

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA**

Estudo taxonômico de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897,  
da região da Grande Florianópolis – Brasil.

**RAFAEL ALVES**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientadora:

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães

Florianópolis – Santa Catarina

2004

Alves, Rafael

Estudo taxonômico de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897,  
da região da Grande Florianópolis – Brasil.

40 páginas

Dissertação de mestrado em Aqüicultura. Centro de Ciências Agrárias,  
Universidade Federal de Santa Catarina.

2004

Orientadora: Profa. Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães

Palavras-chave: ostra, *Crassostrea*, bivalve, citogenética.



“Entre os LAMELIBRANQUIOS o gênero mais conhecido é o das ostras. Representa este o típico burguês pacato; tendo uma de suas cascas, a esquerda, grudada à pedra, ela se limita a fazer vibrar os cílios que promovem a renovação da água para a respiração e seu alimento consiste nos detritos orgânicos e pequenos seres que assim conjuntamente lhe vêm à boca. Se na sua fase larval ela foi levada pela correnteza para um lugar propício, a ostra se desenvolve bem; tendo porém aderido a uma rocha onde as águas são pobres em alimento, não há salvação e a vida lhe será sempre penosa.”

Rodolpho Von Ihering, 1946.

Dedico este trabalho às ostras.

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, ser supremo que nos inspira e conduz em nossa eterna caminhada.

À Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães, que me apoiou em um trabalho diferente as rotinas normais do LAMEX, por sua confiança em minha forma de trabalho e pelas horas de conversas e desabafos.

À Dra. Guisla Boehs, pelos seus conselhos e pela ajuda nas horas mais problemáticas.

Ao Jakson e ao Itamar pela ajuda nas coletas e no cultivo do Sambaqui.

Ao Álvaro, que me auxiliou em um momento delicado dos trabalhos desta dissertação.

À Camilla e ao Décio que me ajudaram nas coletas em campo.

Ao LMM pelo fornecimento de ostras, material e pessoal para a realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa, sempre necessária...

À Deise, minha esposa, que me apoiou nos momentos mais críticos deste trabalho, sendo responsável com todo seu amor, por eu ainda seguir em frente...

Aos meus pais, que me deram condições físicas e financeiras, além de seu amor e carinho, para concluir este trabalho.

Às minhas duas filhas caninas, Pandora e Natasha, que me deram alegria e distração em momentos de total exaustão.

E finalmente a todas as ostras.

## SUMÁRIO

Resumo.....	vii
Abstract.....	viii
Lista de figuras.....	ix
Introdução.....	01
Manuscrito.....	12
Abstract.....	13
Introdução.....	13
Materiais e Métodos.....	14
Local de estudo.....	14
Coleta de material.....	14
Procedimento de laboratório.....	15
Resultados e Discussão.....	15
Resumo.....	22
Referências.....	22
Referências Bibliográficas da Introdução.....	24
Normas para redação do artigo.....	30

## RESUMO

A maricultura está em expansão no litoral de Santa Catarina e o município de Florianópolis é o maior produtor de ostras do Brasil, onde se cultiva a espécie japonesa *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). Há necessidade de estudos que auxiliem a elucidar a identificação das espécies brasileiras do gênero *Crassostrea*. O presente trabalho teve como objetivo contribuir com a sistemática do gênero, para ostras da região da Grande Florianópolis. Para isso, foram coletados 50 animais (*Crassostrea* sp.) em 5 pontos de coleta. Nestes espécimes foram realizadas análises morfológicas e citogenéticas, utilizando *C. gigas* como grupo externo. O estudo baseado na morfologia das conchas não forneceu dados suficientes para identificação, somente isolou o grupo externo. As análises da pigmentação da impressão muscular e da conformação dos tentáculos da borda do manto também não apresentaram dados aplicáveis para a diferenciação. O estudo citogenético confirmou que o número cromossômico é  $2n=20$ , constituído por cromossomos metacêntricos, com o segundo par limítrofe com submetacêntrico. O número haplóide ( $n=10$ ) encontrado nas células meióticas, confirmou o número diplóide nas células mitóticas. A Análise de Componentes Principais (PCA) agrupou as ostras nativas diferenciando de *C. gigas*, mantendo-as muito próximas entre si. Através de análise de Cluster englobando as espécies descritas para o Atlântico Sul e Caribe, foi possível aproximar *Crassostrea* sp. de *C. rhizophorae* (Guilding, 1828), porém, sem poder afirmar que sejam a mesma espécie. Os sítios ativos nas regiões organizadoras de nucléolos foram evidenciados na posição telomérica dos braços longos nos cromossomos 3 e 4. Este estudo sugere a aplicação do nome *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819) para a ostra do mesolitoral da Grande Florianópolis.

Palavras-chave: Ostras; “Cupped Oysters” *Crassostrea*; Citogenética; Cromossomos; RON.

## ABSTRACT

### Karyotypic study of oysters *Crassostrea* in the Great Florianópolis - Brazil

Mariculture is currently in expansion along the coast of the state of Santa Catarina, making Florianópolis the biggest producer of Japanese oysters in Brazil. In regards to native oysters, further studies are needed to establish culturing strategies in order to elucidate the complex phylogenetic issues concerning the Brazilian *Crassostrea* species. The aim of the present work was to contribute toward the systematic study of *Crassostrea* oysters in Florianópolis (southern Brazil). The study was divided into two parts: a morphologic study (with emphasis on shell characteristics) and a cytogenetic study. In the morphologic study, 16 shell parameters were measured, including pigmentation of the muscular impression and conformation of the mantle edge tentacles. In the cytogenetic study, the karyotype and ag-NOR stain were analyzed. The study of the taxonomy of oysters based on shell morphology did not yield enough data for classification. It did, however, separate the external group, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). The analyses of the muscular impression pigmentation and the conformation of the mantle edge tentacles were also insufficient for classification. The cytogenetic study showed that the chromosomes of these animals are  $2n=20$ ; all were metacentric and the Number 2 pair was metacentric/submetacentric (m/sm). The ag-NOR stain demonstrated the presence of NOR in the long arm of the Number 2 pair. Through the PCA analysis it was possible to separate the native oysters from the *C. gigas*, as the native species are very similar to one another. The cluster analysis of Atlantic and Caribbean oysters demonstrated the similarity between the native oysters and *C. rhizophorae* (Guilding, 1828). Nonetheless, it was not possible to affirm that they are the same specie. Based on these results, the present study suggests that the oysters from the Florianópolis coast should be identified as *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819).

Key words: Oysters; “Cupped Oysters” *Crassostrea*; Cytogenetic; Chromosome; NOR

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### 1- Lista de Figuras da Introdução

1. Aparência externa das valvas de ostras do gênero <i>Crassostrea</i> nativas da Grande Florianópolis. ....	03
2. Vista interna das valvas de <i>Crassostrea</i> . ....	06
3. Anatomia interna da ostra do gênero <i>Crassostrea</i> .....	06
4. Detalhe da borda do manto de ostra do gênero <i>Crassostrea</i> .....	07

### 2- Lista de Figuras do Artigo

1. Mapa da Região Metropolitana de Florianópolis com destaque para os locais de Coleta.....	14
2. Parâmetros medidos nas valvas das ostras.....	15
3. Análise de correspondência entre os parâmetros de conchas de ostras do gênero <i>Crassostrea</i> .....	16
4. Morfotipos das ostras coletadas.....	17
5. Impressão do músculo adutor.....	17
6. A – Prega interna da borda do manto de ostra nativa; B e C – Pregas interna (pigmentada) e mediana (clara) de ostra nativa; D - prega mediana (pigmentada) da borda do manto de ostra nativa; E – Prega interna (seta) e mediana de <i>C. gigas</i> ; F – Padrão de pigmentação no manto de ostra nativa.....	17
7. Quantidade absoluta e relativa de ostras nativas nos diferentes níveis de pigmentação da impressão do músculo adutor .....	18
8. Frequência do número de cromossomos nas 129 metáfases observadas.....	18
9. Ideograma dos cromossomos estudados construído com base no tamanho relativo e índice centromérico.....	18
10. Análise de componentes principais (PCA) dos índices centroméricos das ostras Dados transformados pelo $\log 10$ .....	19
11. Cariótipo encontrado durante os experimentos em ostra nativa.....	20
12. Cromossomos metafásicos evidenciando a região da RON.....	20
13. Cromossomos meióticos.....	20
14. Análise de Cluster baseado no Índice de Morisita para as espécies: CG – <i>C. gasar</i> , CVM – <i>C. virginica</i> (Canada) (Leitao <i>et al.</i> 1999), CVV – <i>C. virginica</i> (Venezuela), CRV – <i>C. rhizophorae</i> (Venezuela) (Marquez 1992), CRM – <i>C. rhizophorae</i> (México), CC – <i>C. corteziensis</i> (Guevara <i>et al.</i> , 1996) e CN – <i>Crassostrea</i> sp. nativa da Grande Florianópolis.....	20

## INTRODUÇÃO

A aqüicultura como forma de atividade humana vem se expandido em velocidade crescente no decorrer das últimas décadas e já se apresenta como uma solução alternativa para diminuir a carência por alimentos (ROCZANSKI *et al.*, 2000). Segundo a FAO (2003), no ano de 2000 a aqüicultura como um todo movimentou no mundo 56,5 bilhões de dólares, com uma produção total de cerca de 45 milhões de toneladas. Deste total, o cultivo de moluscos representa 23,5%, sendo a ostreicultura responsável por uma produção de 3,9 milhões de toneladas.

O consumo de ostras pelos seres humanos representa, talvez, a forma de extração marinha mais antiga, datando desde o início da civilização (SANTOS, 1978).

Com o aumento da população, a demanda tornou-se maior, o que levou ao desenvolvimento de técnicas para produzir maior quantidade de ostras para suprir o mercado em expansão, surgindo, assim, os primeiros cultivos. GALTSOFF (1951) cita que ainda antes da era Cristã, na Europa, os romanos registraram a existência de cultivos de *Ostrea edulis* Linné, 1758 na região da Gália (França) e a sua produção era praticamente voltada ao consumo exclusivo do Imperador e dos nobres romanos. Na Ásia, segundo LAM & MORTON (2003), os primeiros cultivos foram realizados em áreas de manguezal de Hong Kong, há mais de 700 anos. Na Tailândia, as espécies nativas *C. belcheri* (Sowerby, 1871) e *C. lugubris* (Sowerby, 1871) são cultivadas há mais de cinquenta anos (DAY *et al.*, 2000).

Da Europa, onde a ostreicultura esteve sempre em prática, as tradições de cultivo foram levadas para a América do Norte a, aproximadamente, cento e cinquenta anos, onde se iniciou com o cultivo das espécies nativas *C. virginica* (Gmelin, 1791), ao norte, e *C. rhizophorae* (Guilding, 1828), no golfo do México. No início do século XX, na costa oeste da América do Norte, iniciaram-se os cultivos de *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), introduzida a partir de sementes (denominação da ostra jovem) importadas do Japão (GALTSOFF, 1951).

No Brasil, as populações primitivas ao longo da costa foram grandes apreciadoras de moluscos marinhos e sempre fizeram uso das ostras como fonte de alimentação, o que se comprova pelos sambaquis, que se localizam em diversas regiões do litoral. De acordo com FARIAS (2000), em tupi, a palavra sambaqui significa amontoado de conchas (Tamba = concha e Ki = amontoado). Nestes locais, alguns datados como tendo mais de cinco mil anos, encontram-se grandes quantidades de valvas de ostras. Porém, ao contrário da Europa, a demanda por ostras em nossa população nativa não levou ao cultivo destes moluscos, sendo, até recentemente, utilizado somente o extrativismo (THOMÉ 1971 e GASPAR 2000).

Isto provavelmente está relacionado à grande abundância de moluscos, além de outros alimentos e à pequena população de brasileiros daquela época

Segundo JOHNSCHER-FORNASARO (1981), no ano de 1934 o Comandante Alberto Augusto Gonçalves fez a primeira referência ao cultivo de moluscos no Brasil. Na década de 50 foram feitos relatórios reportando os perigos da extração desordenada de ostras por caiçaras da região da Cananéia, São Paulo (MESQUITA, 1993). Porém, o primeiro trabalho científico que analisou as possibilidades de cultivo foi realizado por Lima & Vazzoler para a região de Santos em 1963, seguido por Wakamatsu em 1973 (JOHNSCHER-FORNASARO, *op. cit.*).

A espécie japonesa (*C. gigas*) foi introduzida pela primeira vez no Brasil através do Instituto de Pesquisas da Marinha na região de Cabo frio, Rio de Janeiro, utilizando sementes importadas do Reino Unido (MUNIZ *et al.* 1986). POLI (1999) afirma que as pesquisas com ostras no Brasil foram iniciadas simultaneamente em diversos pontos do litoral durante a década de 70 do século XX. Em Santa Catarina a atividade surgiu como uma alternativa de sobrevivência para as comunidades de pescadores que se encontravam em severas dificuldades com a redução do estoque pesqueiro, juntamente com a concorrência exercida pelas grandes empresas de pesca. Durante os últimos anos, a atividade passou de um reforço do orçamento doméstico para a fonte de renda principal para várias comunidades, fator este que evitou a evasão das comunidades de seus locais de origem (POLI *et al.*, 2000).

PAULILO (2002), comenta que o cultivo efetivo de ostras na Ilha de Santa Catarina iniciou-se no final da década de 80 do século passado, através da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), que implantou os primeiros cultivos pilotos, com sementes de *C. gigas* importadas do Chile (LCMM, 2002). Nos últimos anos, grandes avanços foram obtidos na produção de larvas e sementes em laboratório. O Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) do Departamento de Aqüicultura – UFSC, tem uma produção regular que cresce de 20 a 50% ao ano, atingindo, na primeira safra de 2001, a comercialização de mais de 17 milhões de sementes (PAULILO, 2002). Após dez anos de atividade, esse é ainda o único laboratório de reprodução e larvicultura, com produção contínua de sementes de *C. gigas* no Brasil. Com isto, Santa Catarina e, em especial, Florianópolis, são responsáveis por aproximadamente 90% da oferta de ostras do país, atingindo em 2002 uma produção de 1.597.472 dúzias (SOUZA-FILHO, 2003). Juntamente com as vantagens econômicas, destaca-se também o desenvolvimento sócio-cultural promovido em toda a região, principalmente para as colônias de pescadores que enfrentavam a eminência de perderem sua principal fonte de renda e que, com o cultivo, puderam melhorar substancialmente seu nível de vida.

Apesar de recente, o cultivo de ostras é sucesso tão grande em Florianópolis, que resultou numa feira anual, a Festa Nacional da Ostra e da Cultura Açoriana, a FENAOSTRA.

