,2002..

## 7. VARIÇÃO NICTEMERAL E ANÁLISE DO FOTOTACTISMO DOS ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO DE *Limnoperna fortunei* NA CAIXA DE PASSAGEM DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ÁGUA VILA C EM FOZ DO IGUAÇU, PR

### 7.1. RESUMO

*Limnoperna fortunei* é um molusco natural do sudoeste asiático que vem invadindo e colonizando a América do Sul desde 1991. Uma das razões de seu sucesso como espécie invasora é sua forma de dispersão através de estágios larvais planctônicos. Após o assentamento, os juvenis e adultos podem provocar entupimentos em tubulações, entre elas as de captação, tratamento e de distribuição de água, ocasionando grandes prejuízos econômicos. No presente trabalho, foi analisada a variação nictemeral dos estágios de desenvolvimento de *L. fortunei* na caixa de passagem da Estação de Tratamento de Água (ETA) da Vila C, da Companhia de Saneamento do Paraná (Sanepar). Essa ETA capta água no reservatório de Itaipu, onde a espécie se encontra desde 2001, e, após tratamento, a distribui para o município de Foz do Iguaçu. Os resultados indicaram que a espécie apresenta um comportamento diverso da maioria das espécies zooplanctônicas. As maiores densidades de larvas ( $p < 0,05$ ) foram quantificadas no período da manhã em duas estações do ano, outono e primavera, sendo que no verão e no inverno não houve diferença entre os três turnos do dia (manhã, tarde e noite). Testes de fototaxia demonstraram não haver, por parte das larvas, fototropismo positivo ou capacidade natatória suficiente para que as larvas se movimentem em direção a ambientes mais iluminados. As evidências indicam que o transporte de larvas de *L. fortunei* na coluna d'água ocorra de forma passiva, em função das correntes de densidade geradas pelas variações de temperatura da água.

### 7.2. ABSTRACT

*Limnoperna fortunei* is a mussel from Southwestern Asia that has been spreading into South America since 1991. One of the reasons for its success as an invasive species is its dispersal strategy through planktonic larval stages. After settlement, juveniles and adults can cause the clogging of pipes in water supply systems, causing great economic impacts. In this work, the diel variation in the frequency of different developmental stages of *L. fortunei* in the ETA Vila C plant (Sanepar) was investigated. This state water supply system receives water from the Itaipu reservoir, where the species is found since 2001, and distributes it, after being treated, to the Foz do Iguaçu City. The results show what this species has a behaviour that is different from most of zooplankton species. The greatest densities of larvae ( $p < 0.05$ ) were recorded in the morning during two of the seasons (Fall and Spring). In the Summer and in the Winter, there were no statistically significant differences among the periods of the day (morning, afternoon, night). Phototaxis tests indicated that there is not enough positive phototropism or swimming ability for the larvae to swim upward into a more illuminated environment. The evidence indicates that the larval transport of *L. fortunei* in the water column occurs passively following the density currents generated by the variation in water temperature.

### 7.3. INTRODUÇÃO

A distribuição vertical e a migração nictemeral do zooplâncton têm sido estudadas por um longo tempo e ainda não são processos totalmente compreendidos (Lampert, 2005). Luz, gravidade, velocidade do fluxo da água, temperatura e concentração de alimento afetam a distribuição vertical de muitas larvas de invertebrados aquáticos e a forma como variam em escala temporal, afetando, com isso, a composição do zooplâncton em diferentes períodos (dia-noite, estações do ano) (Dobretsov & Miron, 2001).

A presença de um organismo invasor como o mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* pode causar no ambiente invadido uma série de distúrbios, sejam ambientais ou econômicos. Entre esses últimos pode-se citar a oclusão de tubulações, com conseqüente diminuição do fluxo de água, causando entupimentos nos sistemas coletores, de tratamento e de distribuição de água e também contaminação da água por mortandade em massa dos indivíduos fixados e conseqüente alteração das características químicas da mesma. O primeiro registro de obstrução por essa espécie em locais de captação de água para consumo humano na América do Sul foi reportado por Darrigran (1995) na Argentina.

A caixa de passagem é a estrutura por onde a água efetivamente entra na Estação de Tratamento de Água (ETA) - no caso aqui estudado a ETA Vila C, no município de Foz do Iguaçu, que capta água diretamente do reservatório de Itaipu. Nesse local, a água ainda se encontra "in natura", ou seja, em condições semelhantes às do reservatório. Por esse motivo, as paredes internas dessa caixa de passagem se encontram incrustadas com juvenis e indivíduos adultos de *L. fortunei* que, apesar do fluxo da água que está entrando no sistema ser forte e constante, consegue se fixar na estrutura. Frequentemente, os técnicos da Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR) introduzem na caixa de passagem uma manilha de concreto presa por uma corda, utilizando-a como um indicador da taxa de incrustação do mexilhão dourado.

