



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA**

FERNANDO LUÍS BATISTA DOS SANTOS

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO PEPINO DO MAR (*Holothuria
grisea*), SUBMETIDO A DIFERENTES DIETAS E FOTOPERÍODOS**

FORTALEZA

2016

FERNANDO LUÍS BATISTA DOS SANTOS

ESTUDO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO PEPINO DO MAR (*Holothuria
grisea*), SUBMETIDO A DIFERENTES DIETAS E FOTOPERÍODOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Helena Matthews Cascon

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Santos, Fernando Luís Batista dos.

Estudo do comportamento alimentar do pepino do mar (*Holothuria grisea*), submetido a diferentes dietas e fotoperíodo / Fernando Luís Batista dos Santos. – 2016.

50 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2016.

Orientação: Profa. Dra. Helena Matthews Cascon .

1. Echinodermata. 2. Aquicultura. 3. Alimentação. I. Título.

CDD 639.2

FERNANDO LUÍS BATISTA DOS SANTOS

ESTUDO DO COMPORTAMENTO ALIMENTAR DO PEPINO DO MAR (*Holothuria grisea*), SUBMETIDO A DIFERENTES DIETAS E FOTOPERÍODOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Helena Matthews Cascon (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Aldeney Andrade Soares Filho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Ricardo e Constância.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

À empresa Cristália produtos químicos farmacêuticos, na pessoa de José de Sousa Júnior, pela oportunidade e investimento feitos.

Ao Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias pelas contribuições no tempo que foi meu orientador e por ser um exemplo de determinação e superação a ser seguido.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Helena Matthews Cascon, por ter aceitado me orientar nessa caminhada.

Aos professores participantes da banca examinadora Prof. Dr. Aldeney Andrade Soares Filho e Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos meus pais, Ricardo César e Constância Batista e minha irmã Livia Maria por serem sempre um porto seguro, onde posso ancorar.

Aos colegas de mestrado Igor Gabriel Ferreira Gomes, Lorena Alves Leite, Deborah Oliveira Amarante, Pedro Florêncio Ribeiro e Daniele Ferreira Marques, pelo companheirismo, além dos valiosos bate papos e sorrisos garantidos durante esses anos.

À Lorena Alves Leite, Liliana Lopes Silveira, Lia Reck e ao Antônio Willame da Silva, pela disponibilidade e ajuda prestada na execução deste trabalho.

À minha avó Maria Ozélia Fernandes e minha tia Margarida Fernandes, por propiciarem sempre pensamentos positivos e me carregarem consigo nos seus corações e orações.

Ao meu amor, Fabrícia Quaresma, por toda paciência, dedicação e tempo gastos em me ajudar ao longo desses anos de Graduação e agora no Mestrado. Pessoa sem a qual não teria conseguido chegar até aqui.

“Se você não sabe para qual porto está navegando, nenhum vento é favorável.”
(Sêneca)

RESUMO

Com o declínio na pesca do pepino do mar é de fundamental importância o investimento em pesquisas de novas espécies com potencial para cultivo, como a *Holothuria grisea*. Uma melhor compreensão da alimentação dessa espécie é um passo importante para o desenvolvimento da aquicultura desses animais. O objetivo desse trabalho foi avaliar a seletividade e a preferência alimentar de juvenis de *H. grisea* submetidos a diferentes dietas e o comportamento alimentar dos animais, em relação a dois fotoperíodos diferentes. Inicialmente verificou-se a seletividade e preferência alimentar a quatro dietas utilizando metodologia do aquário em “Y”. As dietas experimentais foram, areia peneirada e livre de matéria orgânica (controle), sedimento lamacento “mud”, mistura de areia com substrato úmido de piscicultura e mistura de areia com substrato úmido de um cultivo de zooplâncton. Em seguida, foi observado o comportamento alimentar sob dois diferentes fotoperíodos, o natural (FN) e outro com 24 h de escuro (24E). As variáveis analisadas nesta etapa foram, o número de animais se alimentando, número de animais defecando, número de animais protegidos (FN), número de animais se movimentando e distância percorrida pelos animais. Além dessas, também foram analisadas a luminosidade incidente e a temperatura da água. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) entre as médias das escolhas positivas das dietas, porém houve diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) nos tempos de orientação e de início de alimentação para as dietas controle e areia mais substrato úmido de cultivo de zooplâncton, com escolha e início de alimentação mais rápidos para a segunda dieta. Com relação aos animais submetidos a 24E, a atividade alimentar foi constante e teve correlação negativa ($r = -0,52$; $p \leq 0,05$) com a temperatura da água, no período em que a temperatura foi mais baixa a atividade alimentar aumentou. Nos animais submetidos a FN, a atividade alimentar apresentou correlação negativa com a temperatura ($r = -0,71$; $p \leq 0,05$) e intensidade luminosa ($r = -0,63$; $p \leq 0,05$), ou seja, a medida que crescia a intensidade luminosa e a temperatura, os animais cessaram a alimentação. *H. grisea* apresentou hábito alimentar noturno, sendo fortemente influenciado pela intensidade de luz e pela temperatura da água, porém não demonstrou seletividade, nem preferência alimentar para nenhuma das quatro dietas testadas.

Palavras-chave: Echinodermata. Aquicultura. Alimentação.

ABSTRACT

With the decline in sea cucumber fishing is extremely important investment in research on new species with potential for cultivation, such as *Holothuria grisea*. A better understanding of the power of this kind is an important step for the development of aquaculture of these animals. The aim of this study was to evaluate the selectivity and the feeding preference of juvenile *H. grisea* submitted to different diets and food animal behavior in relation to two different photoperiods. Initially there was selectivity and food preference to four diets with aquarium methodology "Y". The experimental diets were sieved sand and free of organic matter (control), muddy sediment, sand mixed with moist substrate fish and sand mixed with moist substrate of a zooplankton cultivation. Then the feeding behavior was observed under two different photoperiod, the natural (FN) and another 24 hours in the dark (24E). The variables analyzed in this phase were the number of animals grazing, number of animals defecating, number of protected animals (FN), number of animals moving and distance traveled by the animals. Besides these, they also analyzed the incident light and the temperature of the water. There was no statistically significant difference ($p \geq 0.05$) between the means of positive choices of diets, but there was a statistically significant difference ($p \leq 0.05$) in the times of guidance and power start to the control diet and more sand substrate wet zooplankton cultivation, with choice and start faster power for the second diet. With respect to animals subjected to 24E, the feeding activity was constant and had negative correlation ($r = -0.52$; $p \leq 0.05$) with the water temperature, the period in which the temperature was lower food activity increased. In animals subjected to FN, the feeding activity was negatively correlated with temperature ($r = -0.71$; $p \leq 0.05$) and light intensity ($r = -0.63$; $p \leq 0.05$), ie, as they grew light intensity and temperature, the animals stopped feeding. *H. grisea* presented nocturnal eating habits, being strongly influenced by light intensity and temperature of the water, but showed no selectivity or food preference for any of the four diets tested.

Keywords: Echinodermata. Aquaculture. Feed.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Exemplar de <i>Holothuria grisea</i> , em cultivo.....	18
Figura 2 –	Exemplar adulto de <i>Holothuria grisea</i> , vista dorsal.....	18
Figura 3 –	Disposição dos aquários e das câmeras de monitoramento utilizados nas baterias de observações do experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (<i>H. grisea</i>).....	23
Figura 4 –	Detalhe das quatro dietas utilizadas durante o experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (<i>H. grisea</i>).....	24
Figura 5 –	Representação dos aquários em Y da bateria experimental utilizada durante o experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (<i>H. grisea</i>).....	26
Figura 6 –	Sistema de aquários e filtro <i>outdoor</i> (A e B) e sistema de aquários e filtro <i>indoor</i> (C e D), utilizados no experimento de comportamento alimentar de juvenis de pepino do mar (<i>H. grisea</i>), submetidos a dois fotoperíodos (24E e FN).....	29
Figura 7 –	Descrição do comportamento durante o teste do aquário em y: corpo contraído e tenso (a), relaxamento corporal (b), detecção (c), pós detecção (d), alimentação (e).....	32
Figura 8 –	Médias das escolhas positivas para cada uma das as quatro dietas testadas no experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (<i>H. grisea</i>).....	34
Figura 9 –	a - atividade alimentar (%), b - animais se movimentando (%), c - animais defecando (%), d - temperatura (°C) e, e - distância percorrida (cm) dos animais submetidos ao fotoperíodo de 24 h em escuro.....	37
Figura 10 –	a - Intensidade de luz (lux), b - atividade alimentar (%), c - animais se movimentando (%), d - animais protegidos (%), e - animais defecando (%), f - temperatura (°C) e, g - distância percorrida (cm) dos animais submetidos ao fotoperíodo natural.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tempos (em segundos) (média \pm d.p) de detecção, orientação, e início de alimentação das quatro dietas testadas durante o experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (<i>H. grisea</i>).....	34
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Comparação das quatro dietas experimentais testadas durante o experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (<i>H. grisea</i>).....	26
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Echinodermos e holotúrias.....	15
2.2 <i>Holothuria grisea</i>	16
2.3 Comportamento alimentar	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 ETAPA 1 – Seletividade e Preferência alimentar	22
3.1.1 <i>Aclimação</i>	22
3.1.2 <i>Sistema experimental</i>	23
3.1.3 <i>Dietas experimentais</i>	24
3.1.4 <i>Delineamento experimental</i>	25
3.2 ETAPA 2 - Comportamento alimentar em dois diferentes fotoperíodos....	28
3.2.1 <i>Sistema e delineamento experimental</i>	28
3.3 Análise estatística.....	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1 ETAPA 1 – SELETIVIDADE E PREFERÊNCIA ALIMENTAR.....	31
4.2 ETAPA 2 – COMPORTAMENTO ALIMENTAR EM DOIS DIFERENTES FOTOPERÍODOS	36
4.2.1 <i>Fotoperíodo 24 h escuro</i>	36
4.2.2 <i>Fotoperíodo natural</i>	38
5 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

Os pepinos do mar (holotúrias) estão intimamente ligados à história e cultura da China e países vizinhos da Ásia Oriental. O primeiro registro de consumo de pepinos do mar remete ainda ao período dos Três Imperadores (até 30 d.C). Logo, o consumo de pepinos do mar pelos chineses ocorre há centenas de anos, sendo considerado um dos alimentos mais nutritivos na China. A literatura chinesa registra nos seus contos populares as singularidades e significados do pepino do mar, dando destaque as suas características morfológicas e seus efeitos tônicos. Livros chineses famosos, "*A Supplement to the Compendium of Materia Medica*" e "*New Compilation of Materia Medica*", registram as propriedades medicinais do pepino do mar (YANG; HAMEL; MERCIER, 2015).