Juntamente com a ostra japonesa, o LMM e a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S/A (EPAGRI) desenvolvem, desde 1996, trabalhos de pesquisa no intuito de desenvolver o cultivo de espécies de ostras nativas (Figura 1). No entanto, o consumo e o comércio de ostras nativas na Ilha de Santa Catarina são tradições antigas. BERGER (1990) em sua coletânea de relatos obtidos a partir de registros de viagens à Ilha de Santa Catarina nos séculos XVIII e XIX, localizou duas referências a ostras nativas. O primeiro é datado de 1726, relatado pelo capitão do navio Speedwell, George Shelvocke:

*“Pode-se subir os regatos salgados até 3 ou 4 milhas (os quais eu mencionei anteriormente como estando próximos ao local onde pegamos nossa água potável). Lá cada pedra e até mesmo as raízes das árvores à beira da água, abrigam uma deliciosa espécie de ostras verdes de pequeno tamanho”.*

A segunda citação foi escrita pelo naturalista francês Antoine Joseph Pernetty, tripulante da expedição comandada por Louis Antoine Bougainville, em 1763:

*“Um espanhol nos trouxe um dia algumas centenas de ostras: eram muito maiores que as ostras brancas de Saintonge: suas cascas tinham pelo menos cinco polegadas de diâmetro. Não se comem mais gordas e melhores na França. Era um verdadeiro creme fresco, pelo gosto e brancura. Fizemos todo o possível para contratar o espanhol e descobriremos, então, o lugar onde as pegava, mas todos nossos cuidados foram inúteis, pois ele guardou seu segredo, como se fosse interesse do governador”.*

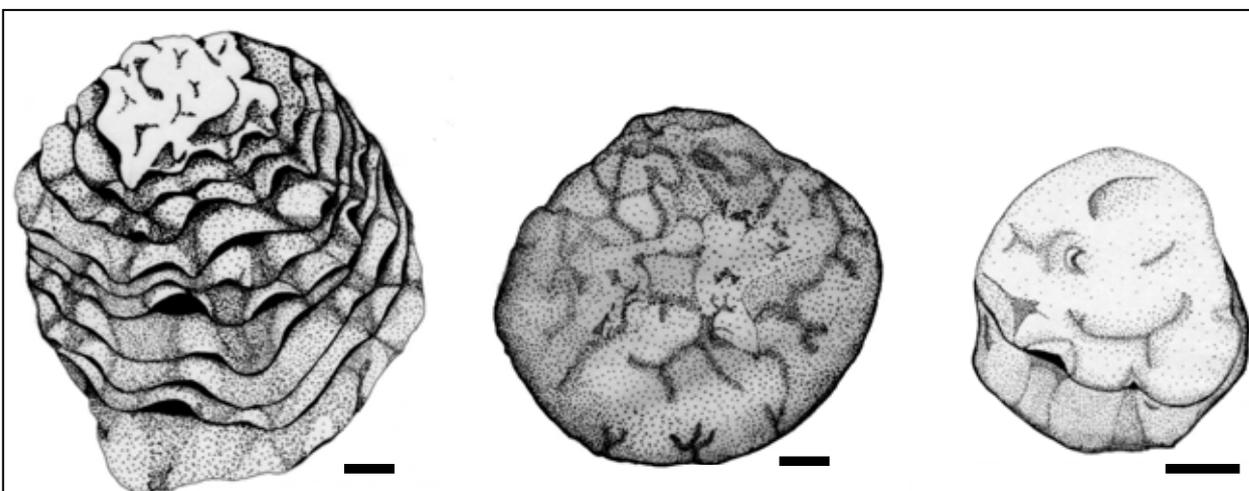


Figura 1. Aparência externa das valvas de ostras do gênero *Crassostrea* nativas da Grande Florianópolis. Barra = 1 cm. Autoria: Rafael Alves

Embora o cultivo de moluscos seja uma atividade rentável e promissora e apresente reduzidos problemas para o meio ambiente, uma questão muito discutida nos últimos anos é a introdução de espécies exóticas. Por exemplo, na América do Norte e Europa, onde espécies introduzidas assumiram os nichos das espécies nativas, provocando desequilíbrios ecológicos devido às relações imperfeitas entre presas – predadores e parasita - hospedeiro, servindo como vetores para doenças não endêmicas prejudicando, as espécies locais (NAYLOR *et al.* 2001). Assim, fica clara a importância de incentivar o cultivo de espécies de ostras nativas e portanto, o conhecimento taxonômico de populações locais.

A taxonomia das ostras sempre foi muito complexa e problemática e desde o início do sistema binomial de nomenclatura ocorreram diversos erros e muitas sinonímias. Tradicionalmente, as ostras são agrupadas na família OSTREIDAE Rafinesque, 1815, sendo *Ostrea* Linné, 1758 o primeiro gênero descrito. Com o decorrer do tempo, esse gênero foi desmembrado em outros, mas nunca alcançando um consenso, apesar dos esforços da Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica que, a partir de 1955, tentou harmonizar as denominações genéricas dos grupos fósseis e recentes. Essa família ainda possui mais de 200 espécies (SANTOS, 1978).

Segundo GALTISOFF (1964), a família OSTREIDAE é formada por três gêneros recentes: *Ostrea*, *Pycnodonta* Waldheim, 1835 e *Crassostrea* Sacco, 1897. Esse autor reserva o gênero *Gryphaea* Lamarck, 1801 para as formas fósseis. ABBOTT (1974) adiciona o gênero *Lopha* Röding, 1798 à família, classificado anteriormente como pertencente a *Ostrea* e altera o gênero *Gryphaea* para a família GRYPHAEIDAE Vyalov, 1936 com o gênero *Pycnodonte* Fischer, 1835. AHMED (1975) afirma que a família OSTREIDAE está condensada em três gêneros: *Ostrea*, *Crassostrea* e *Pycnodonte*, citando também os gêneros *Alectryonella* Sacco, 1897, *Saccostrea* Dolfuss & Dautzenberg, 1920, *Striostrea* Vyalov, 1936, *Neopycnodonte* Stenzel, 1971 e *Hyotissa* Stenzel, 1971 como duvidosos. HARRY (1985) divide novamente o grupo em duas famílias, uma com os grupos fósseis, GRYPHAEIDAE e a família OSTREIDAE com os grupos recentes, em oito tribos: 1) Lophini, com os gêneros *Lopha*, *Alectryonella* e *Dendrostrea* Swainson, 1835; 2) Myrakeenini, com os gêneros *Myrakeena* Harry, 1985 e *Anomiostrea* Habe & Kosuge, 1966; 3) Ostreini, com os gêneros *Ostreola* Monterosato, 1884, *Ostrea*, *Nanostrea* Harry, 1985 e *Planostrea* Harry, 1985; 4) Cryptostreini, com *Cryptostrea* Harry, 1985, *Teskeyostrea* Harry, 1985 e *Booneostrea* Harry, 1985; 5) Undulostreini, com o gênero *Undulolostrea* Harry, 1985; 6) Pustulostreini, com *Pustulostrea*

Harry, 1985; 7) Striostreini, com os gêneros *Striostrea* e *Saccostrea* e 8) Crassostreini, com o gênero *Crassostrea*.

Segundo ABBOTT (1974), o grupo como um todo é caracterizado por possuir apenas um músculo adutor (monomiário), não possuir pé e bisso quando adulto e comumente ter a valva esquerda, ou usualmente chamada de inferior, cimentada no substrato. Sua concha é calcária, com característica folhosa.

Apesar de todas as discussões a respeito de classificação e filogenia dentro deste grupo, é consenso que as ostras de maior interesse comercial e econômico e, portanto, também para cultivo, estão incluídas nos gêneros *Ostrea* e *Crassostrea* (RODRIGUEZ & GARCIA-CUBAS, 1986) e, particularmente no caso do Brasil, o gênero *Crassostrea*, como citam MAGALHÃES *et al.* (1986). Em levantamento das espécies de ostras do litoral de Santa Catarina, esses autores encontraram as espécies *C. rhizophorae*, *Ostrea equestris* (Say, 1834) e *O. puelchana* D'Orbigny, 1842, sendo as duas últimas de baixo interesse comercial.

As espécies do gênero *Crassostrea* são, em sua maioria, estuarinas e eurialinas, em oposição às espécies de *Ostrea*, que são estenoalinas (AHMED, 1975). Os dois gêneros são muito prolíficos, sendo hermafroditas seqüenciais, porém *Ostrea* apresenta mais alternância entre os sexos. Outra diferença na reprodução é a eliminação de esperma, em forma de “sperm-balls” em *Ostrea* e de modo desordenado em *Crassostrea*. Os ovócitos de *Crassostrea* são em geral menores e liberados na água para a fecundação, ao contrário de *Ostrea* que inala os “sperm-balls”, fecundando os ovócitos que se encontram na cavidade do manto, mantendo as larvas boa parte de seu desenvolvimento sob sua proteção (AHMED, *op cit.*), em um processo popularmente denominado “incubação”.

Quanto à morfologia externa, *Crassostrea* tende a ser mais alongada que *Ostrea* e em muitas espécies a impressão do músculo adutor apresenta-se pigmentada e excêntrica quanto ao eixo da concha, não possuindo, em fase adulta, dentes nas bordas das conchas (QUEIROZ & SILVEIRA JUNIOR, 1990). Essa é a característica mais marcante na diferenciação dos dois gêneros. Em *Crassostrea* também há uma câmara promial que aumenta o fluxo da água em contato com o manto, permitindo a estes animais viverem em locais com uma turbidez mais acentuada, como o de estuários (AHMED, 1975 e LAWRENCE, 1995).

As ostras do gênero *Crassostrea* são chamadas de “cupped oysters”, que em português, seria “ostras-taça”, por causa do formato côncavo característico da valva inferior (MESQUITA, 1993). Sua concha apresenta um alto grau de plasticidade morfológica (Figura 1), podendo ter uma gama muito grande de formatos e tamanhos, fortemente influenciados pelo substrato. A

coloração externa é variável, predominando tons esbranquiçados, com nuances de vermelho, azul, violeta ou preto, não tendo um padrão definido (RODRIGUEZ & GARCIA-CUBAS, 1986). GALTSOFF (1964) descreve a cicatriz do músculo adutor, também denominada, impressão muscular, como a região mais eminente da região interna da valva de *Crassostrea*, apresentando uma marca característica em ligeira depressão. A impressão muscular neste gênero segue o padrão semi-lunar, alojado no quadrante postero-ventral, com a concavidade voltada ao umbo (figura 2). A forma e a dimensão desta impressão segue o padrão geral da concha, sendo-lhe proporcional. A coloração dessa impressão muscular é variável, conforme a espécie, sendo para alguns autores, como ABBOTT (1974), RIOS (1994) e LEAL (2002), um caractere taxonômico importante. RODRIGUEZ & GARCIA-CUBAS (1986) abordam o fato de que as características das partes moles do corpo também podem apresentar dados importantes para a taxonomia, como a conformação da borda do manto e estruturas do sistema digestório, como posição e formato da boca, tamanho e estrutura interna do esôfago, forma e composição do estilete cristalino e a forma e estrutura interna do intestino (figura 3).

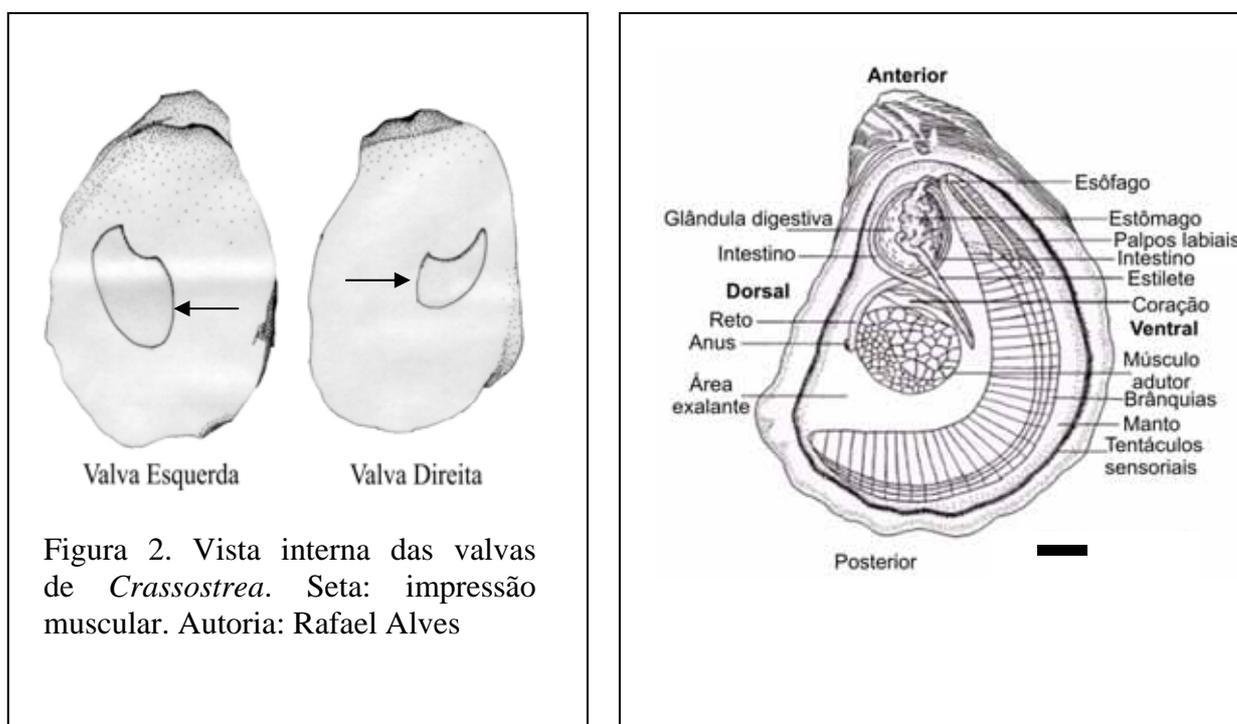


Figura 2. Vista interna das valvas de *Crassostrea*. Seta: impressão muscular. Autoria: Rafael Alves

Conforme EBLE & SCRO (1996), a borda do manto é composta por três lobos: um mais interno, chamado lobo palial, provido de tentáculos; um lobo central denominado sensorial, também recoberto por tentáculos e o lobo externo, ou da concha, responsável pela formação da concha (figura 4), sendo representativa para a taxonomia a conformação dos tentáculos nos lobos sensorial e palial, pois é encontrada uma grande variabilidade no número e no formato dos

mesmos. GALTSOFF (1964) cita que a configuração entre os tentáculos nas diversas espécies de *Crassostrea*, é muito semelhante e MESQUITA (1993) afirma haver uma variação individual na disposição dos tentáculos da borda mediana, tanto em número quanto em formato no manto da espécie *C. rhizophorae*.