O presente trabalho teve por objetivo analisar a variação nictemeral de densidade e também o fototactismo dos diferentes estágios de desenvolvimento de *L. fortunei*.

#### **7.4. MATERIAL E MÉTODOS:**

##### **ANÁLISE DAS VARIAÇÕES NICTEMERAIS DE DENSIDADE LARVAL**

As coletas foram realizadas mensalmente na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu (Paraná, Brasil), após sua captação no reservatório de Itaipu. As bombas de captação da água da ETA estão posicionadas a cerca de 2 m do fundo do reservatório, em um local onde a profundidade varia, de acordo com o nível do reservatório, entre 4 e 6 m.

A caixa de passagem, por sua vez, está situada aproximadamente 7 metros acima do solo, de modo que as coletas puderam ser realizadas por gravidade, inserindo a extremidade de uma mangueira de 4 cm de diâmetro diretamente na caixa de passagem e a outra extremidade no solo, acoplada a uma rede de plâncton de 64 µm de abertura de malha. A rede era colocada em um balde de 100 l de capacidade, para que a pressão da água não danificasse o material coletado. O volume filtrado foi fixado em 5.000 l por coleta. Em cada turno (manhã, tarde e noite) eram realizadas 6 coletas (réplicas) e o procedimento amostral era ainda repetido no dia seguinte, totalizando 12 amostras por turno em cada mês do ano.

O material retido na rede era concentrado e posteriormente transferido para frascos de plástico e fixado com formol tamponado a 4%. Para efeito de análise, as larvas foram classificadas em larva-D, véliger, pedivéliger, umbonada e mexilhão (aqui considerados os indivíduos juvenis e adultos). As análises quantitativas foram realizadas sob microscópio óptico binocular após sub-amostragem do material coletado em Câmara de Sedgwick-Rafter, com capacidade de 1 mL.

Após agrupamento, os dados foram analisados pelo Programa STATISTICA (versão 6.0), STATSOFT™ (2003). Primeiramente, verificou-se a homogeneidade das variáveis dependentes pelo Teste de Shapiro-Wilk, com 95% de confiabilidade. Considerando o fato das variáveis analisadas terem apresentado dados que não se adequaram à curva normal de Gauss, efetuou-

se a comparação entre as medianas dos diferentes tratamentos constituintes das variáveis independentes (fontes de variação) pelo teste de Kruskal-Wallis.

#### TESTES DE FOTOTAXIA:

Esse método foi inteiramente desenvolvido pela equipe do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA-UFPR) e utilizado com sucesso em testes com zooplâncton.

Dois frascos, um claro e outro com a superfície pintada de preto (frasco escuro), de aproximadamente 500 mL foram conectados entre si através de um tubo plástico, posicionado na porção superior (Figura 7-1).

As amostras obtidas na caixa de passagem foram colocadas em frascos escuros. Os frascos claros foram expostos a uma luz fluorescente (20 W) por um período de 1 hora, após o qual as amostras dos dois frascos foram fixadas separadamente em formalina a 4% tamponada para posterior processamento. Foram testadas, no total, 12 amostras. Em laboratório, as amostras de zooplâncton de cada frasco foram identificadas e quantificadas sob microscópio estereoscópico.

Esta metodologia pressupunha que indivíduos de espécies fototrópicas do plâncton amostrado nadassem ativamente do frasco escuro para o frasco claro, exposto à luz. Permaneceriam no frasco escuro aqueles organismos que foram fisicamente danificados ou mortos pelos métodos acumulados anteriores ao ponto de coleta e, conseqüentemente, não foram capazes (ou não tiveram tempo) de transferir-se para o frasco claro.