São uma importante fonte de alimento humano, devido seu perfil de nutrientes valiosos, tais como, vitamina A, vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B3 (niacina) e minerais, especialmente o cálcio, magnésio, ferro e zinco (BORDBAR; ANWAR; SAARI, 2011). Além disso, é um alimento marinho rico em proteína e com pouca quantidade de gordura. São também ricos em aminoácidos essenciais, incluindo a treonina, valina, metionina, triptofano, fenilalanina, isoleucina, leucina e lisina, com quantidades significativamente maiores do que em peixes. Os aminoácidos mais abundantes em todas as espécies de pepino do mar são a glicina, ácido glutâmico, ácido aspártico, alanina e arginina (WEN; HU; FAN, 2010). No entanto, as composições orgânicas e inorgânicas dos animais frescos variam dependendo da espécie, estação do ano, habitat, e provavelmente, no âmbito da ontogênese (KHOTIMCHENKO, 2015).

Observando o comportamento alimentar e cultural dos países asiáticos, como por exemplo, a China, empresas farmacêuticas e pesquisadores do mundo todo têm focado seus estudos nos extratos de pepino do mar. Sobre tudo, com interesse no isolamento de várias moléculas bioativas destes animais, com atividades hemolíticas (HATAKEYAMA *et al.*, 1995, YOSHIDA *et al.*, 2007), anti-inflamatórias (HERENCIA *et al.*, 1998), antibacterianas (KUZNETSOVA *et al.*, 1982), antitumorais, antifúngicas (PETZELT, 2005), imunoestimulantes, na prevenção e tratamento do câncer (JANAKIRAM; MOHAMMED; RAO, 2015), além da

aplicabilidade técnica como substâncias anti-incrustantes (BRYAN; RITTSHOF; MCCLINTOCK, 1996).

Alguns pesquisadores estudaram um polissacarídeo composto por sulfato de condroitina extraído da espécie *Holothuria grisea*, (FONSECA *et al.*, 2010; FONSECA; MOURÃO, 2006; MOURÃO *et al.*, 1996, 1998, 2001; TAPON-BRETAUDIÈRE *et al.*, 2002; ZANCAN; MOURÃO, 2004) e relataram a ação antitrombótica, especialmente, uma ação anticoagulante elevada deste composto. Mais recentemente foi obtida da *Holothuria grisea*, a primeira lectina de invertebrados com efeito anti-inflamatório, nomeada de *Holothuria grisea agglutinin* (HGA) e outra lectina, nomeada *Holothuria grisea agglutinin 2* (HGA-2), essa com capacidade de se ligar a bactérias (MOURA *et al.*, 2013; MELO *et al.*, 2014).

Grande parte dos pepinos do mar consumidos ainda provém da pesca extrativista, sendo então uma tarefa desafiadora conciliar a necessidade de conservação com a importância socioeconômica da pesca de pepino do mar. Com isso, o setor pesqueiro tem visto um esgotamento deste recurso nas áreas de pesca tradicionais da Ásia e, mais recentemente, a expansão desta atividade a novos locais de pesca. Uma avaliação global mostra que os estoques de pepino do mar estão sob pressão de pesca intensa em muitas partes do mundo e exigem medidas de conservação eficazes (TORA-GRANDA; LOVATELLI; VASCONCELLOS, 2008).

O declínio na pesca do pepino do mar tem induzido um aumento na aquicultura mundial desse pescado (ERIKSSON *et al.*, 2011). O cultivo de pepinos do mar é a maneira mais viável para incrementar a produção global, com potencial para se tornar uma indústria rentável, pois o produto tem alto valor comercial, além de servir como uma medida de conservação das espécies, contribuindo para a reposição natural das populações (ERIKSSON *et al.*, 2011; PURCELL; HAIR; MILLS, 2012).

Holothuria scabra e *Apostichopus japonicus* são as únicas espécies cultivadas de pepino do mar, com larvicultura em escala comercial (LOVATELLI *et al.* 2004). Entretanto, técnicas de cultivo intensivas em viveiros têm sido aplicadas com maior ênfase à espécie *Apostichopus japonicus* (CHEN, 2004).

No Brasil ocorre a espécie *Holothuria grisea*, que tem um grande potencial de cultivo em larga escala, podendo desempenhar um papel importante na economia brasileira, porém, poucos estudos sobre o tema foram realizados

(MENDES; MARENZI; DOMENICO, 2006). Para se chegar a uma produção que atenda a futura demanda global, é de fundamental importância o investimento em pesquisas de novas espécies com potencial para cultivo, como a *H. grisea*. Para tal, deve-se desenvolver técnicas de cultivo que possibilitem a produção comercial. Uma melhor compreensão da alimentação e capacidade de digestão das espécies de pepinos do mar é um passo importante para o desenvolvimento da aquicultura desses animais (ZAMORA; JEFFS, 2011).

Até o momento não há na literatura científica informações sobre exigências nutricionais a respeito da espécie *H. grisea*, nem da preferência alimentar em relação às suas fases de vida. Pesquisas nessas áreas devem ser realizadas tomando como ponto de partida o hábito alimentar do animal, que se alimenta de depósitos de detritos, utilizando como alimento a matéria orgânica que revestem os sedimentos, partículas dentríticas e compostos nutritivos (MEZALI; SOUALILI, 2013) que estes contêm e dos microrganismos, como bactérias (YINGST, 1976; PLOTIEAU *et al.*, 2013).

Além disso, o comportamento alimentar do animal deve ser levado em consideração, uma vez que em animais aquáticos o fotoperíodo é considerado como o mais importante sincronizador do ritmo biológico (SUN *et al.*, 2015). Observações feitas em cultivos no laboratório do projeto PEPMAR, indicam que *H. grisea* aparentemente, tem comportamento alimentar noturno e que tende a se proteger durante o dia (informação verbal). Logo, acredita-se que maiores períodos de escuridão são melhores para o crescimento de *H. grisea*.

Portanto, na busca por diferentes fontes de proteína animal para atender à crescente demanda humana e o interesse da indústria farmacêutica para produção de medicamentos, haverá necessidade em um futuro próximo de grandes quantidades de pepinos do mar para conseguir suprir toda essa demanda.

O presente trabalho teve como objetivos avaliar a seletividade e a preferência alimentar de juvenis de pepino do mar (*H. grisea*) a diferentes dietas e o comportamento alimentar dos animais, em relação a dois fotoperíodos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Echinodermos e holotúrias

O filo Echinodermata é constituído por cerca de 13.000 espécies fósseis e 7.000 espécies vivas (BRUSCA; BRUSCA, 2007; PAWSON, 2007), que estão arrançadas em cinco classes, são elas: Crinoidea (crinóides ou lírios-do mar), Asteroidea (estrelas do mar), Ophiuroidea (ofiuróides ou serpentes do mar), Echinoidea (ouriços do mar e bolachas da praia), Holothuroidea (holotúrias ou pepinos do mar). A classe Holothuroidea apresenta cerca de 1.400 espécies divididas em seis ordens: Aspidochirotida, Dendrochirotida, Apodida, Elaspodida, Molpadiida e Dactylochirotidaque (PAWSON, 2007). No Brasil são conhecidas 329 espécies de equinodermos (ROCHA, 2006).

A distribuição dos equinodermos vai desde a zona entre marés até as regiões abissais, em zonas temperadas, tropicais e polares (HADEL *et al.*, 1999). As holotúrias se distribuem amplamente por toda área geográfica do oceano Atlântico, ocorrendo em águas rasas de substratos rochosos, arenosos, lamosos ou mesmo em bancos de gramíneas marinhas (TOMMASI, 1999). Mais que qualquer outro grupo de equinodermos, as holotúrias se propagaram por um maior número de habitats diferentes. Têm por volta de um terço das espécies vivendo no mar profundo, podendo representar até 90% da biomassa bentônica (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005). Entretanto, vários são os fatores considerados determinantes na distribuição das holotúrias, como por exemplo: características do substrato, intensidade da luz, disponibilidade de alimento, flutuações de salinidade e presença de predadores, adultos da mesma espécie, além de fatores hidrodinâmicos (SLOAN; VON BODUGEN, 1980)

O eixo polar nas holotúrias é aumentado, resultando em um corpo de forma cilindróide, alongado, achatado ou em forma de U, cuja posição permanece paralela ao substrato. (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005). Geralmente, apresentam uma simetria bilateral externa, com uma boca rodeada por um círculo de numerosos tentáculos na região anterior e um ânus situado na região posterior distal (SAMYN; VANDENSPIEGEL; MASSIN, 2006; AGUDO, 2006). Esses tentáculos podem ser peltados, pinados, digitados ou dendríticos, além de variar quanto ao número e tamanho (HYMAN, 1955). Seus corpos alcançam desde milímetros de comprimento,

como a *Synaptula hydriformis* que mede entre 3 e 4 mm de comprimento, até vários metros de comprimento, como a *Euapta godeffroyi* que pode medir mais de 3 m de comprimento (SOLÍS-MARÍN; LAGUARDA-FIGUERAS; HONEY-ESCANDÓN, 2014).