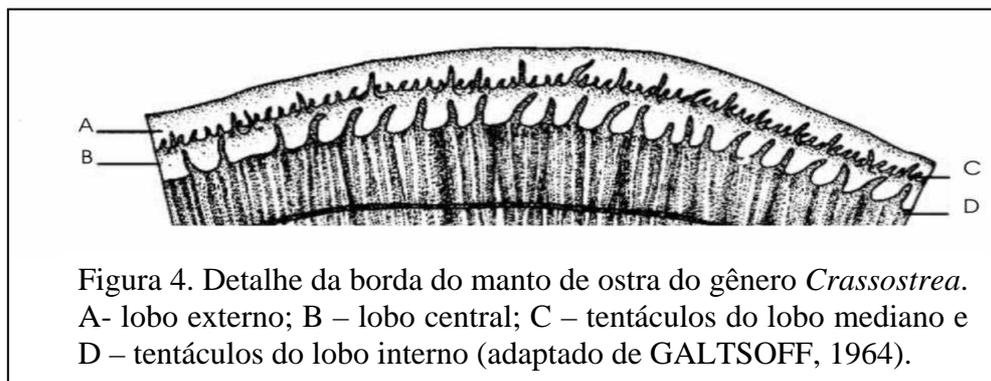


Figura 4. Detalhe da borda do manto de ostra do gênero *Crassostrea*. A- lobo externo; B – lobo central; C – tentáculos do lobo mediano e D – tentáculos do lobo interno (adaptado de GALTSOFF, 1964).

SANTOS (1978) afirma que o gênero *Crassostrea* tem uma intrincada história de nomes e classificações no litoral brasileiro, sendo muito importante citar que elas sofreram sucessivas mudanças na classificação, passando em sua maioria por vários nomes distintos e que ainda não alcançaram um consenso quanto a sua real posição sistemática e sua distribuição geográfica precisa. AHMED (1975) cita a presença de *C. virginica* para nosso litoral. É a citação de espécie de ostra mais antiga de nosso litoral, presente em obras clássicas como IHERING (1963) que lança a distribuição desta espécie para os extremos norte e sul do país. RIOS (1994) nega isto literalmente e, de forma categórica, afirma não existir esta espécie em território brasileiro. WAKAMATSU (1975) sugere que a ostra nativa presente no litoral compreendido entre a foz do rio Amazonas e o estado do Rio Grande do Sul seja somente *C. brasiliana* (Lamarck 1819). Segundo RIOS (1994), esta é uma sinonímia de *C. rhizophorae* (Guilding, 1828). Todavia se as duas espécies são na realidade uma só, o correto seria assumir a descrição mais antiga como sendo a da espécie válida. Outros autores como ABSHER (1989), CHRISTO (1999) e IGNACIO *et al.* (2000) defendem a existência paralela das duas espécies.

RIOS (1994) também considera sinonímia de *C. rhizophorae* a subespécie *C. rhizophorae praiá* (Ihering, 1907), considerada não válida. BOFFI (1979) cita a distribuição de *C. rhizophorae* do Caribe até o Brasil, possivelmente até o Paraná.

Há também a citação da ocorrência de espécies menos comuns e muitas vezes não consideradas no Brasil: *C. parasitica* (Gmelin, 1791), descrita para o litoral paulista por IHERING (1963), espécie nativa do Oceano Índico (MESQUITA, 1993); *C. guyanensis* Ranson, 1967, na região norte do país (Pará ao Ceará) e *C. lacerata* (Hanley, 1845), para a foz do rio

Amazonas (SANTOS, 1978); *C. paraibanensis* (Singarajah, 1980) para o nordeste (SINGARAJAH, 1979) e *C. arborea*, (Chemnitz, 1785), descrita para o sul do Brasil em raízes de *Rhizophora mangle*, considerada sinônimo de *C. rhizophorae* (MESQUITA, 1993).

Segundo ITIS (2004) (*Integrated Taxonomic Information System*) existem sete espécies oficialmente aceitas no gênero *Crassostrea*: *C. angulata* (Lamarck, 1819), *C. chilensis* (Philippi, 1844), *C. columbiensis* (Hanley, 1846), *C. corteziensis* (Hertlein, 1951), *C. gigas*, *C. rhizophorae* e *C. virginica*.

ABSHER (1989) realizou estudos com o desenvolvimento larval de duas populações distintas de *Crassostrea* da região de Paranaguá e, juntamente com e IGNACIO *et al.* (2000) aplicaram técnicas de eletroforese de enzimas, tentando localizar parâmetros que permitissem uma diferenciação entre populações distintas de ostras. Segundo esses autores existem duas espécies: a ostra do meso litoral é *C. rhizophorae* e a do infralitoral, *C. brasiliana* (Lamarck, 1819). Todavia essas definições não são bem claras. CHRISTO (1999), seguindo a linha de ABSHER (*op. cit.*) analisou o desenvolvimento da prodissoconcha de três populações de *Crassostrea*, chegando, também, à conclusão de que existem duas espécies de ostras nativas no litoral de Paranaguá.

Segundo LAPÈGUE *et al.* (2002), três espécies de *Crassostrea* estão formalmente descritas para o Atlântico Sul: *C. gasar* (Adanson, 1757) para a África, *C. rhizophorae* e *C. brasiliana* para a América do Sul, sendo os dados desta última baseados em ABSHER (1989). Por serem animais de profundo interesse econômico, suas relações vêm sendo estudadas por vários pesquisadores das mais diversas áreas, pois ainda não são conhecidas ao certo suas distribuições geográficas e nem mesmo suas afinidades filogenéticas. Os estudos moleculares de VARELA *et al.* (2004) revelaram uma forte similaridade entre a ostra nativa da região norte do Brasil e *C. gasar* africana.

O estudo da taxonomia de ostras esteve baseado, até poucos anos, quase que exclusivamente em observações morfológicas das conchas de representantes fósseis e recentes. Estes dados, porém, podem levar à conclusões errôneas quanto à posição de determinadas espécies em sua árvore filogenética (BUROKER *et al.* 1979).

HEDGECOCK & OKAZAKI (1984) afirmam que as ostras do gênero *Crassostrea* mantêm afinidades sistemáticas incertas e semelhanças morfológicas muito intensas, o que dificulta muito a identificação. Estes autores sugerem que os métodos mais eficientes para esta distinção sejam aqueles que levem em consideração a estrutura ou seqüências do DNA.

Segundo GUERRA & SOUZA, (2002) a análise cromossômica continua sendo a única maneira de observar todo o genoma na forma de blocos individualizados, passíveis de mensuração.

KLACZKO (2000) afirma que a cariotipagem de uma espécie ainda é muito informativa, sobretudo para estudos com objetivos de comparações interespecíficas, ou seja, citotaxonômicas, nas quais normalmente examinam-se o número, o tamanho e a forma (posição do centrômero e/ou presença e posição de constrições) de cromossomos metafásicos, buscando encontrar diferenças e semelhanças.

LEVAN *et al.* (1964) postularam a forma de classificação de cromossomos mais utilizada até o momento. Esta se fundamenta na posição do centrômero na extensão total do cromossomo. A base desta classificação está no cálculo do índice centromérico ( $i$ ), em que se divide o comprimento do braço curto pelo comprimento total do cromossomo. Ainda hoje o cromossomo pode ser classificado como: metacêntrico -  $m$  ( $5 \geq i > 3,75$ ), sub-metacêntrico -  $sm$  ( $3,75 \geq i > 2,5$ ), sub-telocêntrico -  $st$  ( $2,5 \geq i > 1,25$ ), acrocêntrico -  $a$  ( $1,25 \geq i > 0,25$ ) e telocêntrico -  $t$  ( $i \leq 0,25$ ).

Os primeiros estudos realizados com a citogenética de ostras estão intimamente ligados com o início do estudo dos cromossomos dos moluscos em si, geralmente associados unicamente à contagem de cromossomos. COE (1931) identificou pela primeira vez os cromossomos em *Ostrea lurida* Carpenter, 1864. CLELAND (1947) determinou o número haplóide mais freqüente de bivalentes para a espécie *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley, 1933):  $n=10$ . AHMED & SPARKS (1967) identificaram 10 cromossomos ( $n=10$ ) em ovócitos de *C. gigas*. LONGWELL *et al.* (1967) realizaram estudos com *C. virginica*, determinando seu número haplóide igual a 10 cromossomos e citando pela primeira vez a classificação dos cromossomos, seis metacêntricos e quatro submetacêntricos. Na década de setenta, AHMED (1973) realizou o primeiro estudo citogenético comparativo entre várias espécies de ostras, comparando células meióticas de *C. rivularis* (Gould, 1861), *C. tuberculata* (Gould, 1850), *C. glomerata* (Gould, 1850), *C. virginica* e *O. folium* Linnaeus, 1758, confirmando para todas o número haplóide de dez bivalentes.

RODRIGUEZ-ROMERO *et al.* (1979a) reportam pela primeira vez a utilização da técnica de “air drying” (método onde as lâminas, após a preparação citogenética, secam diretamente ao ar, sem a utilização de estufa ou chama) em células mitóticas para obtenção dos cromossomos da espécie *C. corteziensis*. Em um estudo comparativo entre os cariótipos de *C. virginica* e *C. corteziensis*, RODRIGUEZ-ROMERO *et al.*, (1979b), constataram que a primeira espécie possuía cinco pares metacêntricos e cinco submetacêntricos e *C. corteziensis* possui sete pares

metacêntricos e três submetacêntricos. Na década de oitenta, pela primeira vez, THIRIOT-QUIÉVREUX & AYRAUD (1982) padronizaram uma técnica citogenética específica para utilização em moluscos, em que foram adaptadas as técnicas de suspensão celular, amplamente utilizada em tecidos de vertebrados, em conjunto com a técnica de “air drying”, com o ponto forte de não necessitar mais de gametas para as análises, utilizando tecidos somáticos para obtenção de células mitóticas, sendo um grande avanço nesse ramo da ciência.

THIRIOT-QUIÉVREUX (1984a) utilizou pela primeira vez a citogenética para resolver um problema taxionômico referente às espécies *C. gigas* e *C. angulata*, onde existia certa celeuma lançada por MENZEL (1974), a respeito de serem ou não uma espécie única. Com base na forma dos cromossomos, foi possível concluir que as diferenças eram mínimas. Neste mesmo período THIRIOT-QUIÉVREUX (1984b) estabeleceu um protocolo metodológico específico para cariotipagem de ostreídeos e mitilídeos com base na técnica de identificação da região organizadora de nucléolo (RON), descrita por HOWELL & BLACK (1980), que acrescentou uma nova característica a ser considerada na citotaxonomia de ostreídeos.

Outras formas de bandeamento, também já foram utilizadas em citogenética de moluscos, como por exemplo a detecção da heterocromatina (banda-C) (DIXON *et al.*, 1986, JACOBI *et al.*, 1990, INSUA & THIRIOT-QUIÉVREUX, 1991 e PAULS & AFFONSO, 2000).

Outra área que vem se desenvolvendo com muita velocidade é a hibridização *in situ* (FISH), onde se utilizam sondas de DNA sensíveis ao ultravioleta, que ocupam porções específicas dos cromossomos, provendo um bandeamento, como descreveu (WANG *et al.* 2001 e 2004 e CROSS *et al.* 2003).

Com a chegada do novo milênio, novas técnicas também estão surgindo para auxiliar na citotaxonomia, como a cultura de tecido branquial, descrita por CORNET (2000), fornecendo um número muito maior de células mitóticas que os métodos anteriores.

MÁRQUEZ (1992) realizou um dos primeiros estudos de comparação entre o cariótipo de *C. virginica* (6 m e 4 sm) e *C. rhizophorae* (8 m e 2 sm) o qual foi aprofundado por GUEVARA *et al.* (1996), que além destas espécies estudaram também *C. corteziensis*, aplicando pela primeira vez métodos estatísticos baseados nas diferenças do índice centromérico e de tamanho relativo dos cromossomos na classificação das espécies, produzindo um dendrograma representando as distâncias entre as espécies. LEITÃO *et al.* (1999) aprimoraram a comparação taxonômica implementando técnicas estatísticas, como análise de componentes principais (PCA) e análise de “cluster” para agrupar as espécies confrontadas juntamente com análise de AgNOR,

concluindo que *C. angulata* (9 m e 1 sm), *C. sikamea* (Amemiya, 1928) (9m e 1sm), *C. virginica* (8 m e 2 sm), *C. ariakensis* (Fujita 1913) (8 m e 2sm), *C. gasar* (6 m e 4 sm) e *Saccostrea comercialis* (Iredale & Roughley, 1933) (8 m e 2 sm) são realmente espécies distintas, apresentando também sítios ativos de NOR em posições diferentes: par 10, pares 9 e 10, pares 1 e 5, pares 9 e 10, par 2 e pares 9 e 10, respectivamente. Uma constante em todos os estudos com ostras do gênero *Crassostrea* é o seu número de cromossomos  $2n = 20$ , sendo metacêntricos e/ou submetacêntricos em todas as espécies.

THIRIOT-QUIÉVREUX (2002) revisa os resultados a respeito de citogenética de moluscos bivalves, sendo que até o momento conhecem-se aspectos citogenéticos de 13 espécies da família OSTREIDAE, tendo todas elas em comum o fato de apresentarem  $2n=20$ .

O presente trabalho tem como objetivo contribuir para um maior conhecimento sistemático das ostras do gênero *Crassostrea* nativas da região de Florianópolis, visando fornecer subsídios ao desenvolvimento do cultivo. Para tanto, foram estudadas a anatomia das conchas e as categorias morfológicas dos cromossomos mitóticos, através da técnica de suspensão celular, descrita por ALVES (2002) e a presença de regiões organizadoras de nucléolo ativas nos cromossomos, objetivando melhorar a identificação das espécies desse grupo animal.

**MANUSCRITO:**

Redigido de acordo com as normas da revista *Brazilian Archives of Biology and Technology* – BAPT.

# Estudo taxonômico de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897 da região da Grande Florianópolis – Brasil

Rafael Alves\* & Aimê Rachel Magenta Magalhães

Departamento de Aqüicultura, CCA - Universidade Federal de Santa Catarina. Rodovia SC 404, Km 03 - Itacorubi, Florianópolis, SC, Brasil. CEP 88340-001 - bioralves@uol.com.br

## ABSTRACT

Mariculture is currently in expansion along the coast of the state of Santa Catarina, making Florianópolis the biggest producer of Japanese oysters in Brazil. In regards to native oysters, further studies are needed to establish culturing strategies in order to elucidate the complex phylogenetic issues concerning the Brazilian *Crassostrea* species. The aim of the present work was to contribute toward the systematic study of *Crassostrea* oysters in Florianópolis (southern Brazil). The study was divided into two parts: a morphologic study (with emphasis on shell characteristics) and a cytogenetic study. In the morphologic study, 16 shell parameters were measured, including pigmentation of the muscular impression and conformation of the mantle edge tentacles. In the cytogenetic study, the karyotype and ag-NOR stain were analyzed. The study of the taxonomy of oysters based on shell morphology did not yield enough data for classification. It did, however, separate the external group, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). The analyses of the muscular impression pigmentation and the conformation of the mantle edge tentacles were also insufficient for classification. The cytogenetic study showed that the chromosomes of these animals are  $2n=20$ ; all were metacentric and the Number 2 pair was metacentric/submetacentric (m/sm). The ag-NOR stain demonstrated the presence of NOR in the long arm of the Number 2 pair. Through the PCA analysis it was possible to separate the native oysters from the *C. gigas*, as the native species are very similar to one another. The cluster analysis of Atlantic and Caribbean oysters demonstrated the similarity between the native oysters and *C. rhizophorae* (Guilding, 1828). Nonetheless, it was not possible to affirm that they are the same specie. Based on these results, the present study suggests that the oysters from the Florianópolis coast should be identified as *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819).