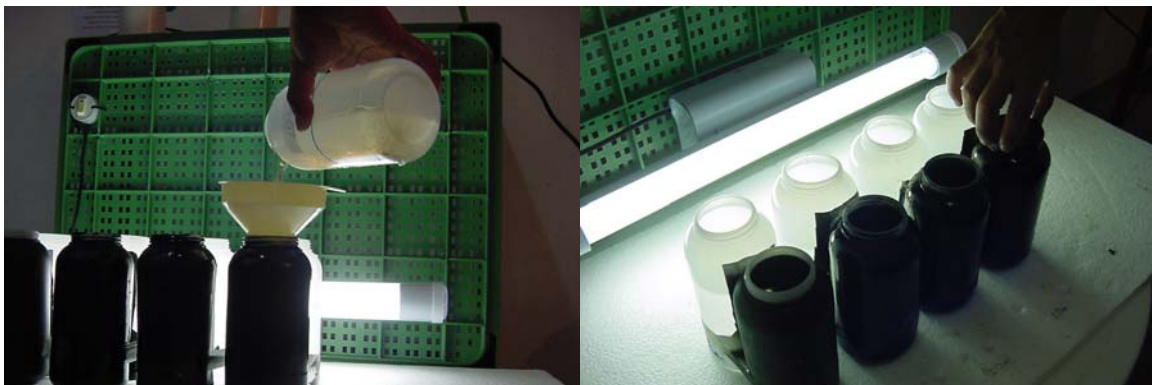
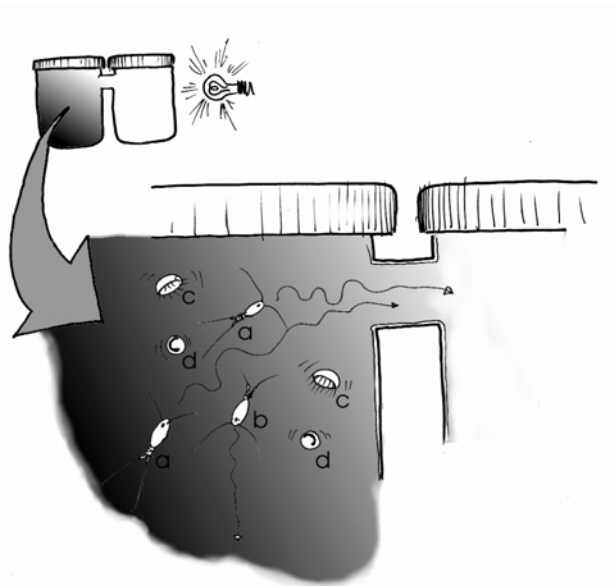


Figura 7-1. Estrutura experimental utilizada nos testes de fototaxia das larvas de *L. fortunei*.

## 7.5. RESULTADOS:

### VARIAÇÃO NICTEMERAL:

Quando analisados globalmente, ao longo de todo o ano de 2005, foram detectadas diferenças significativas na densidade larval de *L. fortunei* no plâncton nos diferentes turnos (Figura 7-2 ). Os valores do período da manhã foram superiores ( $p=0,044$ ) aos registrados nos outros demais períodos, tarde e noite, que não apresentaram diferenças significativas entre si ( $p > 0,05$ ).

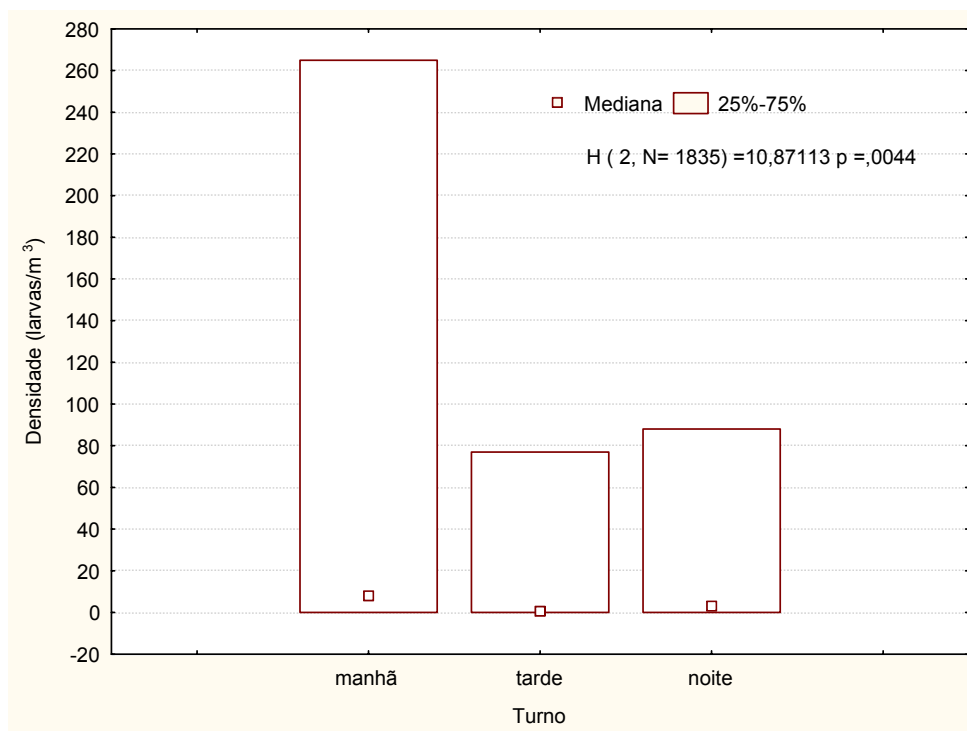


Figura 7-2 Variação da densidade total de larvas de *L. fortunei* na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, ao longo de 2005.