Os pepinos do mar podem se reproduzir em duas diferentes formas: sexualmente e assexuadamente. Em média, a idade de primeira muturação sexual, se encontra por volta dos dois a três anos, podendo no geral, serem pescados após os três anos. Algumas espécies são assexuadas, conhecidas por sofrer fissão e algumas espécies são hermafroditas, mas a maioria é dióica (TARDY; PAKOA, 2009). Como a maioria é dióica, ou seja os sexos são separados, nesse caso não é possível diferenciar macho e fêmea visualmente, sendo necessário um exame das gônadas para a identificação (SAMYN; VANDEN SPIEGEL; MASSIN, 2006). O período reprodutivo segue padrões cíclicos, com períodos prolongados ou curtos, podendo ser de forma sazonal ou mensal ao longo do ano, porém, sofre variação em relação à espécie e à localização geográfica (SANTOS *et al.*, 2015; DRUMM; LONERAGAN, 2005). O ciclo é sincronizado entre os sexos e pode ser controlado pelos fatores abióticos como fotoperíodo e temperatura da água (CONAND, 1981; RAMOFAFIA; BYRNE; BATTAGLENE, 2000; MUTHIGA; KAWAKA; NDIRANGU, 2009), fase lunar (BATTAGLENE *et al.*, 2002) e bióticos como disponibilidade de alimento (DRUMM; LONERAGAN, 2005).

2.2 *Holothuria grisea*

A classificação taxonômica da espécie é a seguinte:

Reino: Animalia

Filo: Echinodermata

Classe: Holothuroidea

Ordem: Aspidochirotida

Família: Holothuriidae

Gênero: *Holothuria*

Espécie: *Holothuria grisea* (Selenka, 1867)

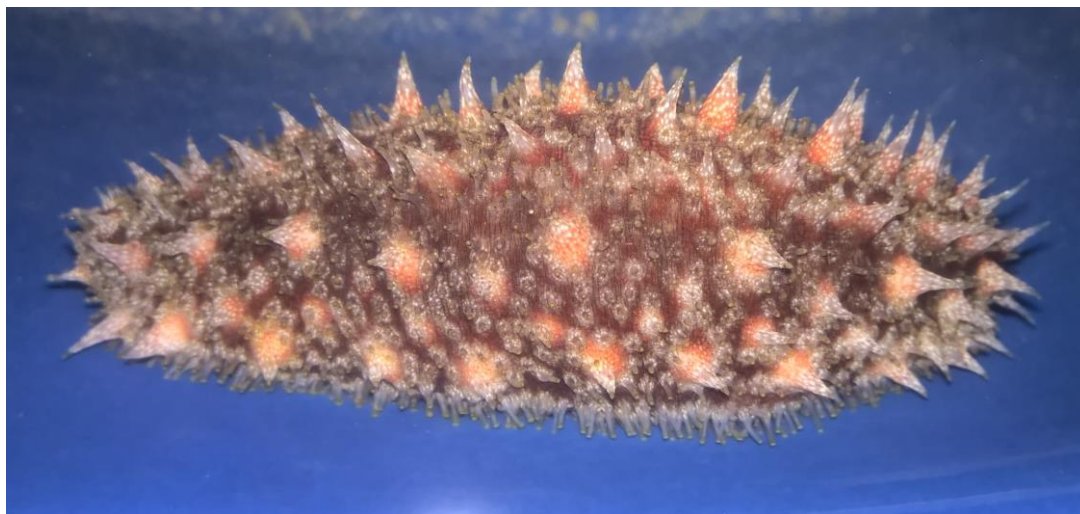
Segundo Tommasi (1969), *H. grisea* é a holotúria mais frequente e numerosa no litoral brasileiro, ocorrendo muitas vezes no infra litoral superior em

elevada densidade. São comuns na zona entre marés, ficando expostas em maré baixa. Geralmente, são encontradas de forma agrupada sobre os afloramentos rochosos (MENDES; MARENZI; DOMENICO, 2006), fixadas pelas ventosas dos pódios, em contato com areia do fundo, da qual se alimenta durante períodos de imersão (TOMMASI, 1969; ROCHA, 2006).

A espécie foi encontrada no Oeste da África, Estados Unidos (Florida), Golfo do México, Porto Rico, Panamá, Antilhas, Colômbia, Jamaica, Venezuela e Brasil (PAWSON; PAWSON; KING, 2010). No Brasil, sua distribuição geográfica vai do Nordeste (Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia), passando pelos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e vai até Santa Catarina (TOMMASI, 1969; MARTINS, 2012; OLIVEIRA, 2013). Mais especificamente no Estado do Ceará, há registros em várias praias de Fortaleza, Caucaia, Camocim, Icapuí, Itapipoca e, com maior abundância, em Barroquinha (DIAS, 2009). No Ceará, há relatos de que esta espécie é encontrada em ótimo número ($\sim 0,5$ ind. m^{-2}) na zona entre marés, debaixo de pedras, em recifes de ostras ou em ambiente de recifes de arenito, seja de praia ou de fundo raso da plataforma com afloramentos (DIAS, 2012; SOUSA, 2014).

Sua cor varia do castanho escuro a cinza avermelhado com pequenas manchas avermelhadas. Possui corpo alongado, cilíndrico, com a parte anterior um pouco mais dilatada que a parte posterior, presença de numerosos pés ambulacrais distribuídos na parte ventral do animal formando uma espécie de “sola”, auxiliando especialmente, na fixação nos seixos e rochas, conferindo uma tenacidade em substratos rígidos. Na região dorsal existem papilas arranjadas em verrugas. A parede do corpo é um pouco espessa e macia. Apresenta boca circular, está ligeiramente posicionada ventralmente e é rodeada por uma coroa de cerca de 20-25 tentáculos do tipo peltado e ramificado, característicos da ordem, proporcionando a alimentação depositívora (TOMMASI, 1969; MARTINS, 2012; OLIVEIRA, 2013; PAWSON; PAWSON; KING, 2010) (Figuras 1 e 2).

Figura 1 – Exemplar de *Holothuria grisea*, em cultivo.



Fonte: Autor.

Figura 2 - Exemplar adulto de *Holothuria grisea*, vista dorsal.



Fonte: Migotto (2011).

Em situações estressantes (como a presença de predadores, manejo, transporte ou após passar longos períodos fora d'água), estes indivíduos expõem suas vísceras, no entanto, assim como outras espécies de pepino do mar, *H. grisea* tem a capacidade de regenerar estruturas corporais perdidas (AGUDO, 2006).

As gônadas são visíveis em animais maduros, sendo basicamente um entrelaçado formado por vários túbulos de diferentes tamanhos. Apresentam

colorações diferentes, sendo que em geral as fêmeas possuem túbulos rosados e os machos túbulos em tons de creme (ROCHA, 2006).

O período de desova, em holotúrias tropicais, ocorre durante a primavera ou verão, ou seja, nas épocas mais quentes do ano (CHAO; CHEN; ALEXANDER, 1995). Segundo Bueno (2010), o ciclo reprodutivo de *H. grisea* no litoral paranaense caracteriza-se pela emissão contínua de gametas ao longo do ano, embora um aumento da maturação dos indivíduos tenha sido registrado no período de elevação da temperatura da água, confirmando a relação entre o desenvolvimento gonadal e o aumento da temperatura. Já para Leite-Castro *et al.* (2016), o pico de maturidade gametogênica de *H. grisea* acontece entre dezembro e fevereiro juntamente com a atividade de desova, tal processo de desova sofre influência de fatores ambientais e de agregação.

2.3 Comportamento alimentar

O hábito alimentar do pepino do mar é principalmente detritívoro, alimentando-se do conteúdo orgânico da areia, lama, biofilme, partículas dentríticas (MEZALI; SOUALILI, 2013), compostos nutritivos que estes contêm e dos microrganismos, como bactérias (YINGST, 1976; PLOTIEAU *et al.*, 2013). Segundo Solís-Marín *et al.* (2009) as estratégias alimentares do pepinos-do-mar são muito variadas e podem ser inferidas a partir da análise da forma dos tentáculos. Contudo, seus tentáculos mostram uma ampla faixa de diversidade morfológica (ROBERTS; MOORE, 1997).

O processo alimentar de holotúrias da Ordem Aspidochirotida, consiste em um movimento de varredura pelos tentáculos para direcionar partículas no fundo do mar, posteriormente, os tentáculos levantam-se e retiram-se, em seguida, entrega dentro da boca as partículas de alimento que são descarregadas na faringe, aderem a ela, e são transferidas para o trato digestivo pela constrição da faringe (HUDSON; WIGHAM; TYLER, 2004; ZHAO; YANG, 2010).

Esses organismos desempenham um papel importante na "limpeza" dos substratos bentônicos, reciclando nutrientes orgânicos (SONNENHOLZNER, 2003), pois são capazes de ingerir e retrabalhar grandes quantidades de sedimentos, sendo importantes bioturbadores (MILLER; PAWSON, 1990; SLATER; ALEXANDER,

2009; HUFFARD *et al.*, 2016). Em altas densidades as holotúrias são um dos grupos mais ativos, pois podem processar várias toneladas de sedimento por ano em certas áreas (UTHICKE, 1999; SUCHANEK, 1983). A remoção de pepinos do mar do ecossistema no qual está inserido, pode levar à substratos mais compactados e o potencial acúmulo de detritos, podendo criar, assim, condições de anoxia, condição esta, inadequada para vida de outras espécies do mesmo ecossistema (TARDY; PAKOA, 2009).