**Key words:** Ostras; *Crassostrea*; Citogenética; Cromossomos; “Cupped Oysters”

## INTRODUÇÃO

O fascínio pelas ostras acompanha a humanidade desde seus primórdios. Os primeiros cultivos apareceram antes da era cristã, sendo os primeiros registros na Roma antiga (Santos, 1978). No litoral brasileiro ocorre a presença de conchas de ostras em diversos sambaquis, sendo alguns com mais de cinco mil anos (Gaspar, 2000).

Berger (1990) em sua coletânea sobre relatos de viagens à Ilha de Santa Catarina, nos séculos XVIII e XIX localizou dois registros referentes a ostras nativas, o primeiro, datado de 1726, relatado por George Shelvocke que escreveu sobre pequenas e deliciosas ostras verdes fixadas em raízes de árvores no mangue. O segundo foi escrito por Antoine Joseph Pernetty, em 1763, que

cita a presença de deliciosas ostras brancas de cinco polegadas de diâmetro.

A classificação das ostras sempre foi complexa e problemática e, desde o início do sistema de nomenclaturas, ocorreram diversos erros e muitas sinonímias (Rodriguez & Garcia-Cubas, 1986).

Segundo Lapègue *et al.* (2002), três espécies de *Crassostrea* Sacco, 1897, são formalmente descritas para o Atlântico Sul: *C. gasar* (Adanson, 1757) para a África, *C. rhizophorae* (Guilding, 1828) e *C. brasiliiana* (Lamarck, 1819) para a América do Sul. Apesar de serem animais de grande interesse econômico, a falta de conhecimento sobre a identificação, afinidades filogenéticas e a distribuição geográfica são fatores que têm dificultado o desenvolvimento de seu cultivo.

\* Autor para correspondência

Santos (1978) esclarece que o gênero *Crassostrea* tem uma intrincada história de nomes e classificações no litoral brasileiro, sendo importante citar que elas sofreram sucessivas mudanças de identificação e que ainda não alcançaram um consenso quanto a sua real posição sistemática e sua distribuição geográfica precisa.

O estudo da taxonomia de ostras tem se baseado quase que exclusivamente em observações morfológicas das conchas, que podem levar a conclusões errôneas quanto à posição filogenética (Buroker *et al.* 1979). Segundo Hedgecock & Okazaki (1984), as ostras do gênero *Crassostrea* mantêm afinidades sistemáticas incertas e semelhanças morfológicas muito intensas, o que dificulta sua identificação. Por isso sugerem a utilização de métodos que levem em consideração a estrutura ou seqüências do DNA.

Vários autores como Ahmed & Sparks (1967), Longwell *et al.* (1967), Ahmed (1973), Rodriguez-Romero *et al.* (1979), Thiriot-Quévieux (1984a e 1984b), Márquez (1992), Guevara *et al.* (1996) e Leitão *et al.* (1999), em estudos citogenéticos com ostras do gênero *Crassostrea*, constataram que todas as espécies examinadas apresentavam o mesmo cariótipo ( $2n = 20$ ) com cromossomos metacêntricos e submetacêntricos.

O presente trabalho teve como objetivo contribuir para o estudo da sistemática de ostras do gênero *Crassostrea* da região da Grande Florianópolis – SC – Brasil, como subsídio ao desenvolvimento das técnicas de cultivo. Para tanto, foi estudada a anatomia das conchas e da borda do manto; a categoria morfológica dos cromossomos mitóticos; a presença e a posição da região organizadora de nucléolos (RON); a quantidade de nucléolos formados nas células interfásicas e o número haplóide em células meióticas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Local de estudo

A Ilha de Santa Catarina, situada entre as latitudes 27°25' e 27°50', possui uma área de aproximadamente 423Km<sup>2</sup>, apresentando direção geral NE-SW. Encontra-se separada do continente pelas baías Norte e Sul, cujas profundidades máximas atingem 11m. As duas baías comunicam-se através de um estreito com aproximadamente 500m de largura e 28m de profundidade. O relevo da Ilha de Santa Catarina é marcado pela associação de duas unidades geológicas maiores: as elevações dos maciços

rochosos e áreas planas de sedimentação. (GAPLAN, 1996).

### Coleta de material

Durante o mês de março de 2003 foram coletadas 50 ostras, com tamanho variando entre 4 e 6 cm de altura (Figura 2), em quatro locais nas baías da Ilha de Santa Catarina e um no continente, mais ao sul, na foz do rio Massiambú (Figura 1). Os animais foram acondicionados em estruturas de cultivo de ostras (lanternas), separadas por local de coleta e mantidas até agosto de 2003 no cultivo experimental do LMM (Laboratório de Moluscos Marinhos) da UFSC na praia da Ponta do Sambaqui. Também neste local foram mantidas em lanternas de cultivo ostras da espécie *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) utilizadas como grupo externo neste experimento.

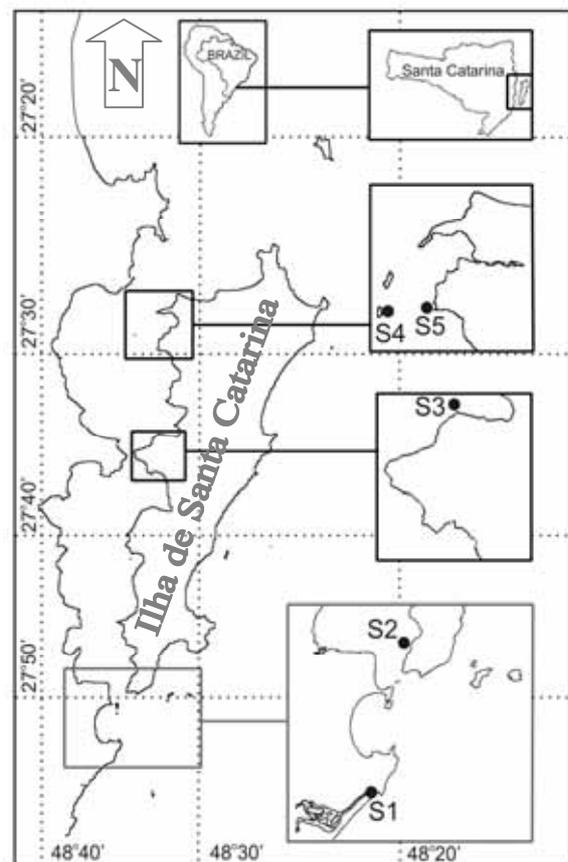


Figura 1 – Mapa da Região Metropolitana de Florianópolis com destaque para os locais de coleta: S1 - foz do rio Massiambú; S2 - Praia da Caieira da Barra Sul; S3 – Ponta do Coral; S4 – Ilha de Ratoes Pequeno; S5 – Ponta do Sambaqui.

### Procedimento de laboratório

Foram utilizados aleatoriamente para este estudo, 23 animais de S1, 25 de S2 a S4 e 37 de S5. Foram mensurados sete parâmetros em cada uma das valvas (Figura 2). Foram também analisadas a forma e a disposição dos tentáculos da borda do manto na área inalante, a coloração da borda do manto e da impressão do músculo adutor. Destes animais, 5 de cada estação foram tratados com banhos de colchicina 0,005%, em água do mar, por 12 horas e, em seguida, submetidos a um choque hipotônico com água destilada por uma hora. As células mitóticas foram obtidas através de células das brânquias e as meióticas através de células germinativas extraídas do interior dos canais genitais, para análise através do método de suspensão celular (Thiriot-Quievreux & Ayraud, 1982). As lâminas foram preparadas por “air drying” e coradas com Giensa (4%, pH 6,8) por 10 minutos (Alves, 2002) e para identificação da RON foi utilizado o método AgNOR (Howell & Black, 1980). As metáfases foram fotografadas e os cromossomos estudados e classificados de acordo com Levan *et al.* (1964). Para o estudo citotaxonomico foram analisadas 98 metáfases mitóticas, em 25 animais, para as ostras nativas e 14 metáfases em cinco animais para *C. gigas*, com o índice centromérico submetido à análise de componentes principais (PCA). Os dados estatísticos foram tratados pelo programa Microsoft Excel 2002 com o plug-in XLstat-pro v.5.2.

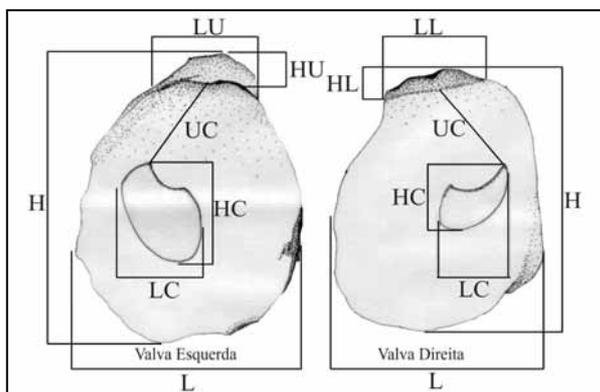


Figura 2. Parâmetros medidos nas valvas das ostras: H- Altura; L- Largura; HU- Altura do umbo; LU- Largura do umbo; UC- Distância entre o umbo e a impressão muscular; HC- Altura da impressão muscular; LC- Largura da impressão muscular; LL- Largura do ligamento e HL- Altura do ligamento.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na biometria das valvas foram agrupados através da análise de correspondência, através do qual puderam ser comparadas as características das conchas entre cada animal analisado. Pode-se observar a existência de dois blocos principais, um formado pelas ostras nativas e outro pela *C. gigas* (Figura 3). A análise de correspondência também traduz o fator de interdependência entre os valores mensurados, mostrando que a ligação entre os dois grupos é fraca (55,57%), sendo suficiente apenas para separá-los em dois grupos. A Figura 3 mostra, também, sobreposição das características morfológicas analisadas nas ostras coletadas nas 5 localidades e foi útil na confirmação da escolha do grupo externo.

Através da análise visual foi possível dividir os animais em três morfotipos distintos, com características de concha visivelmente diferentes, divididos em: 1. MI (Figura 4A), corresponde à grande maioria das ostras estudadas (94,07%). O animal se apresenta de pequeno tamanho, com bordas de crescimento muito discretas, possuindo a valva inferior côncava e ligeiramente maior que a superior; 2. MII (Figura 4B) encontrado em 3,70% da amostra, correspondente a ostras coletadas em S4. Estas se destacaram por apresentar um crescimento muito maior que o resto da amostra; 3. MIII. (Figura 4C) correspondente a 2,23% da amostra e foram encontradas em S1. Estas ostras se destacam por apresentar uma característica menos folhosa, possuem a valva superior côncava e a inferior plana, além de terem as conchas mais pigmentadas. Leal (2002) descreve a concha de *C. rhizophorae* de forma muito semelhante à MII e *C. virginica* de forma semelhante à MIII, não tendo, porém, nenhuma descrição que combine com MI. Abbot (1974) também apresenta uma descrição de *C. virginica* muito semelhante à MIII, colocando ainda a mesma como sinônimo de *C. brasiliiana*, com distribuição no Brasil (Absher, 1989; Christo, 1999; Ignacio *et al.*, 2000 e Lapègue *et al.*, 2002). Abbot (*loc. cit.*) descreve *C. rhizophorae* de forma muito similar às encontradas neste estudo (MI). Rios (1994) descreve *C. rhizophorae* de forma muito semelhante às características de MI, afirmando categoricamente que *C. virginica* não ocorre em território brasileiro.

Na impressão do músculo adutor pôde-se notar uma grande variação na quantidade de pigmentação de cor púrpura, sendo dividida em quatro classes visuais (Figura 5) com a distribuição apresentada na figura 7. Estes dados também levam a outro problema de taxonomia. Abbot (1974) e Leal (2002) afirmam de forma contundente que a impressão do músculo adutor de *C. rhizophorae* é branco ou ligeiramente amarelado, com poucas manchas violetas. Isto ocorreu somente em 17% dos animais amostrados neste trabalho. Esses autores também afirmam que *C. virginica* se caracteriza por ter a impressão do músculo muito pigmentada em um tom púrpura, situação que ocorreu em 35% dos animais neste estudo. Rios (1994), em contraste com os autores anteriores, cita que a *C. rhizophorae* é quem possui a impressão púrpura e Mesquita (1993) cita que a coloração pode ser variável, com predomínio da cor esbranquiçada, praticamente da cor do resto da parte interna da valva. Harry (1985) também comenta a variabilidade da coloração da impressão do músculo em ostreídeos, dando ênfase ao fato de que em regiões tropicais ela tende a ser mais pigmentada que em outros locais. Quanto à borda do manto podemos separar três disposições principais. Na figura 6, nos itens A, B e C, pode-se notar o padrão mais simples, com a prega interna composta por fileiras simples de

tentáculos. A borda média também é simples, porém com tamanhos variáveis, tentáculos digitiformes curtos, de pequeno diâmetro e digitiformes longos de base alargada, não seguindo um padrão constante, podendo existir de um a seis tentáculos curtos entre um longo e outro. Isto coincide com a descrição de Rodriguez e Garcia-Cubas (1986) e Mesquita (1993), sendo encontrado em 94 % das ostras nativas examinadas. Ainda pode-se observar que a pigmentação dos tentáculos é muito variável.