Na análise agrupada por estação do ano, não foram registradas diferenças significativas de densidades larvais entre os diferentes turnos de coleta no verão e no inverno. Por outro lado, foram detectadas diferenças significativas de densidade no outono e na primavera. Em tais estações, a densidade de larvas no turno da manhã foram superiores às quantificadas no demais turnos (Figura 7-2 )

Tabela 7-I Síntese dos resultados do teste Kruskal-Wallis comparando os turnos nas diferentes estações e ao longo de todo o ano de 2005. M: Manhã; T: Tarde; N: Noite.

Período	Grupos Homogêneos
Verão	M = T = N
Outono	M > T > N
Inverno	M = T = N
Primavera	M > T > N
Total 2005	M > (T = N)

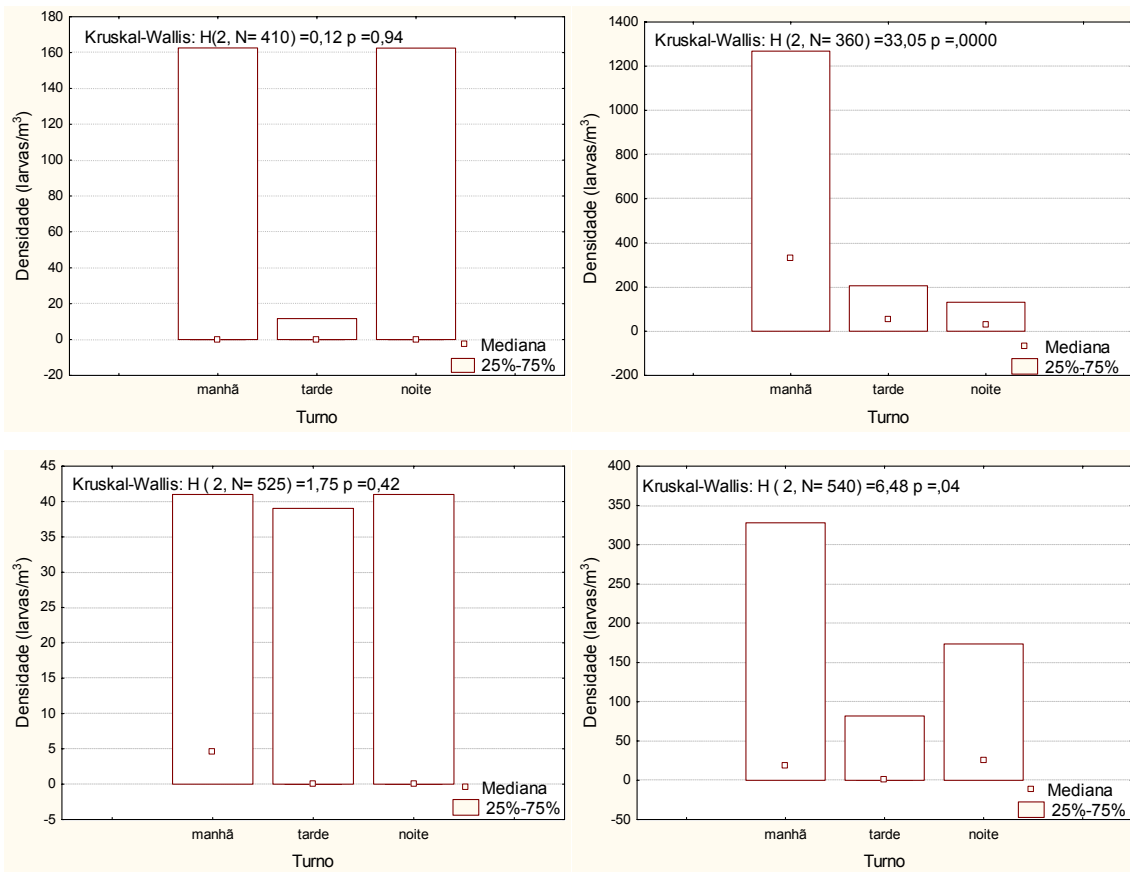


Figura 7-3 Variação da densidade total de larvas de *L. fortunei* na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, ao longo das estações de 2005. A - Verão; B - Outono; C - Inverno; D - Primavera.