Quando no seu habitat natural, os pepinos do mar podem escolher livremente o tipo de sedimento e tamanhos de grãos entre os diferentes locais, por movimentos lentos e firmes (MERCIER; BATTAGLENE; HAMEL, 2000). Na literatura existem relatos limitados com foco na seletividade de sedimentos (MERCIER; BATTAGLENE; HAMEL, 1999; UTHICKE; KAREZ, 1999; MEZZALI; SOUALILI, 2013) e preferência alimentar (XIA *et al.*, 2012) de pepinos do mar.

No entanto, o que permanece em questão de debate é se os pepinos do mar têm, realmente, a capacidade de selecionar ou reconhecer partículas de sedimentos (XU; HAMEL; MERCIER, 2015).

No que se refere à alimentação de *H. grisea*, o único estudo realizado até o momento é o de Marques (2016), que avaliou o efeito da oferta das microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis* sobre o crescimento, a sobrevivência e o tempo de desenvolvimento larval. Tal trabalho permitiu definir *C. muelleri* como a melhor opção de alimento para larvas de *H. grisea* em relação ao tempo de desenvolvimento larval e o comprimento total.

Estudos da influência do fotoperíodo no comportamento alimentar de diversas espécies de animais já foram realizados no mundo.

O fotoperíodo é um importante fator ambiental que afeta os equinodermos ao mudar com a alternância das estações, influencia diretamente o comportamento e crescimento e indiretamente afeta a sobrevivência (DONG *et al.*, 2011), também exerce forte influência na gametogênese (MCCLINTOCK; WATTS, 1990), na atividade alimentar de ouriços do mar (YOU *et al.* 2004), sobre o metabolismo de esteroides (VOOGT *et al.*, 1991) e sobre a bioluminescência de *Amphipholis squamata* (DEHEYN; MALLEFET; JANGOUX, 2000).

Em relação aos pepinos do mar, alguns trabalhos foram desenvolvidos como os de Mercier, Battaglène e Hamel (1999) que observaram os efeitos do ciclo diário da luz sobre a alimentação, Chen *et al.* (2007) e Dong *et al.* (2011) estudando

como o fotoperíodo afeta o comportamento, crescimento e sobrevivência de pepinos do mar e Sun *et al.* (2015) que observaram o efeito do fotoperíodo sobre a locomoção dos tentáculos, ritmos de alimentação, taxa de ingestão, taxa de produção de fezes e atividades de enzimas digestivas.

O comportamento noturno de alguns invertebrados marinhos pode ser afetado por certos fatores biológicos e físicos, sendo este, resposta para reduzir o risco de predação (NELSON; VANCE, 1979; MERCIER; BATTAGLENE; HAMEL, 1999; DANCE; LANE; BELL, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi dividido em duas etapas realizadas no laboratório do projeto PEPMAR, localizado no distrito de Bitupitá, município de Barroquinha, Ceará, Brasil. Nessas etapas foram verificadas a seletividade, a preferência alimentar do pepino do mar (*Holothuria grisea*) e a influência do fotoperíodo sobre o comportamento alimentar desses animais.

3.1 ETAPA 1 – Seletividade e Preferência alimentar

3.1.1 Aclimação

Foram utilizados 30 juvenis de pepino do mar (*H. grisea*), com peso médio de $2,73 \text{ g} \pm 1,64 \text{ g}$, provenientes de larvicultura realizada no próprio laboratório.

Antes do início desta etapa, os animais foram transferidos do tanque de cultivo (5000 L) *outdoor* para 2 (dois) monoblocos estoques (volume útil de 30 L) em ambiente *indoor* com água do mar filtrada, clorada e decolorada, providos de aeração constante. A densidade foi de 15 animais por monobloco. Este procedimento foi realizado para promover a aclimação dos animais à condição de fotoperíodo invertido, ou seja, 12 h de luz durante a noite e 12 h de escuro durante o dia. Isso foi feito de modo a facilitar o manejo experimental, já que há indícios de que a espécie tem hábito alimentar noturno. Para simulação do fotoperíodo invertido, os monoblocos foram tampados das 06 h às 18 h.

A aclimação teve duração de 7 dias e durante este período os animais foram alimentados com a dieta padrão do laboratório, que consiste de sedimento lamacento (*mud*) proveniente do litoral local. Para isso, a dieta foi depositada nos monoblocos e somente após a sedimentação da mesma, os animais foram transferidos.

Além disso, diariamente, às 08 h era trocada 50% da água e quando necessário, realizada reposição da dieta.

3.1.2 Sistema experimental

Esta etapa foi realizada em uma sala com iluminação vermelha, para permitir a visualização dos indivíduos e evitar perturbação desnecessária no comportamento dos mesmos.

Foram utilizados três aquários em “Y” medindo 45 x 10 x 10 cm (comprimento x largura x altura), com volume útil de 3 L, para verificar a capacidade de detecção, escolha e alimentação. Os aquários foram dispostos em uma mesa, em uma sala separada com sistema de câmeras de monitoramento. Foram utilizadas 3 câmeras, uma GoPro Hero 3, uma GoPro Hero 4 e uma Sony Handycam. As mesmas foram instaladas em diferentes ângulos, na tentativa de captar todos os movimentos, respostas e estímulos dos animais (Figura 3).

Para evitar interferências no ambiente experimental, o observador ficou acompanhando por meio de monitores em outra sala.

Figura 3 - Disposição dos aquários e das câmeras de monitoramento utilizados nas baterias de observações do experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (*H. grisea*).



Fonte: Autor.

3.1.3 Dietas experimentais

Foram utilizadas quatro dietas, uma controle, areia peneirada e livre de matéria orgânica, outra composta por sedimento lamacento (*mud*), proveniente do litoral local, uma dieta proveniente da mistura de areia com substrato úmido de piscicultura (policultivo de tilápias e tambaquis alimentados com ração comercial) e a última dieta proveniente da mistura de areia com substrato úmido de um cultivo de zooplâncton (rotíferos e copépodos alimentados com a microalga *Arthrospira platensis*).

A areia e os substratos foram previamente autoclavados. Para o preparo das dietas com os substratos úmidos de piscicultura e de cultivo de zooplâncton, foram misturados 4 g da areia utilizada como dieta controle mais 2 mL de substrato. Em seguida, as misturas foram secas ao sol por 1 h (Figura 4).

Figura 4 – Detalhe das quatro dietas utilizadas durante o experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (*H. grisea*).



Fonte: Autor.

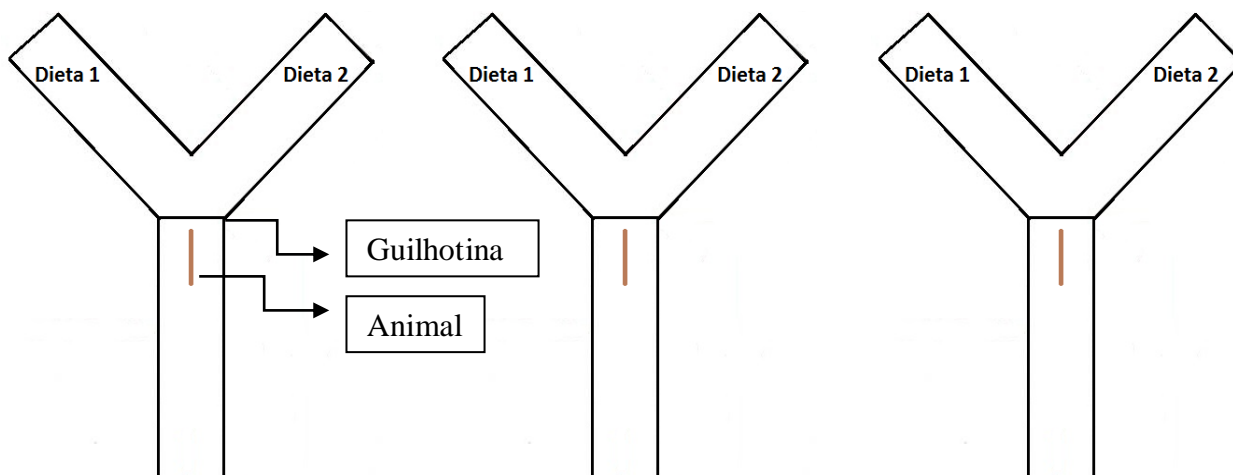
3.1.4 Delineamento experimental

Diariamente, foram realizadas cinco baterias de observações de alimentação, às 9, 11, 13, 15 e 17 h. No período de 24 h antes do início de cada bateria de observação, os quinze animais a serem utilizados no dia seguinte foram transferidos do monobloco estoque para cinco monoblocos estoques secundários (volume útil de 5 L) na densidade de 3 (três) indivíduos cada. O procedimento adotado foi o seguinte: os 3 (três) animais a serem utilizados, por exemplo, na bateria das 9 h, eram transferidos do estoque I para um monobloco menor às 9 h do dia anterior, onde ficavam até a realização da referida bateria. Após transferir os animais para os aquários, os monoblocos menores eram lavados com água doce filtrada, clorada e declorada e novamente cheios com água do mar filtrada, para dessa vez receberem os animais do estoque II. Depois da bateria, os animais voltavam para o descanso no monobloco I, com alimento disponível, onde ficavam se recuperando até serem utilizados novamente. Este procedimento foi repetido continuamente até a realização de todas as observações.

Os monoblocos menores ficavam dentro da sala de observação, para que os animais fossem aclimatados às condições do ambiente. Além disso, a alimentação foi suspensa para limpar todo o trato intestinal dos indivíduos e acelerar o tempo de resposta aos estímulos alimentares.

Foram realizadas 60 baterias de observações, em triplicata, utilizando o sistema de três aquários em Y (Figura 5), totalizando 180 observações. Os aquários foram cheios com água do mar filtrada e providos com aeração somente até o momento da adição das dietas. Entre as baterias de observações os aquários foram secos, lavados com água doce declorada e novamente cheios com água do mar filtrada para a próxima bateria, isto foi feito a fim de evitar qualquer interferência da bateria anterior.