Na figura 6D é possível observar um tipo de borda mais complexa, formada por fileiras múltiplas de tentáculos basicamente de dois tamanhos diferentes, que ocorreu somente em 13,5% das ostras examinadas. Na figura 6E podemos observar o padrão de tentáculos da *C. gigas*, composto por fileiras simples, com tamanhos variados, sendo os longos maiores que os encontrados nos outros animais, fato este que confere com o descrito por Rodriguez e Garcia-Cubas (1986). Galtsoff (1964) cita que a configuração entre os tentáculos nas diversas espécies de *Crassostrea* é muito semelhante, afirmação esta sustentada por Mesquita (1993). Este autor acrescenta haver uma variação na disposição dos tentáculos da borda mediana, tanto em número quanto em formato,

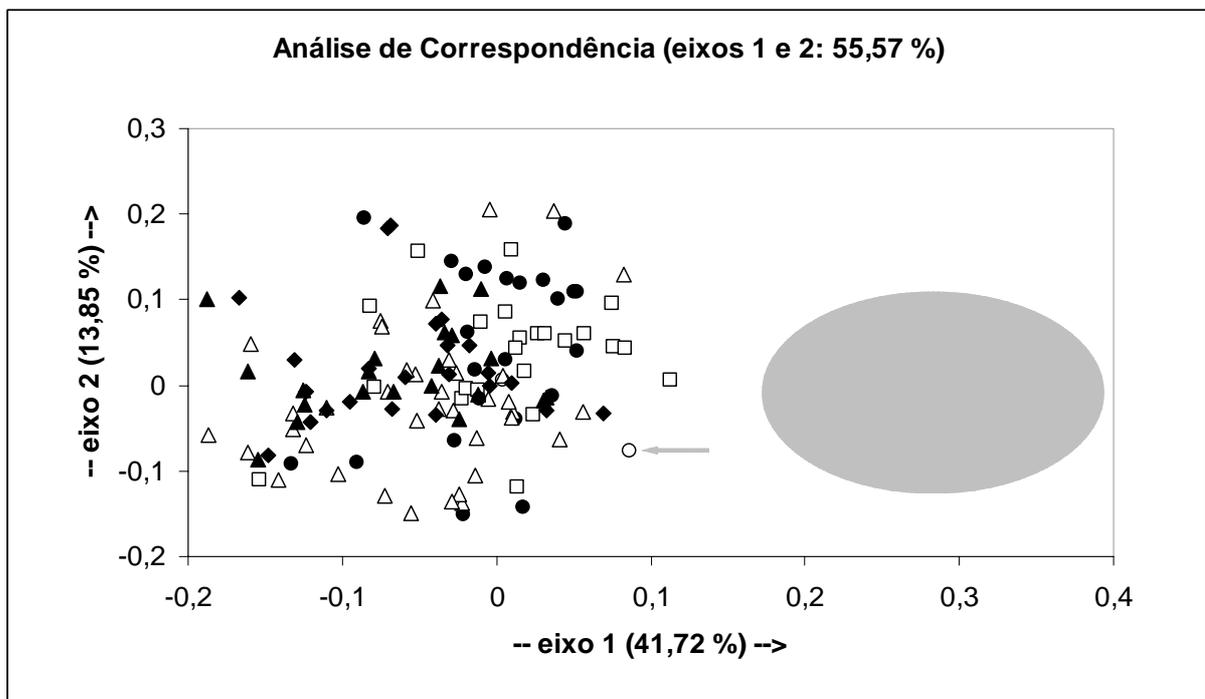


Figura 3 – Análise de correspondência entre os parâmetros de conchas de ostras do gênero *Crassostrea*. ○ *C. gigas*; ● S1; □ S2; ▲ S3; △ S4; e ◆ S5

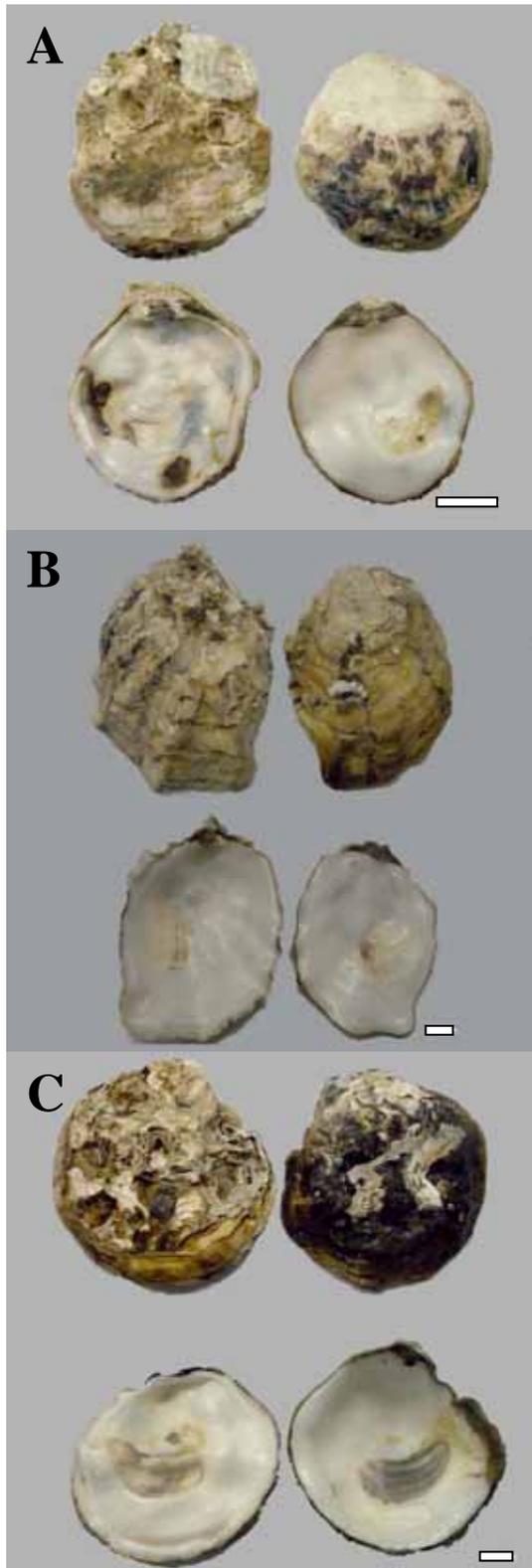


Figura 4. Morfotipos das ostras coletadas: A – M I; B – M II; C – M III (Vistas interna e externa das duas valvas). Barra = 1cm

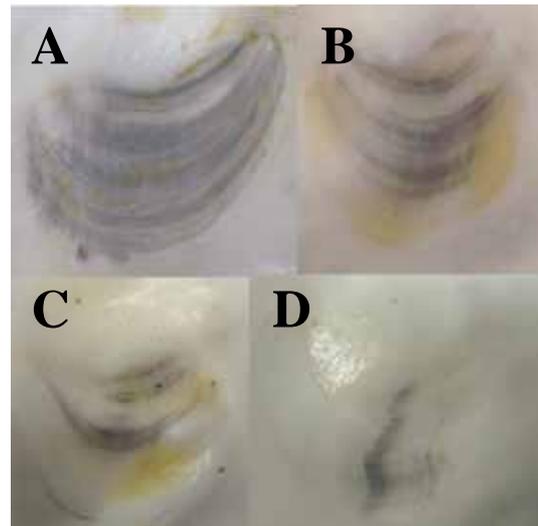


Figura 5. Impressão do músculo adutor: A - Muito pigmentado; B - Pigmentado, C - Pouco pigmentado; D - Não pigmentado

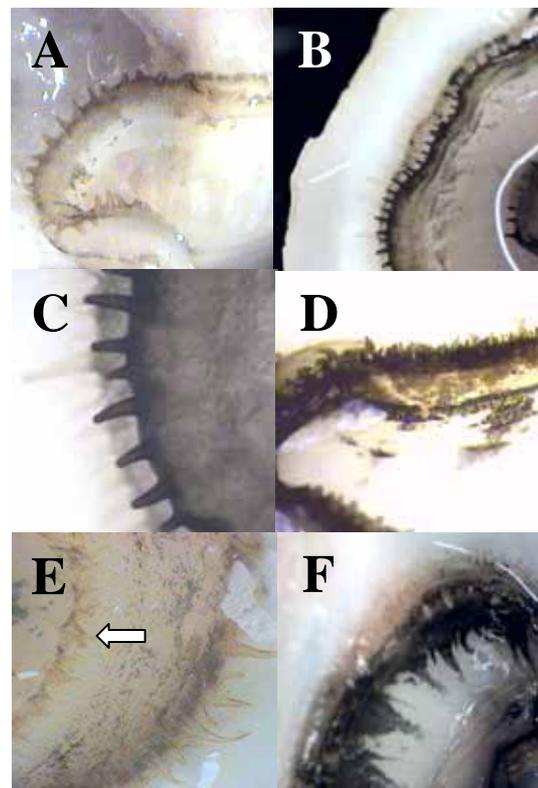


Figura 6. A – Prega interna da borda do manto de ostra nativa; B e C – Pregas interna (pigmentada) e mediana (clara) de ostra nativa; D - prega mediana (pigmentada) da borda do manto de ostra nativa; E – Prega interna (seta) e mediana de *C. gigas*; F – Padrão de pigmentação no manto de ostra nativa.

colocando, também, que a contração muscular característica do tecido pode conduzir a erro de descrição. Rodriguez e Garcia-Cubas (1986) consideram os formatos dos tentáculos como um caractere taxonômico importante. Quanto à pigmentação do manto, encontrou-se uma grande variação, sendo a maioria branco amarelada (78%) e o restante apresentou pigmentos escuros próximo da borda e nos tentáculos (Figura 6F), fato que segundo Mesquita (1993) e Rodriguez e Garcia-Cubas (1986) não deve ser levado em conta para a taxonomia, pois a coloração varia de acordo com o ambiente, alimentação e maturação sexual.

Assim, os dados aqui obtidos confirmam as afirmações de Buroker *et al.* (1979), a respeito do estudo da taxonomia de ostras levar a conclusões errôneas quanto à posição de determinadas espécies em sua árvore filogenética, quando baseado somente em observações morfológicas das conchas, pois encontramos várias contradições

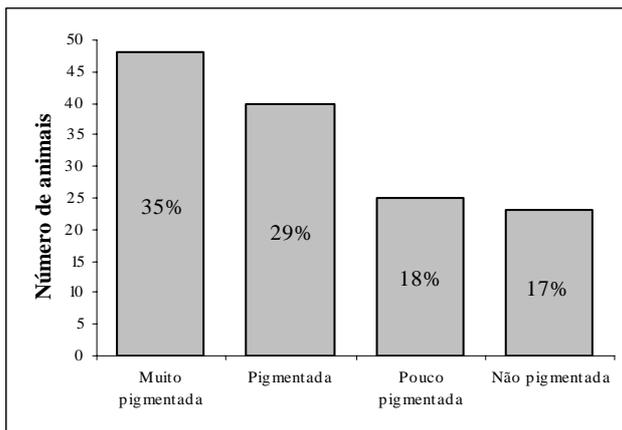


Figura 7 – Quantidade absoluta e relativa de ostras nativas nos diferentes níveis de pigmentação da impressão do músculo adutor.

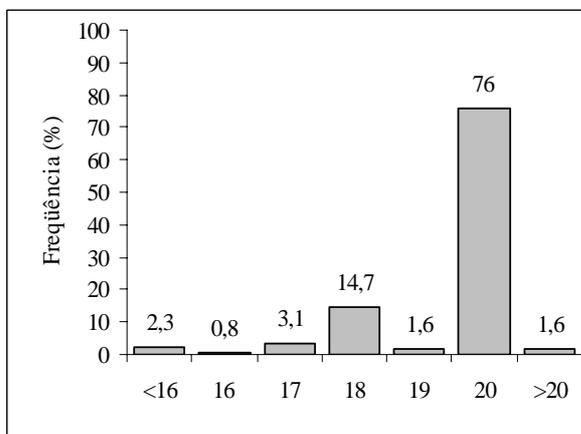


Figura 8. Frequência do número de cromossomos nas 129 metáfases observadas

no que se referente a descrições clássicas de espécies de ostras e uma grande homogeneidade entre os diferentes morfotipos analisados.

A análise citogenética permitiu constatar que o número diplóide igual a 20 ocorreu na maioria das 129 metáfases estudadas, encontrando-se também 29 metáfases aneuplóides (22,5 %) e duas poliplóides (Figura 8).

Estas observações corroboram os dados obtidos para o gênero por Thiriote-Quévieux (1984a e 1984b) e Leitão *et al.* (1999), que afirmam que o número diplóide é 20. O percentual de células aneuplóides ficou próximo do encontrado em outros ostreídeos (Thiriote-Quévieux, 1986, Insua & Thiriote-Quévieux, 1991 e 1993). Este valor é ainda mais reduzido quando se compara a estudos que utilizam células reprodutivas ou embrionárias, onde ocorrem índices muito maiores (Pauls & Affonso, 2000). Em área com contaminação por hidrocarbonetos e outros metais pesados que provocam aberrações numéricas nos cromossomos (Dixon & Wilson, 2000), o número de aneuplóides é também maior.

O estudo demonstrou que dos dez pares de cromossomos, nove são metacêntricos (m), e

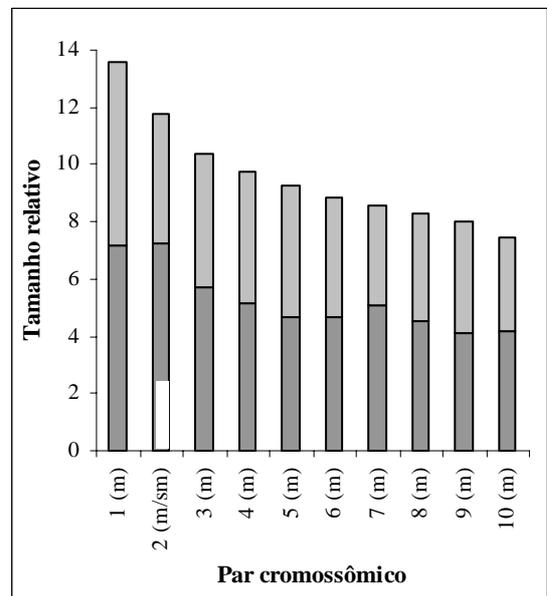


Figura 9. Ideograma dos cromossomos estudados construído com base no tamanho relativo e índice centromérico.

m = metacêntrico;

m/sm = metacêntrico/submetacêntrico

■ Braço curto

■ Braço longo

□ Posição da NOR

um, o par 02, é limítrofe com submetacêntrico (m/sm) (Figuras 9 e 11), estando, estes dados, compatíveis com o descrito para o gênero por Ahmed & Sparks (1967), Ahmed (1973), Rodriguez-Romero *et al.* (1979), Thiriôt-Quévieux (1984a), Marquez (1992), Guevara *et al.*, (1996) e Leitão *et al.* (1999), onde colocam que o formato dos cromossomos pode variar entre metacêntricos e submetacêntricos.

Rios (1994) classifica nossas ostras nativas como *C. rhizophorae*, porém o cariótipo destas não confere com os dados levantados na Venezuela (Márquez, 1992), onde dois pares são submetacêntricos e no México (Guevarra *et al.* 1996), com cinco pares submetacêntricos.