A análise mensal da densidade dos diferentes estágios de *L. fortunei* na caixa de passagem indicou a ocorrência de picos variáveis de abundância. No período da manhã, esse pico aconteceu entre os meses de maio e junho, quando houve a predominância de larvas umbonadas, e em outubro, quando a maior incidência foi de larvas véliger ( ).

No período da tarde houve um pico maior em março e outros dois menores em junho e outubro, todos com predominância de larvas umbonadas (Figura 7-5).

No turno da noite, repetiu-se o mesmo padrão do período da tarde em relação aos picos, porém a predominância do pico de março, bastante superior aos outros dois, foi de larvas pedivéliger (Figura 7-6).

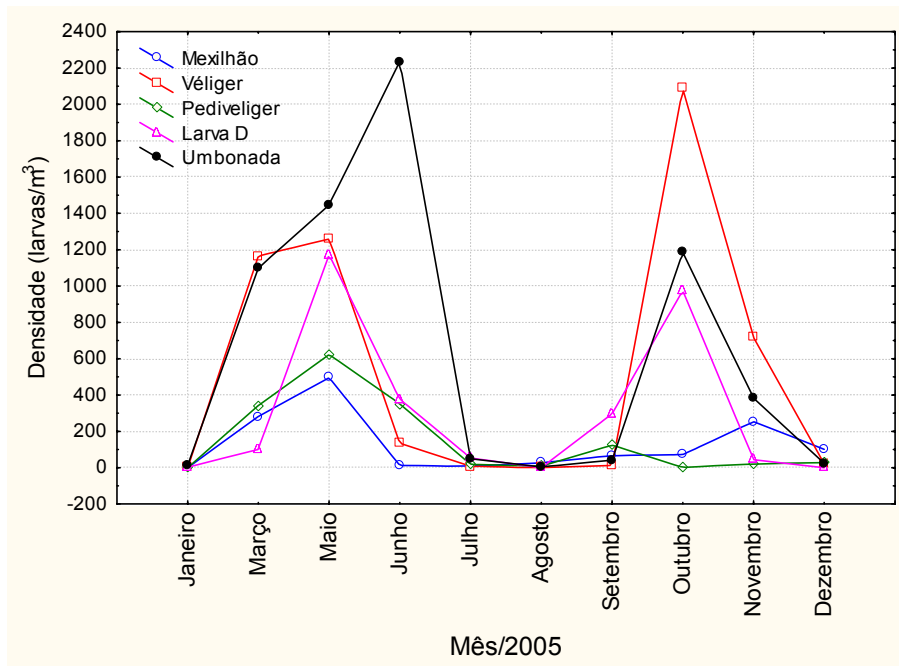


Figura 7-4 Variação da densidade dos estágios de desenvolvimento de *L. fortunei* na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, durante o período da manhã, ao longo de 2005.

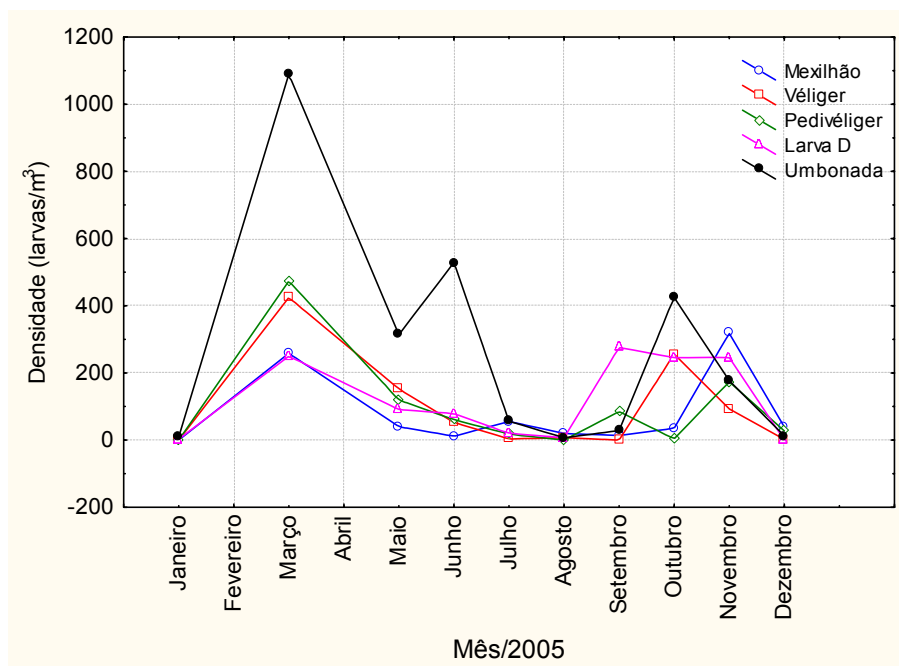


Figura 7-5 Variação da densidade dos estágios de desenvolvimento de *L. fortunei* na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, durante o período da tarde, ao longo de 2005.