Figura 5 - Representação dos aquários em Y da bateria experimental utilizada durante o experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (*H. grisea*).



Fonte: Autor.

As dietas foram colocadas uma em cada braço do aquário, na quantidade de 4 g cada. Com o objetivo de evitar a indução do animal, a cada quinze observações as dietas eram trocadas de braço. Foram feitas 10 baterias de observações para cada comparação, ou seja, 30 observações. As comparações foram realizadas de acordo com o Quadro 1.

Quadro 1 - Comparação das quatro dietas experimentais testadas durante o experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (*H. grisea*).

	Areia	Mud	Areia + Substrato zoo	Areia + Substrato peixe
Areia	-	C1	C2	C3
Mud		-	C4	C5
Areia + Substrato Zoo			-	C6
Areia + Substrato Peixe				-

Enquanto as dietas sedimentavam nos aquários, os animais foram pesados em balança digital (Bel Engineering Mark 2202 Classe II). Para isso, primeiramente, foi retirado o excesso de água da árvore respiratória espremendo suavemente a metade posterior de cada animal e posteriormente retirando o excesso de água externa, por meio de secagem com papel toalha limpo e seco,

seguindo metodologia adaptada de Sewell (1990).

Os animais então foram colocados nos aquários em uma câmara de adaptação, com sistema de guilhotina. Após a acomodação dos animais na câmara de adaptação, a guilhotina foi aberta e observou-se as reações dos animais. As reações dos animais foram observadas em fases (Adaptado de LEE; MEYERS, 1996):

- 1- Detecção: nesta etapa foram observados os possíveis sinais que o animal pode apresentar como uma resposta à detecção de alimento e marcado o tempo, em segundos, gasto.
- 2- Orientação: Tempo, em segundos, gasto até achar a dieta escolhida.
- 3- Alimentação: tempo, em segundos, de início da alimentação com continuação ou não da alimentação.

Havendo o consumo da dieta experimental, foi considerada uma escolha positiva, não existindo o consumo da dieta escolhida, ou existindo a troca da dieta, foi considerada uma rejeição. Não existindo consumo de nenhuma, isso foi considerado uma abstenção.

As porcentagens de escolhas positivas, escolhas negativas (rejeição) e abstenções foram calculadas de acordo com as seguintes equações:

- Escolhas positivas (%) = $(\text{número de escolhas positivas} / \text{número de comparações}) \times 100$.
- Rejeição (%) = $(\text{número de rejeições} / \text{número de comparações}) \times 100$.
- Abstenção (%) = $(\text{número de abstenções} / \text{número de comparações}) \times 100$.

3.2 ETAPA 2 - Comportamento alimentar em dois diferentes fotoperíodos

Nesta etapa foi verificado o comportamento alimentar do animal em relação a dois diferentes fotoperíodos, um fotoperíodo natural e outro 24 h de escuro.

3.2.1 Sistema e delineamento experimental

Para esta etapa, foram utilizados 32 juvenis com peso médio de 2,19 g \pm 1,51 g, também provenientes de larvicultura realizada no laboratório do projeto PEPMAR.

Não houve necessidade de fazer aclimatação, pois os animais já estavam estocados separadamente nos ambientes onde foram montados os diferentes sistemas (tratamentos) para a realização desta etapa.

Foram utilizados oito aquários medindo 23 x 35 x 18 cm (comprimento x largura x altura), com volume útil de 11,3 L, que foram dispostos em dois blocos de 4 (quatro) aquários. Os aquários de cada bloco foram interligados a um sistema de recirculação de água, com um sistema de filtração capaz de filtrar três vezes o volume da água por dia. Os sistemas de filtração foram compostos por filtro mecânico, filtro biológico, filtro UV e *skimmer*. Em cada sistema de filtração foi fornecida aeração por meio de sistema Venturi e foi instalado um termômetro digital para aferição da temperatura da água.

Os dois fotoperíodos testados foram, um fotoperíodo natural (FN) e outro 24 h de escuro (24E). Cada tratamento foi composto por um bloco de aquários e cada aquário foi povoado com 4 (quatro) juvenis de pepino do mar.

Como um dos tratamentos não sofreu incidência luminosa, os sistemas foram montados em ambientes separados, FN foi montado em sistema *outdoor* e o 24E em um laboratório *indoor* (Figura 6). No laboratório que recebeu o tratamento 24E não havia nenhuma iluminação, dessa forma, para auxiliar as observações de comportamento, tanto no tratamento 24E quanto na fase escura do tratamento FN, foi utilizada uma luz vermelha. Além disso, nos aquários do sistema *outdoor*, havia uma região escura em uma das suas extremidades, para promover uma área de sombreamento e proteção contra os raios solares.

Figura 6 - Sistema de aquários e filtro *outdoor* (A e B) e sistema de aquários e filtro *indoor* (C e D), utilizados no experimento de comportamento alimentar de juvenis de pepino do mar (*H. grisea*), submetidos a dois fotoperíodos (24E e FN).



Fonte: Autor.

As variáveis comportamentais registradas foram: número de animais se alimentando, número de animais defecando, número de animais protegidos em baixo do bloco de proteção luminosa (tratamento FN), número de animais se movimentando e distância percorrida pelos animais. Além dessas também foram registradas a luminosidade incidente e a temperatura da água. Para o registro do número de animais se alimentando, considerou-se que os mesmos estavam em atividade alimentar quando seus tentáculos estavam expostos. Já para o número de animais defecando, considerou-se que os animais defecaram quando havia fezes ligadas ao ânus ou próximas a parte posterior dos mesmos. Para o número de animais se movimentando foi considerada a quantidade de animais com movimentos de alimentação ou deslocamento. Para determinar a distância percorrida pelos animais foram feitas marcações na paredes e tampa dos aquários com auxílio de

régua centimetrada e pincel para quadro branco. A primeira marcação foi o ponto inicial (zero) de cada animal. Após o período pré-estabelecido, foi marcado um novo ponto para cada animal que se locomoveu, tendo como referência o animal mais próximo da marcação anterior. Desse modo, foi feita a soma das distâncias percorridas (cm) pelos quatro animais por aquário e então calculou-se a distância percorrida por hora (distância em linha reta entre os pontos) por todos os indivíduos do aquário.

A luminosidade incidente no ambiente e a temperatura da água foram verificadas com auxílio de um luxímetro (Instrutherm LM-201) e um termômetro digital, respectivamente.

As observações das variáveis de comportamento foram feitas em um período de 24 horas, a cada hora.

3.3 Análise estatística

As escolhas positivas, os tempos de detecção, orientação e alimentação foram analisados pelo método de Kruskal-Wallis, a um nível de significância de 5%, de modo a verificar o poder de escolha e preferência para as dietas testadas

As variáveis dos tratamentos fotoperíodo 24E e FN, foram correlacionadas através do método de Pearson, a um nível de significância de 5%, a fim de verificar a influência de cada uma no comportamento alimentar.

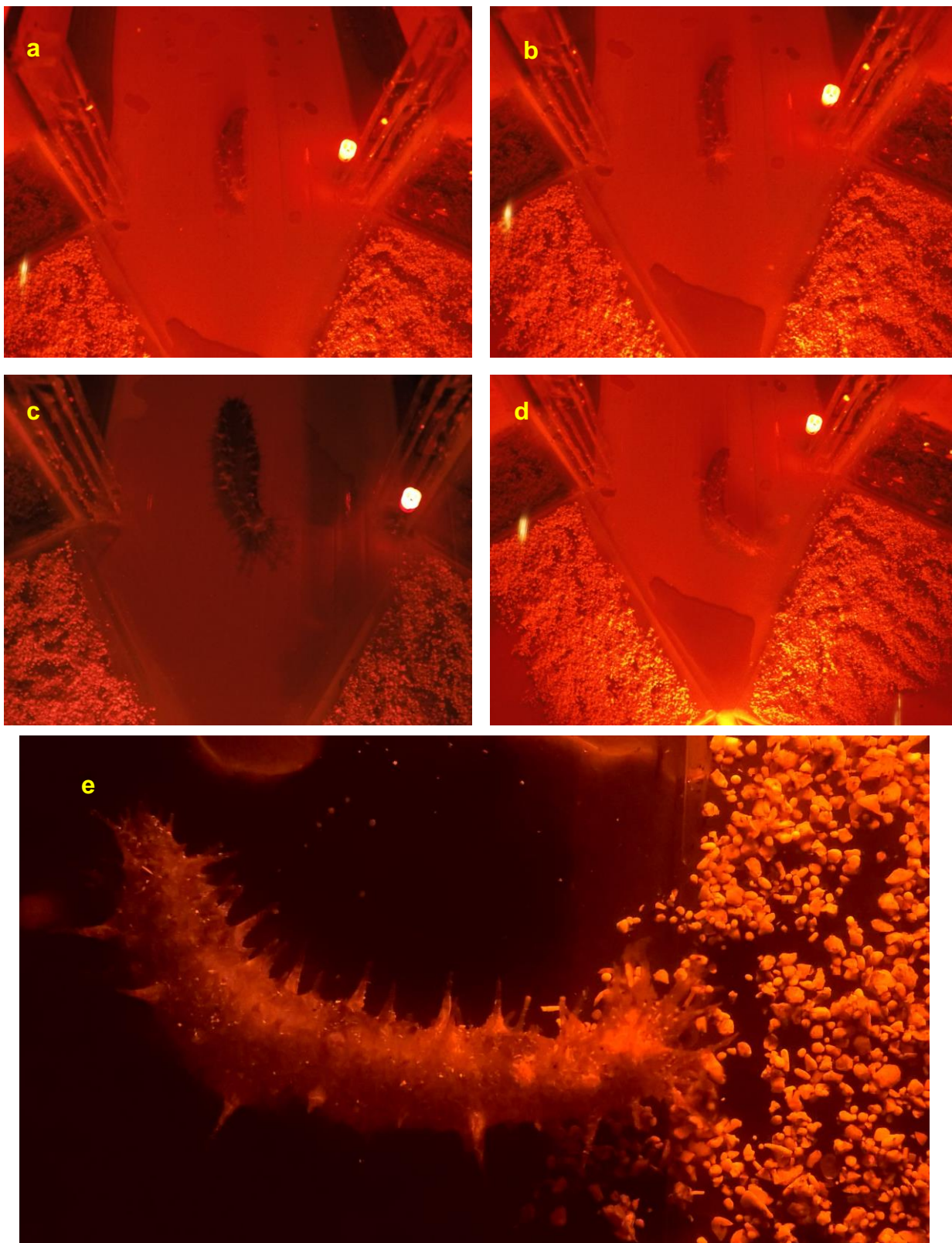
Os dados foram analisados no *software* Excel 2013, com a utilização do suplemento Action, versão 2.9 e no *software* Past versão 3.12.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ETAPA 1 – Seletividade e preferência alimentar