Outra hipótese para classificação destas ostras nativas seria *C. virginica* (Abbott, 1974). Porém, esta espécie também apresenta divergências no cariótipo. Longwell *et al.* (1967), Guevarra *et al.* (1996) e Marquéz (1992) citam quatro pares submetacêntricos e Leitão *et al.* (1999) citam dois. Varela *et al.* (2004) citam que estudos moleculares realizados com ostras nativas da região Norte do Brasil mostraram que a ostra nativa daquela região era equivalente a *C. gasar*, porém as ostras nativas estudadas diferem quanto as características cariotípicas também desta espécie, pois a mesma possui quatro pares submetacêntricos e um par metacêntrico/submetacêntrico.

Das 19 metáfases analisadas para RON, 52% demonstraram sítios ativos na região telomérica do braço longo do par 02 (Figuras 9 e 12). Em muitas espécies, a posição da RON é determinante como diferenciador entre espécies, como demonstrado por Insua & Thiriôt-Quévieux, (1991) e por Leitão *et al.* (1999), sendo seu

conhecimento importante para a caracterização da espécie. Porém alguns autores sustentam que este caractere citogenético pode sofrer polimorfismo, como o que ocorre com alguns mitilídeos (Dixon *et al.*, 1986 e Martínez-Expósito *et al.*, 1994), com *Nodipecten nodosus* (Pauls & Affonso, 2000) e com *C. virginica* (Wang *et al.* 2004). Nesses bivalves possivelmente os níveis de atividade da expressão do gene de rDNA seja variável de acordo com o metabolismo da célula, alternando conforme a função ou o estado do desenvolvimento em que a célula se encontra.

Li & Havenhand (1997) colocam que a técnica de Ag-NOR pode, em alguns casos, não corar em todos as posições que contenham rDNA nos cromossomos por causa da pouca quantidade do mesmo, sendo estes sítios somente visíveis com a utilização de FISH. Estes autores também comentam que é muito comum que haja heteromorfismo na expressão da RON, onde apenas um dos cromossomos homólogos é visualizado corado, fato que não ocorreu neste estudo.

Thiriôt-Quévieux (2002) cita que em moluscos bivalves a RON ocorre principalmente em posições terminais, o que foi observado neste trabalho e também por Insua & Thiriôt-Quévieux (1991), Thiriôt-Quévieux & Insua (1992), Li & Havenhand (1997), Leitão *et al.* (1999) e Cross *et al.* (2003).

Em todas as células meióticas analisadas foram visualizados 10 bivalentes (Figura 13), confirmando o número diplóide encontrado nas células mitóticas.

A análise de PCA da morfometria dos cromossomos (Figura 10) mostra uma separação entre as ostras nativas e *C. gigas*, utilizada como grupo externo, corroborando os resultados obtidos na morfometria das conchas, em que obtivemos resultados semelhantes. Também se observa que não houve diferenciação entre as ostras nativas nas cinco estações de coleta, permanecendo em um único grupo. Deste modo podemos obter um valor médio para visualizarmos as amostras das estações (Tabela 1). Com base nestes dados pode-se visualizar que os cromossomos das ostras das cinco estações são muito semelhantes (Figura 11).

A figura 14 mostra o resultado de uma análise de Cluster entre as espécies citadas para o Atlântico (Lapègue *et al.* 2002 e Leitão *et al.*, 1999) e Caribe (Guevarra *et al.*, 1996 e

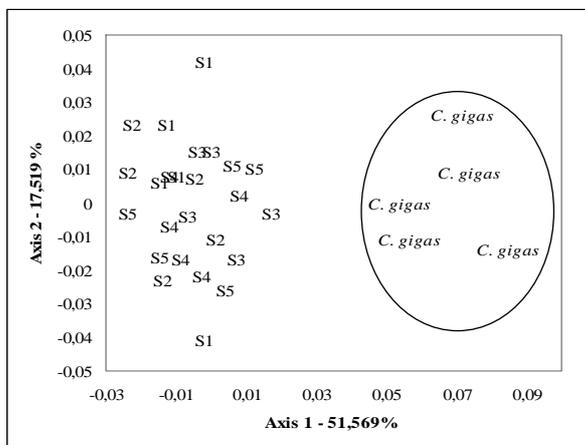


Figura 10 – Análise de componentes principais (PCA) dos índices centroméricos das ostras. Dados transformados pelo  $\log_{10}$ .

Márquez, 1992). É possível notar que a afinidade mais próxima é entre a *C. rhizophorae* do México e depois com a *C. corteziensis* do Caribe, deixando as outras espécies mais distantes.

Absher (1989) realizou trabalho comparativo com cruzamentos e formação de larvas e determinação de isoenzimas em ostras das pedras do meso e infralitoral. Embora todos os cruzamentos tenham formado larvas, essa autora encontrou diferenças nas isoenzimas e sugere a existência de duas espécies de ostras em Paranaguá (PR). Seguindo esta linha de pesquisa, Christo (1999) analisou a morfologia da prodissoconcha de 3 grupos de ostras, as mesmas de Absher (1989) mais *C. gigas*, encontrando diferenças que em seu ponto de vista separavam os 3 grupos. Ignácio *et al.*

(2000) retomam o trabalho de Absher (1989) continuando a análise de enzimas, também encontrando evidências da existência de duas espécies de ostras nativas. Estes autores afirmam que a ostra do infralitoral é *C. brasiliiana*, e a ostra da pedra é *C. rhizophorae*. A acentuada homogeneidade dos cromossomos mantendo o mesmo número diplóide ( $2n=20$ ), a mesma categoria morfológica (m/sm) a conservadora atividade transcricional de rDNA, expresso no segundo par cromossômico sugerem que as ostras das pedras do mesolitoral da região da Grande Florianópolis não são *C. rhizophorae*, assim sustentando a sugestão de Wakamatsu (1975) de se classificar as ostras das pedras como *Crassostrea brasiliiana*.

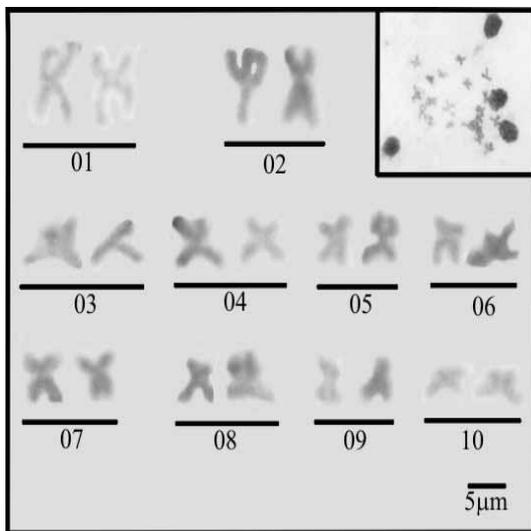


Figura 11 – Cariótipo encontrado durante os experimentos em ostra nativa.

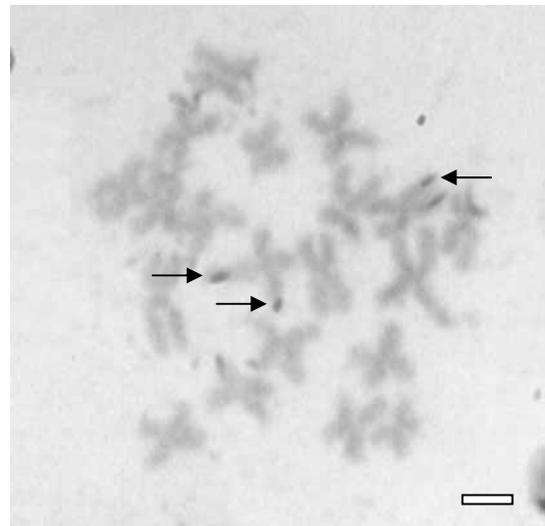


Figura 12. Cromossomos metafásicos evidenciando a região da RON (seta). Barra = 5µm

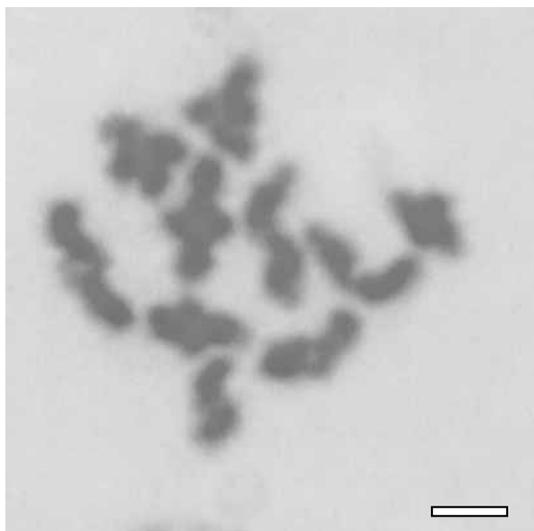


Figura 13. Cromossomos meióticos. Barra = 5µm

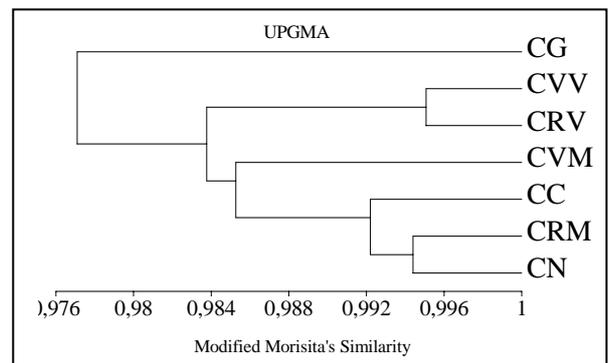


Figura 14 – Análise de Cluster baseado no Índice de Morisita para as espécies: CG – *C. gasar*, CVM – *C. virginica* (Canadá) (Leitao *et al.* 1999), CVV – *C. virginica* (Venezuela), CRV – *C. rhizophorae* (Venezuela) (Marquez 1992), CRM – *C. rhizophorae* (México), CC – *C. corteziensis* (Guevara *et al.*, 1996) e CN – *Crassostrea* nativa da Grande Florianópolis.

Tabela 1 – Valores médios com desvio padrão dos parâmetros dos cromossomos para as cinco estações de coleta e grupo externo.

Cromossomo		Tamanho Relativo	Índice Centromérico	Cromossomo		Tamanho Relativo	Índice Centromérico
<i>C. gigas</i>	1	12,46 ± 0,07	0,451 ± 0,026	S3	1	13,59 ± 0,45	0,466 ± 0,020
	2	11,86 ± 0,05	0,487 ± 0,025		2	12,00 ± 0,42	0,383 ± 0,014
	3	10,96 ± 0,06	0,474 ± 0,040		3	10,65 ± 0,36	0,454 ± 0,023
	4	10,48 ± 0,04	0,459 ± 0,022		4	9,93 ± 0,32	0,470 ± 0,012
	5	10,28 ± 0,03	0,476 ± 0,013		5	9,19 ± 0,30	0,493 ± 0,009
	6	9,86 ± 0,04	0,476 ± 0,007		6	8,84 ± 0,29	0,472 ± 0,007
	7	9,44 ± 0,06	0,464 ± 0,040		7	8,64 ± 0,49	0,411 ± 0,021
	8	9,30 ± 0,05	0,477 ± 0,035		8	8,33 ± 0,30	0,448 ± 0,020
	9	8,68 ± 0,06	0,472 ± 0,028		9	8,01 ± 0,12	0,476 ± 0,025
	10	7,64 ± 0,06	0,474 ± 0,021		10	6,59 ± 0,18	0,438 ± 0,014
S1	1	13,53 ± 0,16	0,473 ± 0,010	S4	1	13,61 ± 0,27	0,473 ± 0,004
	2	11,90 ± 0,17	0,387 ± 0,014		2	11,56 ± 0,54	0,378 ± 0,022
	3	10,47 ± 0,37	0,451 ± 0,033		3	10,43 ± 0,36	0,454 ± 0,020
	4	9,64 ± 0,25	0,468 ± 0,026		4	9,79 ± 0,28	0,476 ± 0,010
	5	9,43 ± 0,16	0,499 ± 0,008		5	9,22 ± 0,16	0,494 ± 0,014
	6	8,89 ± 0,09	0,477 ± 0,001		6	8,83 ± 0,10	0,475 ± 0,006
	7	8,40 ± 0,17	0,394 ± 0,038		7	8,62 ± 0,27	0,420 ± 0,010
	8	8,28 ± 0,33	0,448 ± 0,022		8	8,33 ± 0,30	0,446 ± 0,018
	9	8,03 ± 0,22	0,490 ± 0,015		9	7,95 ± 0,29	0,481 ± 0,018
	10	7,62 ± 0,19	0,440 ± 0,007		10	7,70 ± 0,21	0,439 ± 0,009
S2	1	13,55 ± 0,14	0,477 ± 0,008	S5	1	13,56 ± 0,16	0,477 ± 0,01
	2	11,53 ± 0,29	0,379 ± 0,017		2	11,81 ± 0,49	0,380 ± 0,02
	3	10,13 ± 0,42	0,445 ± 0,016		3	10,27 ± 0,47	0,447 ± 0,02
	4	9,86 ± 0,18	0,474 ± 0,018		4	9,67 ± 0,18	0,471 ± 0,02
	5	9,42 ± 0,10	0,501 ± 0,014		5	9,17 ± 0,22	0,487 ± 0,01
	6	8,87 ± 0,09	0,477 ± 0,009		6	8,84 ± 0,12	0,481 ± 0,01
	7	8,33 ± 0,31	0,398 ± 0,024		7	8,73 ± 0,21	0,417 ± 0,02
	8	8,24 ± 0,34	0,454 ± 0,021		8	8,17 ± 0,30	0,458 ± 0,02
	9	7,98 ± 0,16	0,480 ± 0,019		9	7,92 ± 0,23	0,479 ± 0,01
	10	7,63 ± 0,17	0,438 ± 0,017		10	7,67 ± 0,17	0,436 ± 0,01

## RESUMO

A maricultura está em expansão no litoral de Santa Catarina e o município de Florianópolis é o maior produtor de ostras do Brasil, onde se cultiva a espécie japonesa *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). Há necessidade de estudos que auxiliem a elucidar a identificação das espécies brasileiras do gênero *Crassostrea*. O presente trabalho teve como objetivo contribuir com a sistemática do gênero, para ostras da região da Grande Florianópolis. Para isso, foram coletados 50 animais (*Crassostrea* sp.) em 5 pontos de coleta. Nestes espécimes foram realizadas análises morfológicas e citogenéticas, utilizando *C. gigas* como grupo externo. O estudo baseado na morfologia das conchas não forneceu dados suficientes para identificação, somente isolou o grupo externo. As análises da pigmentação da impressão muscular e da conformação dos tentáculos da borda do manto também não apresentaram dados aplicáveis para a diferenciação. O estudo citogenético confirmou que o número cromossômico é  $2n=20$ , constituído por cromossomos metacêntricos, com o segundo par limítrofe com submetacêntrico. O número haplóide ( $n=10$ ) encontrado nas células meióticas, confirma o número diplóide nas células mitóticas. A Análise de Componentes Principais (PCA) agrupou as ostras nativas diferenciando de *C. gigas*, mantendo-as muito próximas entre si. Através de análise de Cluster englobando as espécies descritas para o Atlântico Sul e Caribe, foi possível aproximar *Crassostrea* sp. de *C. rhizophorae* (Guilding, 1828), porém, sem poder afirmar que sejam a mesma espécie. Os sítios ativos nas regiões organizadoras de nucléolos foram evidenciados na posição telomérica dos braços longos nos cromossomos 3 e 4. Este estudo sugere a aplicação do nome *Crassostrea brasiliiana* (Lamarck, 1819) para a ostra do mesolitoral da Grande Florianópolis.