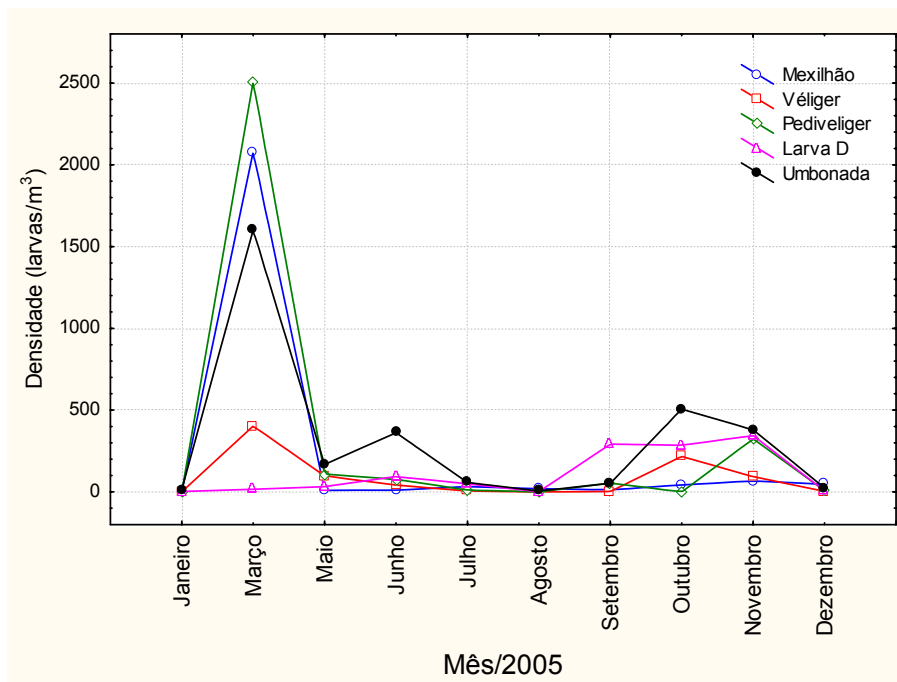


Figura 7-6 Variação da densidade dos estágios de desenvolvimento de *L. fortunei* na caixa de passagem da ETA Vila C, em Foz do Iguaçu, durante o período da noite, ao longo de 2005.

Na Figura 7-7 está representada a variação de temperatura da água durante as estações do ano de 2005. Observa-se que as maiores variações de temperatura aconteceram no outono e na primavera. A temperatura média de verão foi de 30,0 °C (desvio padrão de 1,0 °C e erro padrão de 0,06 °C). No outono, a temperatura média foi de 25,5 °C (desvio padrão de 2,2 °C e erro padrão de 0,13 °C). No inverno, a temperatura média foi de 20,8 °C (desvio padrão de 1,51°C e erro padrão de 0,09 °C). Na primavera, a temperatura média foi de 26,9°C (desvio padrão de 2,5 °C e erro padrão de 0,16 °C).