O comportamento dos animais durante as baterias de observações foi muito similar. No momento da abertura da guilhotina, o corpo ficava contraído e tenso, as espículas não eriçadas e os tentáculos retraídos (Figura 7a). Tais características se enquadram como uma resposta de defesa a ação humana de se aproximar e interferir na estrutura. Após abertura da guilhotina, os animais começavam a ter um relaxamento corporal, com eriçamento das espículas e os tentáculos lançados para fora (Figura 7b). Durante a detecção, o corpo do animal já se encontrava totalmente relaxado, com espículas eriçadas e os tentáculos começam a fazer movimentos de varredura a procura do alimento (Figura 7c). Após detectada, a presença do alimento no ambiente os animais alongavam seus corpos e tentáculos, no sentido dos alimentos, de forma a percorrer maior distância em menos tempo (Figura 7d). Chegando a dieta, escolhida os animais começavam se alimentar, tendo os tentáculos a função de levar o alimento até a boca do animal (Figura 7e). Os tentáculos trabalhavam alternadamente, enquanto alguns coletavam alimento, outros que já tinham coletado e depositado na boca do animal, voltavam e coletavam mais.

Figura 7 - Descrição do comportamento durante o teste do aquário em y: corpo contraído e tenso (a), relaxamento corporal (b), detecção (c), pós detecção (d), alimentação (e).



Fonte: Autor.

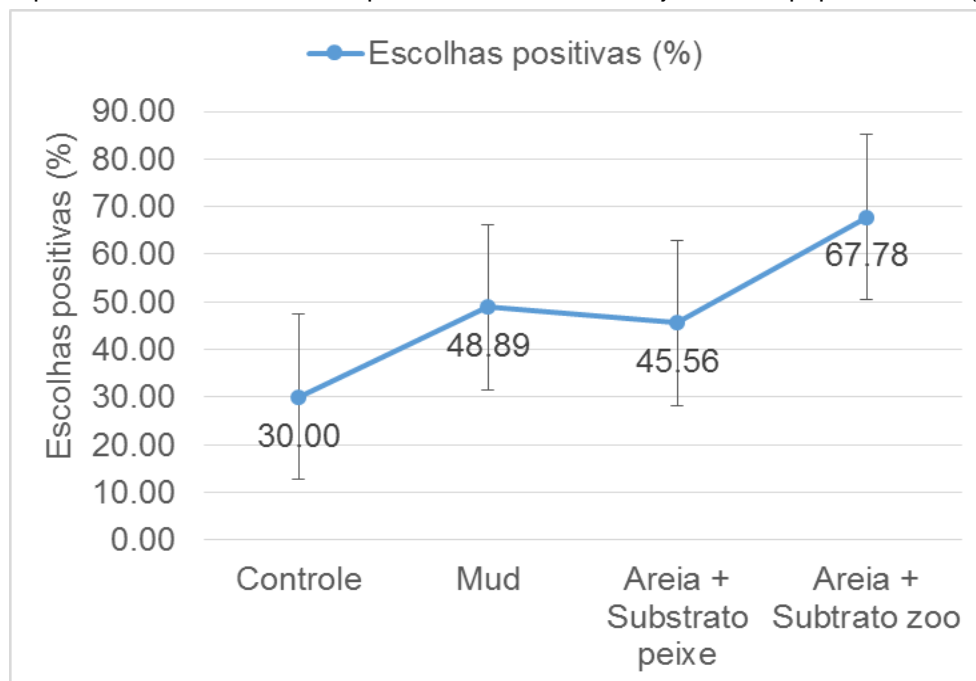
Esse trabalho tentacular também foi observado por Hudson, Wigham e Tyler (2004), por meio de vídeo observações *in situ* do comportamento alimentar de *Stichopus tremulus*. Os autores mostraram que esta espécie usa bem as papilas orais em um movimento de “varrer” para direcionar partículas no fundo do mar. Após a detecção de uma fonte de alimento os tentáculos, que são digitados e ramificados, recolhem uma grande variedade de fragmentos de sedimentos do fundo do mar. *S. tremulus* apresenta 20 tentáculos, no entanto, apenas 10 destes são empregados em simultâneo durante a alimentação, ou seja, o uso dos tentáculos parecia estar em sequência, alternando entre os de reserva e os tentáculos ativos.

Nenhuma das dietas propostas sofreu rejeição. Constatou-se que em apenas 3,89% das observações os pepinos do mar tiveram o comportamento de abstenção. A dieta controle teve a média de 30% de escolhas positivas, já a dieta sedimento lamacento (*Mud*) teve a média de 48,89% de escolhas positivas, a dieta composta da mistura da dieta controle mais substrato úmido autoclavado de uma piscicultura teve 45,56% de escolhas positivas e a dieta composta da mistura da dieta controle mais substrato úmido autoclavado de um cultivo de zooplâncton, teve a média de 67,78% de escolhas positivas.

No presente trabalho, as dietas organicamente mais ricas foram justamente as que tiveram maiores médias de escolhas positivas. Segundo Zhao (2010), o teor de matéria orgânica no trato intestinal de alguns pepinos do mar é maior do que a do sedimento, indicando que pepinos do mar que se alimentam de depósitos podem ter seletividade química de alimentos. Uthicke e Karez (1999) mostraram que as espécies *S. chloronotus* e *S. variegatus* exibem seletividade e preferência por sedimentos mais ricos em matéria orgânica.

Apesar dos valores numericamente mais expressivos para a dieta areia mais substrato úmido de cultivo de zooplâncton, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre as médias das escolhas positivas das dietas (Figura 8).

Figura 8 - Médias das escolhas positivas para cada uma das as quatro dietas testadas no experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (*H. grisea*).



Fonte: Autor.

Em relação aos tempos de detecção, orientação e início de alimentação, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) para as quatro dietas testadas em relação ao tempo de detecção. Entretanto houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no tempo de orientação e de início de alimentação para as dietas controle e areia mais substrato úmido de cultivo de zooplâncton, sendo que para esta segunda, os animais levaram menos tempo para chegar no alimento e também para iniciar sua alimentação (Tabela 1).

Tabela 1 - Tempos (em segundos) (média \pm d.p) de detecção, orientação, e início de alimentação das quatro dietas testadas durante o experimento de seletividade e preferência alimentar de juvenis do pepino do mar (*H. grisea*).

	Detecção	Orientação	Alimentação
Controle	53,33 \pm 16,82	988,93 \pm 230,69 ^a	1053,67 \pm 234,44 ^a
Mud	65,16 \pm 13,18	771,5 \pm 180,71 ^{ab}	885,25 \pm 183,65 ^{ab}
Areia + Substrato peixe	45,71 \pm 13,65	757,95 \pm 187,20 ^{ab}	826,83 \pm 190,25 ^{ab}
Areia + Substrato zoo	48,66 \pm 11,19	604,85 \pm 153,48 ^b	648,49 \pm 155,97 ^b

*Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$).

A espécie *H. grisea* não demonstrou seletividade, nem preferência alimentar para nenhuma das quatro dietas testadas. Isso pode ter acontecido devido ao número de observações utilizado, que pode não ter sido adequado, ou seja, insuficiente para se chegar a uma resposta concreta.

Contudo, os dados corroboram com Uthicke e Karez (1999) que investigaram a seletividade de holotúrias, da Ordem Aspidochirotida, por nutrientes no sedimento. Os indivíduos de três espécies (*Holothuria atra*, *H. edulis* e *H. nobilis*) foram submetidos a múltiplos experimentos de escolha. *H. atra* e *H. edulis*, não exibiram preferência por qualquer tipo de alimento. Os membros do gênero *Holothuria* não tiveram nenhuma ou apenas uma fraca tendência para selecionar sua fonte de alimento.

No entanto, o fato de ter existido escolhas positivas para as quatro dietas testadas, indica a que *H. grisea* pode ter a capacidade de detectar o alimento a curta distância, sendo capaz de se direcionar para o mesmo e ir ao seu encontro. Isso também pode ser confirmado pelo fato de ter havido diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os tempos de orientação e início de alimentação das dietas controle e areia mais substrato úmido de cultivo de zooplâncton, mostrando os animais foram capazes de encontrar mais rapidamente e começar a se alimentar primeiro da dieta substrato úmido de cultivo de zooplâncton, em vez da dieta controle.

Mercier, Battaglione e Hamel (1999), em estudo com juvenis de *H. scabra* de todos os tamanhos, verificaram que esta espécie apresentou uma forte seletividade para determinadas características do sedimento. Em duas experiências de seleção de substrato, a sua preferência para a areia com um tamanho de grão de cerca de 0,4 mm e para o material organicamente rico foi firmemente expressa dentro de uma hora.