## REFERÊNCIAS

- Abbott, R.T. (1974), *American seashells*. 2<sup>nd</sup> Ed. Van Nostrand Reinhold Comp, New York
- Absher, T. M. (1989), Populações naturais de ostras do gênero *Crassostrea* do litoral do Paraná – desenvolvimento larval, recrutamento e crescimento. PhD Thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil
- Ahmed, M. (1973), Cytogenetics of oyster. *Cytologia*, **38**, 337-346
- Ahmed, M. & Sparks, A. K. (1967), A preliminary study of chromosomes of two species of oysters (*Ostrea lurida* and *Crassostrea gigas*). *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **24**, 2155-2159
- Alves, R. (2002), Padronização de protocolo para estudo citotaxiômico de *Crassostrea* sp. Graduate Thesis, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil
- Berger, P. (1990), *Ilha de Santa Catarina: relatos de viajantes estrangeiros nos séculos XVIII e XIX*. 2<sup>nd</sup> ed. Editora da UFSC - Assembléia Legislativa de Santa Catarina, Florianópolis
- Buroker, N. E.; Hershberger, W. K. & Chew, K. K. (1979), Population genetics of the family Ostreidae. II. Interspecific studies of the genera *Crassostrea* and *Saccostrea*. *Marine Biology*, **54**, 171-184
- Christo, S.W. (1999), Morfologia e crescimento da prodissoconcha de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897 (BIVALVIA:OSTREIDAE). Msc Thesis, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil
- Cross, I.; L. Vega & Rebordinos, L. (2003), Nucleolar organizing regions in *Crassostrea angulata*: chromosomal location and polymorphism. *Genetica*, **119**, 65-74
- Dixon D.R.; McFadzen, I.R.B & Sisley, K. (1986), Heterochromatic marker region (nucleolar organizer) in the chromosomes of the common mussel, *Mytilus edulis* (Mollusca: Pelecypoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **97**, 205-212
- Dixon, D. R. & Wilson, J.T. (2000), Genetics and marine pollution. *Hydrobiologia*, **420**, 29-43
- Galtsoff, P.S. (1964), The American oyster *Crassostrea virginica*. *Fishery Bulletin*, **64**, 1-457
- GAPLAN – Gabinete de Planejamento e Coordenação Geral – Subchefia de Estatística, Geografia e Informática. (1996), *Atlas de Santa Catarina*. Aerofoto Cruzeiro, Rio de Janeiro
- Gaspar, M. (2000), *Sambaqui: arqueologia do litoral brasileiro*. J.Z. Editor, Rio de Janeiro
- Guevara B.L., Winkler, F., Rodríguez-Romero, F. & Palma-Rojas, C. (1996), The karyology of four american oysters species. *The Veliger*, **39**, 260-266
- Harry, H. W. (1985), Synopsis of the supraspecific classification of living oysters (Bivalvia: Gryphaeidae and Ostreidae). *The Veliger*, **28**, 121-158
- Hedgecock, D. & Okazaki, N. B. (1984), Genetic diversity within and between populations of American oysters (*Crassostrea*). *Malacologia*, **25**, 535-549
- Howell, W.M. & Black, D.A. (1980), Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, **36**, 1014-1015

- Ignacio, B.L.; Absher, T.M.; Lazoski, C & Solé-Cava, A.M. (2000), Genetic evidence for the presence of two species of *Crassostrea* (BIVALVIA: OSTREIDAE) on the coast of Brazil. *Marine Biology*, **136**, 987-991
- Insua, A. & Thiriot-Quiévreux, C. (1991), The characterization of *Ostrea denselamellosa* (Mollusca: Bivalvia) chromosomes: karyotype, constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions. *Aquaculture*, **97**, 317-325
- Insua, A. & Thiriot-Quiévreux, C. (1993), Karyotype and nucleolar organizer regions in *Ostrea puelchana* (Bivalvia: Ostreidae). *The Veliger*, **36**, 215-219
- Lapègue, S.; Boutet, I.; Leitão, A.; Heurtebise, S.; Garcia, P.; Thiriot-Quiévreux, C. & Boudry, P. (2002), Trans-Atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. *Biol. Bull.*, **202**, 232-242
- Leal, J.H. (2002), Bivalves. In *The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic. Volume 1. Introduction, Mollusk, Crustaceans, Hagfishes, Sharks, Batoid Fishes and Chimaeras*. FAO Identification Guide for Fishery Purposes ed. CARPENTER, K.E. The Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, 25-98
- Leitao, A.; Boudry, P.; Labat, J-P. & Thiriot-Quiévreux, C. (1999), Comparative karyology of Cupped Oysters Species. *Malacologia*, **41**, 175-186
- Levan, A.; Fredga, K. & Sandberg, A.A. (1964), Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, **52**, 201-220
- Li, X.X. & Havenhand, J.N. (1997), Karyotype, nucleolus organizer regions and constitutive heterochromatin in *Ostrea angasi* (Mollusca: Bivalvia): evidence of taxonomic relationships within the Ostreidae. *Marine Biology*, **127**, 443-448
- Longwell, A.C.; Stiles, S.S. & Smith, D.G. (1967), Chromosome complement of the American oyster *Crassostrea virginica*, as seen in meiotic and cleaving eggs. *Can. J. Genet. Cytol.*, **9**, 845-856
- Márquez, E.G. (1992), Comparación de Cariotipos Entre las Ostras *Crassostrea virginica* (Gmelin), *C. Rhizophorae* (Guilding) y *Pinctata imbricata* (Röding). *Caribbean Journal of Sciences*, **28**, 51-55
- Martínéz-Expósito, M.J.; Pasantes, J.J. & Méndez, J. (1994), NOR activity in larval and juvenile mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **175**, 155-165
- Mesquita, E.F.M. (1993), Anatomia Funcional da Ostra-de-Mangue *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (BIVALVIA: OSTREIDAE). PhD Thesis, Universidade de São Paulo. São Paulo. Brasil
- Pauls, E. & Affonso, P.R.A.M. (2000), The karyotype of *Nodipecten nodosus* (Bivalvia:Pectinidae). *Hydrobiologia*, **420**, 99-102
- Rios, E. C. (1994), *Seashells of Brazil*. 2ª ed. Editora da FURG, Rio Grande
- Rodríguez, Z.G.C. & García-Cubas, A. (1986), Taxonomía y anatomía comparada de las ostras en las costas de México. *An. Inst. Cienc. Del mar y limnol. Univ. Nal. Autón. México*, **13**, 249-305
- Rodríguez-Romero, F.; Uribe-Alcocer, M. & Laguarda-Figueras, A. (1979), The karyotype of *Crassostrea corteziensis* Hertlein (Mollusca: Ostreidae). *An. Centro Cienc. Del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México*, **6**, 15-18
- Santos, J.J. (1978), Aspectos da ecologia e biologia da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) na Baía de Todos os Santos. PhD Thesis Universidade do Estado de São Paulo. São Paulo, Brasil
- Thiriot-Quiévreux, C. (1984a), Analyse Comparée des Caryotypes D'Ostreidae (Bivalvia). *Cahiers de Biologie Marine*, **25**, 407-418
- Thiriot-Quiévreux, C. (1984b), Les Caryotypes de Quelques Ostreidae et Mytilidae. *Malacologia*, **25**, 465-476
- Thiriot-Quiévreux, C. (1986), Etude de l'aneuploidie dans différents naissains d'Ostreidae (Bivalvia). *Genetica*, **70**, 225-231
- Thiriot-Quiévreux, C. (2002), Review of the literature on bivalve cytogenetics in the last ten years. *Cahiers de Biologie Marine*, **43**, 17-26
- Thiriot-Quiévreux, C. & Ayraud, N. (1982), Les caryotypes de quelques espèces de bivalves et gastéropodes marins. *Marine Biology*, **70**, 165-172
- Thiriot-Quiévreux, C. & Insua, A. (1992), Nucleolar organizer region variation in the chromosomes of tree oyster species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **157**, 33-40
- Varela, E.S.; Tagliaro, C.H.; Beasley, C.R.; Melo, A.G.C. & Alves, F.A.S. (2004), Identificação molecular de espécies do gênero *Crassostrea* baseada em seqüências de mtDNA 16S. Paper presented at XXV Congresso Brasileiro de Zoologia. 8-13 fev, Brasília. Brasil
- Wakamatsu, T. (1975), *A ostra de Cananéia e seu cultivo*. 2ª ed. SUDELPA/USP, São Paulo
- Wang, Y.; Xu, Z. & Guo X. (2004), Differences in the rDNA - bearing chromosome divide the Asian-Pacific and Atlantic species of *Crassostrea* (Bivalvia, Mollusca). *Biol. Bull.*, **206**, 46-54

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO:

- ABBOTT, R.T. **American Seashells**. 2<sup>a</sup> ed. Nova York: Van Nostrand Reinhold, 1974. 663 pp.
- ABSHER, T. M. **Populações naturais de ostras do gênero *Crassostrea* do litoral do Paraná – desenvolvimento larval, recrutamento e crescimento**. 1989. 185f. Tese (Doutorado em Oceanografia) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- AHMED, M. Cytogenetics of Oyster. **Cytologia**, v. 38, p. 337-346, 1973.
- AHMED, M. Speciation in living oysters. **Advances in Marine Biology**, v. 13, p. 375-397, 1975.
- AHMED, M. & SPARKS, A.K. A preliminary study of chromosomes of two species of oysters (*Ostrea lurida* and *Crassostrea gigas*). **J. Fish. Res. Bd. Canada**, v. 24, n.10, p. 2155-2159, 1967.
- ALVES, R. **Padronização de protocolo para estudo citotaxiômico de *Crassostrea* sp.** 2002. 33f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.
- BERGER, P. **Ilha de Santa Catarina: relatos de viajantes estrangeiros nos séculos XVIII e XIX**. 3<sup>a</sup> ed. Florianópolis: Editora da UFSC - Assembléia Legislativa de Santa Catarina, 1990, 333pp.
- BOFFI, A.V. **Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico**. São Paulo: Editora Hucitec, 1979, 182pp.
- BUROKER, N. E.; HERSHBERGER, W. K. & CHEW, K. K. Population genetics of the family Ostreidae: II. Interspecific studies of the genera *Crassostrea* and *Saccostrea*. **Marine Biology**, v. 54, p. 171-184, 1979.
- CHRISTO, S.W. **Morfologia e crescimento da prodissoconcha de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897 (BIVALVIA:OSTREIDAE)**. 1999. 52f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
- CLELAND, K.W. Some observations on the cytology of oogenesis in sydney rock oyster (*Ostrea commercialis* I. and R.). **Proc. Linnean Soc. N. S. Wales**, v. 72, p. 159-182, 1947.
- COE, W.R. Spermatogenesis in the California oyster (*Ostrea lurida*). **Biol. Bull.**, v. 61, n. 3, p. 309-315, 1931.

- CORNET, M. Obtaining cell proliferation for chromosome preparation in gill tissue culture of the *Crassostrea gigas*. **Cytotechnology**, v. 32, p. 1-7, 2000.
- CROSS, I.; VEGA, L. & REBORDINOS, L. Nucleolar organizing regions in *Crassostrea angulata*: chromosomal location and polymorphism. **Genetica**, v. 119, p.65-74, 2003.
- DAY, A.J.; VISCOTIVISETH, P. & HAWKINS, A.J.S. Genetic diversity among cultured oysters (*Crassostrea* spp.) throughout Thailand. **Science Asia**, v.26, p.115-122, 2000.
- DFO – Department of Fisheries and Oceans. **Profiles of the American oyster**. Disponível em <<http://www.glf.dfo-mpo.gc.ca/pe-pe/es-se/oyst-huit/oyster-huitres-e.html>>. Acesso em 24/03/2004.
- DIXON D.R., MCFADZEN, I.R.B. & SISLEY, K. Heterochromatic marker region (nucleolar organizer) in the chromosomes of the common mussel, *Mytilus edulis* (Mollusca: Pelecypoda). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 97, p.205-212, 1986.
- EBLE, A.F. & SCRO, R. General Anatomy. In: KENNEDY, V.S., NEWELL, R.I.E. & EBLE, A.F. (eds.) **The Eastern Oyster *Crassostrea virginica***. Maryland: Maryland Sea Grant College. p. 19 – 73, 1996.
- FAO. **Fisheries Circular**. Rome: FAO, n. 886, 2003, 95pp.
- FARIAS, T.Z. **Malacofauna do museu do homem do sambaqui**. 2000. 34f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.
- GALTSOFF, P.S. The Oyster Industry of the World In: TRESSLER, D.K. & LEMON, J.M. (Ed.) **Marine Products of Commerce**. New York: Reinhold, p. 550-575, 1951.
- GALTSOFF, P.S. The American Oyster *Crassostrea virginica*. **Fishery Bulletin**, v. 64, p. 1-457, 1964.
- GASPAR, M. **Sambaqui: arqueologia do litoral brasileiro**. Rio de Janeiro: J.Z. Editor, 2000, 90pp.
- GUERRA, M. & SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002, 131p.
- GUEVARA, B.L.; WINKLER, F.; RODRÍGUEZ-ROMERO, F. & PALMA-ROJAS, C. The karyology of four American oysters species. **The Veliger**, v. 39, p. 260-266, 1996.