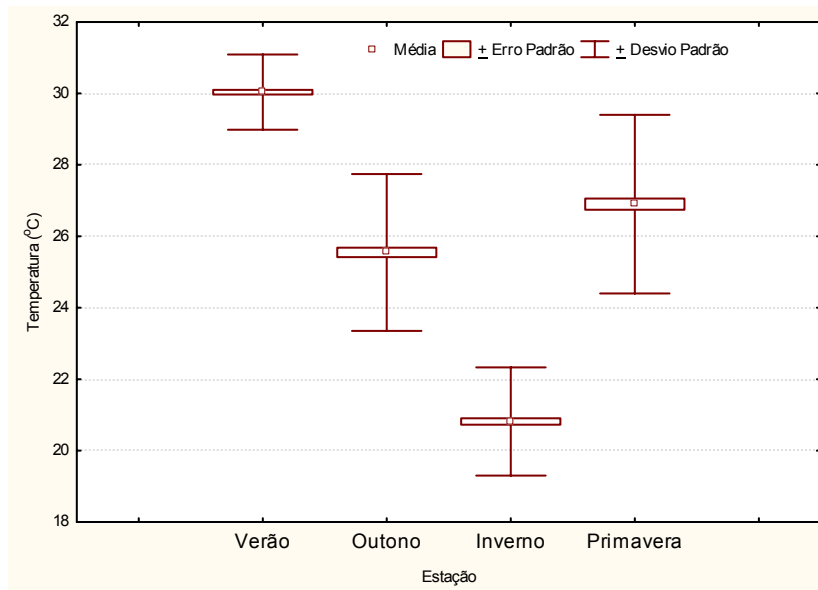


Figura 7-7 Variação da temperatura da água no ponto de captação da ETA Vila C nas estações do ano, de 2005.

#### TESTES DE FOTOTAXIA:

A proporção de larvas que migraram dos frascos escuros para os claros variou de 0,54 a 2,72%, com valor médio de apenas 1,18% (Tabela 7-II). Dentre os estágios larvais presentes nas amostras utilizadas nos testes, havia uma maior proporção de larvas-D e larvas umbonadas (larvas D corresponderam, em média, a 33% do total de larvas presentes nas amostras, larvas umbonadas 65% e larvas pediveliger apenas 1%).

Dentre as larvas D, em média, 1,73% migraram para os frascos claros, enquanto a percentagem de larvas umbonadas foi de 1,10%. Essa diferença não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,59$ ).

Tabela 7-II Resultados do experimento de fototaxia de larvas de *L. fortunei*. Número de larvas, nos diferentes estágios de desenvolvimento e proporção total de larvas que migraram ativamente do escuro para o claro.

Amostra	Frasco	Estágio de desenvolvimento			Proporção total de larvas que migraram para o claro (%)
		Larva-D	Umbonada	Pediveliger	
1	Escuro	175	227	0	1,00
	Claro	2	2	0	
2	Escuro	185	245	11	1,13
	Claro	4	1	0	
3	Escuro	225	287	2	2,72
	Claro	5	8	1	
4	Escuro	117	203	0	1,25
	Claro	3	1	0	
5	Escuro	122	413	2	0,56
	Claro	1	2	0	
6	Escuro	56	221	0	0,72
	Claro	0	2	0	
7	Escuro	111	210	8	1,22
	Claro	1	3	0	
8	Escuro	127	278	2	1,23
	Claro	0	5	0	
9	Escuro	78	99	3	2,22
	Claro	0	4	0	
10	Escuro	27	90	3	0,83
	Claro	1	0	0	
11	Escuro	32	110	0	0,70
	Claro	1	0	0	
12	Escuro	24	154	7	0,54
	Claro	1	0	0	

## 7.6. DISCUSSÃO:

Em função da baixa dinâmica física que caracteriza um lago ou reservatório, a coluna d'água pode determinar a existência de um gradiente vertical de habitats para o zooplâncton. Camadas superiores e camadas mais profundas separadas por uma termoclina, por exemplo, diferem muito a respeito de temperatura, luz, disponibilidade e risco de predação e, por isso, as populações zooplânctônicas costumam apresentar padrões distintos de distribuição horizontal e vertical ao longo do dia (Lampert, 2005)

O padrão mais comum de migração nictemeral geralmente acontece quando o zooplâncton deixa a superfície durante o dia e vai para as camadas mais profundas, para escapar da predação, retornando à superfície à noite (Johnsen & Jakobsen, 1987).

Os resultados obtidos com as coletas realizadas na caixa de passagem da ETA Vila C indicaram um comportamento distinto por parte dos estágios de desenvolvimento de *L. fortunei*, que estariam presentes em maior densidade nas coletas realizadas pela manhã, no outono e na primavera, quando foram registradas as maiores variações de temperatura da água ao longo do ano. Como a bomba de captação de água da ETA Vila C capta a profundidades variáveis entre 2 e 4 m, dependendo do nível do reservatório, que, por sua vez, depende do regime hidrológico da região, pode-se afirmar que a captação é realizada mais próxima ao fundo que da superfície.

Os testes de fototaxia foram realizados para que se comprovasse a capacidade natatória das larvas de *L. fortunei*, baseando-se no princípio de que a grande maioria dos organismos do macrozooplâncton, inclusive larvas de bivalve, apresenta fototropismo positivo (Sellers & Stanley, 1984). Contudo, os testes não corroboraram tal hipótese no caso do mexilhão dourado *L. fortunei*.