Esta capacidade de seletividade tem grande possibilidade de estar relacionada aos tentáculos, tendo em vista que Fankboner (1978) em estudo sobre mecanismo alimentar de *Psolus chitinoides*, observou resposta tentacular a estímulos mecânicos e olfativos e, juntamente com provas ultraestruturais indicou que as células das papilas podem também ter a função na capacidade sensorial. Isto também foi verificado por Bouland, Massin e Jangoux (1982) em estudo ultra-estrutural dos tentáculos bucais de *Holothuria forskali*, que revelaram que cada tentáculo carrega numerosas papilas apicais. Cada papila consiste em vários botões

sensoriais diferenciados. Os autores sugeriram que os tentáculos bucais de *H. forskali* são órgãos sensoriais e iriam reconhecer as áreas organicamente mais ricas da superfície do sedimento através das habilidades quimiossensíveis de seus botões apicais.

4.2 ETAPA 2 – Comportamento alimentar em dois diferentes fotoperíodos

4.2.1 Fotoperíodo 24 h escuro

O experimento durou 24 h, com início às 16 h do primeiro dia e indo até as 16 h do segundo dia. A intensidade luminosa (lux) durante todo o experimento foi zero.

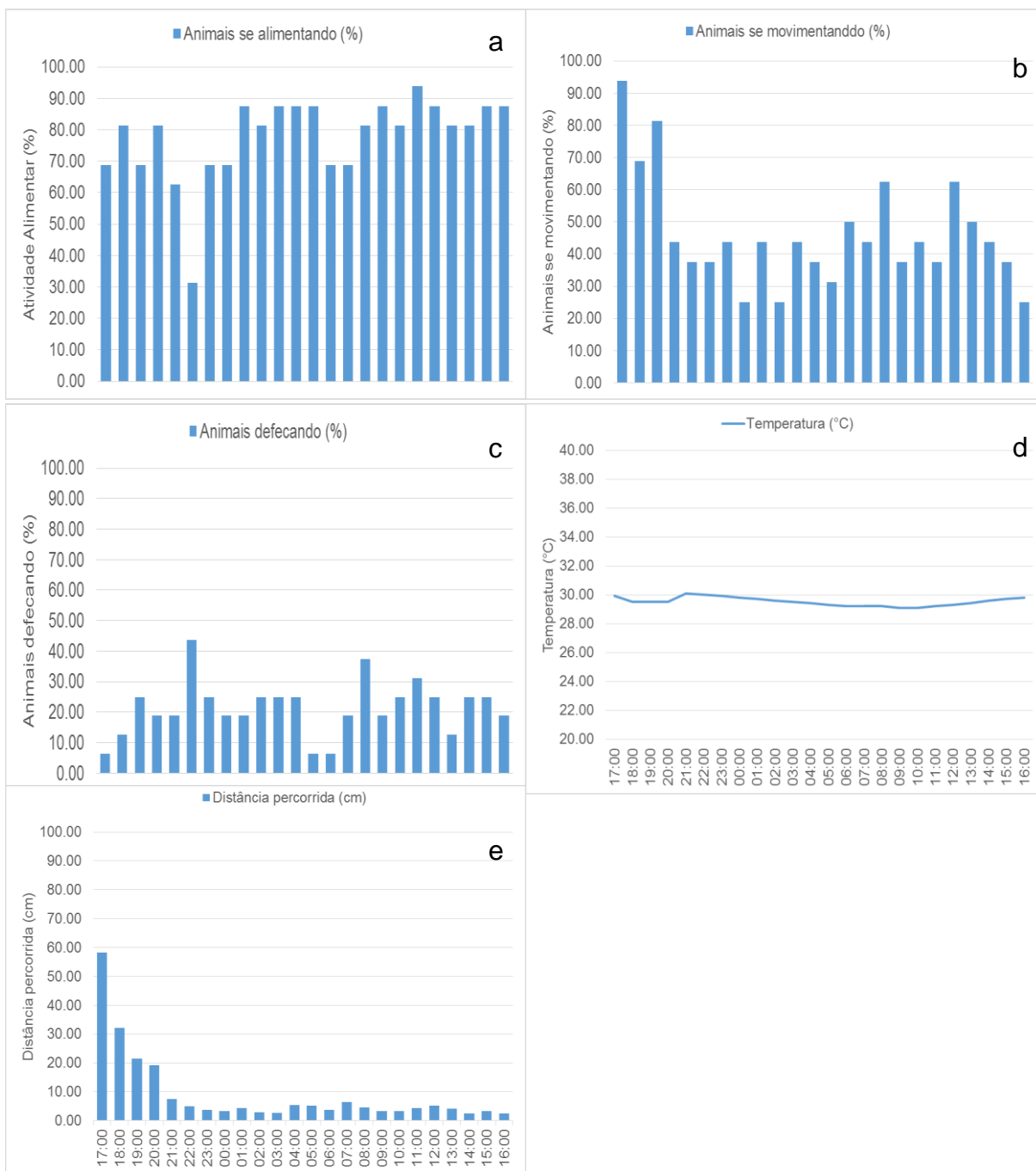
A temperatura da água durante o ciclo foi de $29,52^{\circ}\text{C} \pm 0,29^{\circ}\text{C}$ (média \pm d.p), sofrendo pouca variação, pois as condições ambientais foram controladas (Figura 9d).

A atividade alimentar foi constante, com $77,86\% \pm 13,16\%$ (média \pm d.p) dos indivíduos se alimentando durante o ciclo e teve correlação negativa ($r = -0,52$; $p < 0,05$) com a temperatura da água, ou seja, nos horários em que a temperatura da água foi um moderadamente mais baixa a atividade alimentar foi moderadamente mais alta (Figura 9a, d).

Distância percorrida e número de animais se movimentando tiveram correlação positiva ($r = 0,77$; $p < 0,05$), ou seja, a distância percorrida era para ser crescente à medida que os animais se movimentavam. Isso ocorreu no início do ciclo como uma forma dos animais se acomodarem no ambiente, entretanto, tal situação não ocorreu após o animal se estabelecer em um local de alimentação. Após estabelecidos, as distâncias percorridas foram pequenas, mostrando que a maior parte da movimentação dos animais foi voltada para movimentos de alimentação próximos ao local de alimentação (Figura 9e, b).

Observou-se animais defecando em todos horários ($21,35\% \pm 9,01\%$; média \pm d.p), entretanto, não foi obtida correlação com a atividade alimentar, ou seja, os animais estavam comendo mais e demorando mais tempo para processar esse alimento (Figura 9c).

Figura 9 - a - atividade alimentar (%), b - animais se movimentando (%), c - animais defecando (%), d - temperatura (°C) e, e - distância percorrida (cm) dos animais submetidos ao fotoperíodo de 24 h em escuro.



Fonte: Autor.

4.2.2 Fotoperíodo natural

O experimento durou 22 h, com início às 16h30min do primeiro dia e indo até as 14h30min do segundo dia.

A temperatura da água durante o ciclo foi de $28,62^{\circ}\text{C} \pm 4,29^{\circ}\text{C}$ (média \pm d.p). Esta sofreu variação, pois as condições ambientais não eram controladas, o que fez o experimento ser encerrado com duas horas de antecedência, as 14h30min, horário no qual a temperatura que já vinha subindo desde às 10h30min, chegou a um pico de $38,5^{\circ}\text{C}$, se tornando muito elevada e podendo levar os animais a morte (Figura 10f).

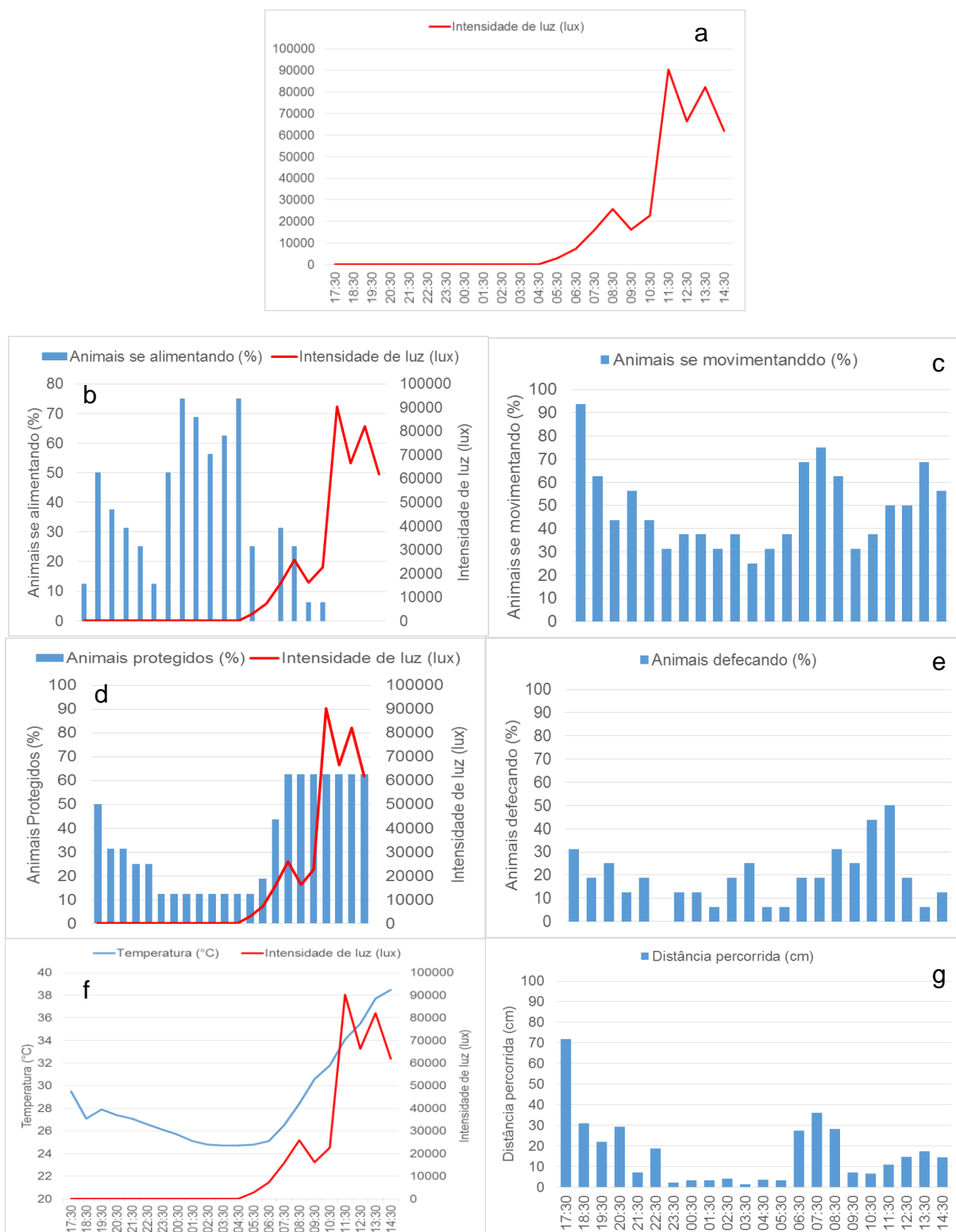
A intensidade luminosa (lux) da luz solar variou próxima do esperado, com pico de 90.375 lux às 11h30min e atingindo o mínimo (zero lux) entre as 17h30min e às 04h30min, retornando a partir das 05h30min, o que dá um ciclo de aproximadamente 12 h de luz e 12 h de escuro natural. Temperatura da água e intensidade luminosa tiveram correlação positiva ($r= 0,89$; $p<0,05$) (Figura 10a,f).