- HARRY, H. W. Synopsis of the supraspecific classification of living oysters (Bivalvia: Gryphaeidae and Ostreidae). **The Veliger**, v. 28, p. 121-158, 1985.
- HEDGECOCK, D. & OKAZAKI, N. B. Genetic diversity within and between populations of American oysters (*Crassostrea*). **Malacologia**, v. 25, p. 535-549, 1984.
- HOWELL, W.M. & BLACK, D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014-1015, 1980.
- IGNACIO B.L., ABSHER, T.M., LAZOSKI, C. & SOLÉ-CAVA, A.M. Genetic evidence for the presence of two species of *Crassostrea* (BIVALVIA: OSTREIDAE) on the coast of Brazil. **Marine Biology**, v. 136, p. 987-991, 2000.
- IHERING, R. **Da vida dos nossos animais: Fauna do Brasil**. 3ª ed. São Leopoldo: Rotermond, 1963. 319 pp.
- INSUA, A. & THIRIOT-QUIÉVREUX, C. The characterization of *Ostrea denselamellosa* (Mollusca: Bivalvia) chromosomes: karyotype, constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions. **Aquaculture**, v. 97, p.317-325, 1991.
- ITIS, Integrated Taxonomic Information System. Disponível em: <<http://www.itis.usda.gov>>. Acesso em: 26/02/2004.
- JACOBI, C.M.; ROSENBERG, C. & VIANNA-MORGANTE, A.M. The karyotype of the brown mussel *Perna perna* (L.) (Bivalvia: Mytilidae). **Brazil. J. Genetics**, v. 13, n. 4, p. 669-673, 1990.
- JOHNSCHER-FORNASARO, G. **Observações sobre populações da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding 1828) em ambientes ecologicamente diferentes do litoral de São Paulo**. 1981. 163f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. São Paulo.
- KLACZKO, L. B. **Avaliação do estado atual do conhecimento sobre a biodiversidade genética no Brasil**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2000, 55pp.
- LAM, K. & MORTON, B. Mitochondrial DNA and morphological identification of a new species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) cultured for centuries in the Pearl River delta, Hong Kong, China. **Aquaculture**, v. 228, p.1-13, 2003.

- LAPÈGUE, S.; BOUTET, I.; LEITAO, A.; HEURTEBISE, S.; GARCIA, P.; THIRIOT-QUIEVREUX, C. & BOUDRY, P. Trans-Atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. **Biol. Bull.**, v. 202, p. 232-242, 2002.
- LAWRENCE, D.R. Diagnosis of the genus *Crassostrea* (Bivalvia, Ostreidae). **Malacologia**, v.36, p.185-202, 1995.
- LCMM – Laboratório de Cultivo de Moluscos Marinhos. **Panorama da ostreicultura em Santa Catarina**. Disponível em <<http://www.lcmm.ufsc.br/panorama.htm>>. Acesso em 21/03/2002.
- LEAL, J.H. Bivalves. In: CARPENTER, K.E. (Ed.) **The living marine resoucers of the Western Central Atlantic. Volume 1. Introduction, Mollusk, Crustaceans, Hagfishes, Sharks, Batoid Fishes and Chimaeras. FAO Identification Guide for Fishery Purposes**. Rome: The Food and Agricultural Organization of the United Nations, p. 25-98, 2002.
- LEITÃO, A., BOUDRY, P.; LABAT, J-P. & THIRIOT-QUIEVREUX, C. Comparative karyology of cupped oysters species. **Malacologia**, v. 41, p. 175-186, 1999.
- LEVAN, A.; FREDGA, K. & SANDBERG, A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, v.52, p.201-220, 1964.
- LONGWELL, A.C., STILES, S.S. & SMITH, D.G., Chromosome complement of the american oyster *Crassostrea virginica*, as seen in meiotic and cleaving eggs. **Can. J. Genet. Cytol**, v. 9, p. 845-856, 1967.
- MAGALHÃES, A.R.M.; POLI, C.R.; SILVEIRA Jr., N.; SILVA, F.C. & POLI, A.T.B. Viabilidade de cultivo de ostras no litoral de Santa Catarina: I - Distribuição geográfica das espécies de importância comercial no Estado. In: I SEMINÁRIO SOBRE CIÊNCIAS DO MAR DA UFSC, 1986, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Editora da UFSC, 1986, p.106 – 112.
- MÁRQUEZ, E.G. Comparación de cariotipos entre las ostras *Crassostrea virginica* (Gmelin), *C. rhizophorae* (Guilding) y *Pinctata imbricata* (Röding). **Caribbean Journal of Sciences**, v. 28, n.1, p. 51-55, 1992.
- MENZEL, R.W. Portuguese and Japanese oysters are the same species. **J. Fish. Res. Board Can**, v.31, p. 453-456, 1974.
- MESQUITA, E.F.M. **Anatomia Funcional da Ostra-de-Mangue *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (BIVALVIA: OSTREIDAE)**. 1993. 91f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo.

- MUNIZ, E.C.; JACOB, S.A. & HELM, M.M. Condition index, meat yield and biochemical composition of *Crassostrea brasiliensis* and *Crassostrea gigas* grown in Cabo Frio, Brazil. **Aquaculture**, v.59, p. 235-250, 1986.
- NAYLOR, R.L.; WILLIAMS, S.L. & STRONG, D.R. Aquaculture – a gateway for exotic species. **Science**, v. 294, p. 1655-1656, 2001.
- PAULILO, M.I.S. Maricultura e território em Santa Catarina – Brasil. **Cadernos de Pesquisa – PPGSP – UFSC**, v. 31, p. 1-19, 2002.
- PAULS, E. & AFFONSO, P.R.A.M. The karyotype of *Nodipecten nodosus* (Bivalvia: Pectinidae). **Hydrobiologia**, v. 420, p. 99-102, 2000.
- POLI, C.R. O cultivo de ostras no Brasil. In: **Cultivo de moluscos marinhos. Parte 1- Cultivo de ostras**. Florianópolis: LCMM/UFSC- Laboratório de Cultivo de Moluscos Marinhos/ Universidade Federal de Santa Catarina, 1999, p. 2-12.
- POLI, C.R.; GRUMANN, A. & BORGHETTI, J.R. Situação atual da aqüicultura na região sul. In: VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A. & BORGHETTI, J.R. (Ed.). **Aqüicultura no Brasil**. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000, p. 323-351.
- QUEIROZ, C. & SILVEIRA Jr., N. **Cultivo de ostras**. Florianópolis: ACARESC, 1990, 25pp.
- RIOS, E. C. **Seashells of Brazil**. 2<sup>a</sup> ed. Rio Grande: FURG, 1994, 368pp.
- ROCZANSKI, M.; COSTA, S.W.; BOLL, M.G.; OLIVEIRA NETO, F.M. A evolução da aqüicultura no estado de Santa Catarina - Brasil. In: Aqüicultura Brasil 2000: XI Simpósio Brasileiro de Aquicultura; IV Encontro Sulbrasileiro de Aquicultura; V Encontro Catarinense de Aquicultura; II Festival nacional da ostra e da cultura açoriana - FENAOSTRA. 2000, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ABRAq, 2000. CD-ROM.
- RODRIGUEZ, Z.G.C. & GARCÍA-CUBAS, A., Taxonomía y anatomía comparada de las ostras en las costas de México. **An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México**, v. 13, n. 2, p. 249-305, 1986.
- RODRÍGUEZ-ROMERO, F.; URIBE-ALCOCER, M. & LAGUARDA-FIGUERAS, A. The karyotype of *Crassostrea corteziensis* Hertlein (Mollusca: Ostreidae). **An. Centro Cienc. Del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México**. v. 6, n. 1, p. 15-18, 1979a.
- RODRÍGUEZ-ROMERO, F.; URIBE-ALCOCER, M. & LAGUARDA-FIGUERAS, A. Comparative analysis of the karyotypes of two oyster species of the genus *Crassostrea* from

- Mexico: *C. virginica* and *C. corteziensis*. **An. Centro Cienc. Del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México**. V. 6, n. 1, p. 19-24, 1979b.
- SANTOS, J.J. **Aspectos da ecologia e biologia da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) na Baía de Todos os Santos**. 1978. 166f. Tese (Doutorado em Zoologia) Instituto Biológico, Universidade do Estado de São Paulo. São Paulo.
- SINGARAJAH, K.V. Phylogenetic significance, taxonomic status and the scientific names of the Brazilian oysters. **Rev. Nordest. Biol**, v. 2, p. 11-20, 1979.
- SOUZA-FILHO, J. **Custo de Produção de Ostra Cultivada**. Florianópolis: Instituto CEPA/SC, 2003, 23pp.
- THIRIOT-QUIÉVREUX, C. & AYRAUD, N. Les caryotypes de quelques espèces de bivalves et gastéropodes marins. **Marine Biology**, v. 70, p. 165–172, 1982.
- THIRIOT-QUIÉVREUX, C. Analyse comparee des caryotypes d'Ostreidae (Bivalvia). **Cahiers de Biologie Marine**, v. 25, p. 407-418. 1984a.
- THIRIOT-QUIÉVREUX, C. Les Caryotypes de Quelques Ostreidae et Mytilidae. **Malacologia**, v. 25, n. 2, p. 465-476, 1984b.
- THIRIOT-QUIÉVREUX, C. Review of the literature on bivalve cytogenetics in the last ten years. **Cahiers de Biologie Marine**, v. 43, p. 17-26, 2002.
- THOMÉ, J. W. Os moluscos da pré-história aos nossos dias. **Iheringia, Ser. Divulgação**, v.1, p. 11-16, 1971.
- VARELA, E.S.; TAGLIARO, C.H.; BEASLEY, C.R.; MELO, A.G.C. & ALVES, F.A.S. Identificação molecular de espécies do gênero *Crassostrea* baseada em seqüências de mtDNA 16S. In: XXV Congresso Brasileiro de Zoologia. 2004, Brasília. **Resumos**. Brasília: SBZ, 2004.
- WAKAMATSU, T. **A ostra de Cananéia e seu cultivo**. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: SUDELPA/USP, 1975, 141pp.
- WANG, Y.; XU, Z. & GUO, X. A centromeric satellite sequence in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) identified by fluorescence in situ hybridization. **Mar Biotechnol**, v. 3, n. 5, p. 486-492, 2001.
- WANG, Y.; XU, Z. & GUO, X. Differences in the rDNA - bearing chromosome divide the Asian-Pacific and Atlantic species of *Crassostrea* (Bivalvia, Mollusca). **Biol. Bull**, v. 206, p. 46-54, 2004.

# INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

## Submission of papers

*Brazilian Archives of Biology and Technology* publishes original research papers, Short notes and Review articles in English in the interdisciplinary areas of biological sciences and engineering/technology. Submission of paper implies that it has not been published or being considered for publication elsewhere. Care should be taken to prepare a compact manuscript with precision in presentation, which will help authors in its acceptance. All the papers are subjected to review by referees.

## Manuscript

Three copies of the single-spaced typed manuscript (maximum 12 pages for original and review articles and 2-4 pages for short notes) on a high grade A-4 size paper (210x297 mm), with margins (left 25, right 20, superior and inferior 30 mm) should be prepared. This should be divided under the following headings: **ABSTRACT, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, ACKNOWLEDGEMENTS, RESUMO, REFERENCES**. These headings should be typed in bold upper case (12 font). For review articles, authors should make their own headings along with Abstract and Introduction.

## Title

The title (18 font, bold) of the paper should clearly reflect its contents. It should be followed by the name(s) of author(s) with expanded initials (12 font, bold) and the address(s) (*italic*, 10 font) of the institution(s) where the work has been carried out.

## ABSTRACT

Each paper should be provided with an abstract (*italic*) of 100-150 words, describing briefly on the purpose and results of the study. It should be prepared as concisely as possible.

## Key words

Authors should provide three to six key words that will be used in indexing their paper.

## INTRODUCTION

This should describe the background and relevant information about the work. It should also state the objective of the work.

## MATERIALS AND METHODS

Authors must take care in providing sufficient details so that others can repeat the work. Standard procedures need not be described in detail.

## RESULTS AND DISCUSSION

Results and Discussion may be presented separately or in combined form (authors may decide easier way for them).

Preliminary work or less relevant results are not to be described. The reproducibility of the results, including the number of times the experiment was conducted and the number of replicate samples should be stated clearly.

## RESUMO

An abstract of the paper should also be prepared in Portuguese and placed before the list of References. Authors from other than Latin American countries can seek the help of Editor's office to prepare Portuguese resumo of their papers.

## REFERENCES

References in the text should be cited at the appropriate point by the name(s) of the author(s) and year (e.g. Raimbault & Roussos, 1996; Raimbault *et al.*, 1997). A list of references, in the alphabetic order (10 font), should appear at the end of the manuscript. All references in the list should be indicated at some point in the text and vice versa. Unpublished results should not be included in the list. Examples of references are given below.

### *In journals:*

Pandey, A. (1992), Recent developments in solid state fermentation. *Process Biochem.*, **27**, 109-117

### *Thesis:*

Chang, C. W. (1975), Effect of fluoride pollution on plants and cattle. PhD Thesis, Banaras Hindu University, Varanasi, India

### *In books:*

Tengerdy, R. P. (1998), Solid substrate fermentation for enzyme production. In-*Advances in Biotechnology*, ed. A. Pandey. Educational Publishers & Distributors, New Delhi, pp. 13-16

Pandey, A. (1998), *Threads of Life*. National Institute of Science Communication, New Delhi

### *In conferences:*

Davison, A. W. (1982), Uptake, transport and accumulation of soil and airborne fluorides by vegetation. Paper presented at 6<sup>th</sup> International Fluoride Symposium, 1-3 May, Logan, Utah

## Tables and Figures

Tables and figures, numbered consecutively with arabic numerals must be inserted at appropriate place in the text. These should be used to present only those data, which can not be described in the text

## Units and Abbreviations

The SI system should be used for all experimental data. In case other units are used, these should be added in parentheses. Only standard abbreviations for the units should be used. Full stop should not be included in the abbreviation (e.g. m, not m. or rpm, not r.p.m.). Authors should use '%' and '/' in place of 'per cent' and 'per'.

# INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

## Manuscript lay-out

It is suggested that authors consult a recent issue of the journal for the style and layout. Except the title, abstract and key words, entire text should be placed in two columns on each page. Footnotes, except on first page indicating the corresponding author (8 font) should not be included. The entire manuscript should be prepared in Times New Roman, 11 font (except reference list, which should be in 10 font).

## Spacing

Leave one space between the title of the paper and the name(s) of the author(s), and between the headings and the text. No space should be left between the paragraphs in the text. Leave 0.6-cm space between the two columns.

## Electronic submission

Manuscript should be accompanied by a diskette indicating the name and version of the word processing programme used (use only MS Word 6/7 or compatible).

## Referees

When submitting the manuscript authors may suggest up to three referees, preferably from other than their own countries, providing full name and address with email. However, the final choice of referees will remain entirely with the Editor.

## Page charges and reprints

There will be no page charges. Reprints can be ordered up on acceptance of the paper.

Manuscripts and all correspondence should be sent to the Editor:

Prof. Dr. Carlos R. Soccol

*Brazilian Archives of Biology and Technology*

Rua Prof. Algacyr Munhoz Mader 3775-CIC 81350-010  
Curitiba-PR, Brazil

Fax +55-41-247 67 88

Email: [niet@tecpar.br](mailto:niet@tecpar.br)

---

## Subscription Information

Published quarterly. Annual institutional subscription rates: R\$ 130,00 for Brazil; US\$ 130.00 for all other countries (including postage).

---