Além disso, observações realizadas com auxílio de microscópio estereoscópico indicaram que, apesar de possuírem cílios bastante móveis, os batimentos ciliares não seriam suficientes para fazerem as larvas se deslocarem ativa e continuamente em direção à luz. Tal observação concorda com afirmação de Lampert (2005). Segundo o autor, os estágios iniciais de desenvolvimento de bivalves costumam apresentar capacidade natatória bastante reduzida. Por outro lado, Cataldo et al (2005) afirmam que os batimentos ciliares de estágios iniciais de desenvolvimento de *L. fortunei* permitiriam às larvas tanto ativar quanto coordenar a natação, sem, no entanto descrever ou quantificar qual seria a capacidade natatória das mesmas. Os autores afirmam que, à medida que o desenvolvimento larval ocorre, diminui a capacidade natatória das larvas. No presente caso, não foram observadas diferenças significativas de deslocamento de larvas D em relação a larvas umbonadas em direção à luz.

Se, por um lado, os dados sobre o comportamento fototático de larvas de *L. fortunei* são raros, o mesmo não se pode dizer em relação à tototaxia de estágios mais avançados de desenvolvimento da espécie. Morton (1977) e Uryu et al. (1996) descreveram a existência de fototaxia negativa entre juvenis e adultos de *L. fortunei*. Kobak (2001) afirma que espécies de bivalves que formam extensos aglomerados como *L. fortunei* e *Dreissena polymorpha*



(mexilhão zebra, outro molusco invasor), obtêm vantagens nesse comportamento, uma vez que ficariam mais protegidos contra dessecação e predadores em locais escuros e profundos.

A hipótese aqui sugerida para explicar os padrões de variação nictemeral das larvas de *L. fortunei* está relacionada à variação diária e sazonal da temperatura da água no reservatório, junto ao ponto de captação de água da ETA Vila C.

Ficou claro, pelos experimentos realizados e pela observação direta das larvas, que dificilmente elas conseguiriam se deslocar ativamente através da coluna d'água, uma vez que sua capacidade natatória é bastante reduzida. Mesmo que isso acontecesse, não há nenhuma evidência de que as larvas conseguiriam se deslocar através de uma termoclina.

As maiores e mais significativas variações da temperatura da água registradas durante o outono e a primavera, contrastam com a relativa estabilidade observada durante o verão e o inverno. Essa maior variação de temperatura implica também em uma maior variação da densidade da água e, portanto, em uma maior circulação vertical, causada por correntes de densidade, justamente durante o outono e a primavera e uma maior tendência de formação de termoclinas durante o verão e o inverno.

Assim sendo, o transporte passivo de larvas ao longo da coluna d'água seria muito mais significativo durante o outono e a primavera, o que explicaria a não existência de diferença significativa de densidades larvais durante o verão e o inverno nos diferentes turnos.

## 7.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cataldo, D.; Boltovskoy, D.; Hermosa, J.L. & Canzi, C. Temperature-dependent rates of larval development in *Limnoperna fortunei* (BIVALVIA:MYTILIDAE) **Journal of Molluscan Studies** V.71. p. 41-46. 2005.

Darrigran, G. The recent introduction of a freshwater asiatic bivalve *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South America. **The Veliger**, Berkeley, v.32 n.2. p. 171-175. 1995.

Dobretsov, S.V. & Miron, G. Larval and post-larval vertical distribution of the mussel *Mytilus edulis* in the White Sea **Marine Ecology Progress Series** V. 218. p. 179–187.2001.

Johnsen G.H. & Jakobsen PJ: The effect of food limitation on vertical migration in *Daphnia longispina*. **Limnology and Oceanography** v. 32. p.873-880.1987.

Kobak J. Light, gravity and conspecifics as cues to site selection and attachment behaviour of juvenile and adult *Dreissena polymorpha* Pallas, 1771. **Journal of Molluscan Studies** v. 67 p. 183-189. 2001.

Lampert, W. Vertical distribution of zooplankton: density dependence and evidence for an ideal free distribution with costs <http://www.biomedcentral.com/1741-7007/3/10> .2005. (acesso em 27/01/2006)

Sellers, M. & Stanley, J. Species Profiles: Life Histories and Environmental Requirements of Coastal Fishes and Invertebrates (North Atlantic) -- American Oyster. **U.S. Fish and Wildlife Service Biol. Rep.** v.82 (n.11.23) pp 16. 1984

Uryu, Y.; Iwasaki, K.; & Hinoue, M. Laboratory experiments on behavior and movement of a freshwater mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker). **Journal of Molluscan Studies** v. 62 p.3270–341. 1996

Wickstead, J.H. - **Zooplankton marino – Serie Cuadernos de Biología.** 70p. Ediciones Omega, Espanha. 1979.