A atividade alimentar teve seu pico no período de escuridão, entre as 00h30min e 04h30min (Figura 10b). Apresentou correlação negativa com a temperatura ($r= -0,71$; $p<0,05$) e intensidade luminosa ($r= -0,63$; $p<0,05$), ou seja, a medida que a intensidade de luz e a temperatura da água iam aumentando, o animal ia cessando sua alimentação. Além disso, apresentou correlação negativa com o número de animais protegidos ($r= -0,72$; $p<0,05$) (Figura 10d), ou seja, quando protegidos da incidência luminosa os animais não se alimentavam. Apresentou ainda, correlação negativa para movimentação ($r= -0,44$; $p<0,05$) (figura 10c) e distância percorrida ($r= -0,33$; $p<0,05$) (Figura 10g), ou seja, a maior parte da movimentação e das distâncias percorridas pelos animais não foram com o intuito de se alimentarem. A porcentagem de animais defecando, foi maior para os indivíduos que estavam protegidos da incidência luminosa ($r= 0,56$; $p<0,05$) (Figura 10e).

A distância percorrida pelos animais e a movimentação dos animais apresentaram correlação positiva ($r= 0,88$; $p<0,05$), sendo parte dessa movimentação ($r= 0,45$; $p<0,05$) com o intuito de se protegerem, sem foco na alimentação. A porcentagem de animais protegidos da incidência luminosa, apresentou, como esperado, correlação positiva para a intensidade de luz ($r= 0,75$;

$p < 0,05$) e temperatura da água ($r = 0,85$; $p < 0,05$), indicando que os animais têm uma clara sensibilidade a luz e a temperaturas elevadas.

Figura 10 - a - Intensidade de luz (lux), b - atividade alimentar (%), c - animais se movimentando (%), d - animais protegidos (%), e - animais defecando (%), f - temperatura (°C) e, g - distância percorrida (cm) dos animais submetidos ao fotoperíodo natural.



Fonte: Autor

Holothuria grisea apresenta claro hábito alimentar noturno, esses comportamentos estão de acordo com os estudos de Nelson e Vance (1979), Mercier, Battaglione e Hamel (1999) e Dance, Lane e Bell (2003) que concluíram que muitos equinodermos têm esse hábito alimentar noturno, de modo a evitar a predação.

Comparando os dois tratamentos, nota-se claramente que em condições controladas de temperatura e luminosidade zero, a atividade alimentar se estendeu por todo o ciclo, enquanto que no ciclo de fotoperíodo natural a atividade alimentar se deu com maior ênfase no período de escuridão, cessando nos períodos mais quentes e iluminados do dia, com picos de alimentação entre 00h30min e 04h30min.

Picos de alimentação noturna foram observados por Leite-Castro (2016), que estudou a influência do fotoperíodo natural, com temperatura controlada, na atividade de juvenis de pepino do mar (*H. grisea*). Os picos observados foram entre 17 h e 22 h, e em períodos com maior incidência luminosa os animais tenderam a se proteger, porém não pararam de se alimentar. Logo, é possível afirmar que não somente a intensidade de luz, mas também a temperatura é um fator de relevante importância na atividade alimentar dos juvenis.

Sun *et al.* (2015), em experimento sobre comportamento alimentar realizado com três tamanhos diferentes de pepino do mar *Apostichopus japonicus*, também observaram que a atividade de alimentação de todos os grupos de tamanho era noturna, com pico entre 2 h e 4 h.

Mercier, Battaglione e Hamel (1999), em experimento de ciclo diário de pepinos do mar *H. scabra* de diferentes tamanhos, observaram que os juvenis expostos ao fotoperíodo natural começaram a se enterrar por volta das 00h30min – 03h30min com a maioria dos juvenis se enterrando ao nascer do sol, às 06h30min. Em escuridão constante, mais juvenis tenderam a permanecer na superfície se alimentando durante o dia.

Dong *et al.* (2010) observaram que *A. japonicus* em um ciclo noturno em curso por mais de oito dias, os animais passaram mais tempo se alimentando, porém, com um ritmo menos acentuado. Em condições de pouca luz (<5,18 lux), o ritmo de atividade diária foi governado por um relógio biológico inato e o efeito da intensidade da luz não foi significativa entre os diferentes tratamentos. Dentro da condição de luz fraca (de 5,18 a 278 lux) mais indivíduos tendiam a retirar-se para abrigos (de 56,04% para 91,83%) com o aumento da intensidade da luz. No entanto,

os comportamentos diários de *A. japonicus* foram influenciados sob condições de luz forte (>278 lux), menos de 8,17% indivíduos mantiveram alimentação ativa.

Chen *et al.* (2007) verificaram que o crescimento de *A. japonicus* no escuro contínuo e luz contínua foi mais lento do que com um ciclo sob a 12 h de luz e 12 h de escuro ou um ciclo natural. Os autores concluíram que o fotoperíodo poderia afetar o comportamento, crescimento e sobrevivência de *A. japonicus*. Dong *et al.* (2011) em estudo sobre os efeitos do fotoperíodo sobre o ritmo de atividade diária de juvenis de pepino do mar, *A. japonicus*, mostraram que 6-15 horas de luz por dia foram os fotoperíodos semelhantes à luz solar natural, com isso, do ponto de vista da atividade e comportamento alimentar, estes podem ser os fotoperíodos ideais para cultivos de *A. japonicus*.

Por ter sido feito apenas 24 h de exposição, não podemos afirmar ao certo se o comportamento alimentar contínuo durante 24 h de escuridão pode ser benéfico, por exemplo, para questões de desempenho zootécnico a longo prazo, visando o cultivo comercial da espécie.

5 CONCLUSÃO

A espécie *H. grisea* não demonstrou seletividade, nem preferência alimentar para nenhuma das quatro dietas testadas.

H. grisea pode ter a capacidade de detectar o alimento a curta distância. Estudos mais específicos são necessários para a confirmação.

H. grisea apresenta claro hábito alimentar noturno, sendo fortemente influenciado pela intensidade de luz e pela temperatura da água, demonstrando sensibilidade à estas variáveis.

Sugere-se mais estudos para entender como a intensidade de luz, a temperatura da água e suas alterações podem influenciar durante um maior período de tempo de exposição, por exemplo, em um cultivo comercial de *H. grisea*.

REFERÊNCIAS

- AGUDO, N. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Secretariat of the Pacific Community (SPC) & WorldFish Center, Noumea. **Sandfish hatchery techniques**, p. 43, 2006.
- BATTAGLENE, S. C. *et al.* Spawning induction of three tropical sea cucumbers, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*. **Aquaculture**, v. 207, p. 29–47, 2002.
- BORDBAR, S., ANWAR, F., SAARI, N. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods—a review. **Mar. Drugs**, v. 9, p. 1761–1805, 2011.
- BOULAND, C.; MASSIN, C.; JANGOUX, M. The fine-structure of the buccal tentacles of *Holothuria forskali* (Echinodermata, Holothuroidea). **Zoomorphology**, v. 101, p. 133–149, 1982.
- BRUSCA, C.R.; BRUSCA, J.G.; **Invertebrados**, 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2007.
- BRYAN, P. J.; RITTSHOF, D.; MCCLINTOCK, J. B. Bioactivity of echinoderm ethanolic body-wall extracts: an assessment of marine bacterial attachment and macroinvertebrate larval settlement. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 196, p. 79-96, 1996.
- BUENO, M. L. **Biologia reprodutiva de *Holothuria grisea* (Selenka, 1867) (Echinodermata: Holothuroidea) em Guaratuba, Paraná, Brasil**. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Faculdade Estadual de Filosofia, Ciências e Letras de Paranaguá, Paranaguá, 2010.
- CHAO S. M., CHEN C. P., ALEXANDER, P. S. Reproductive cycles of tropical sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) in southern Taiwan. **Marine Biology**, v. 122, p. 289–295, 1995.
- CHEN, J. Present status and prospects of sea cucumber industry in China. **Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management. FAO Fisheries Technical Paper**. FAO, Rome, n. 463, p. 25–38, 2004.
- CHEN, Y *et al.* The effects of temperature, salinity and light cycle on the growth and behavior of *Apostichopus japonicus*. **J. Fish.** China, v. 5, p. 687-691, 2007.
- CONAND, C. Sexual cycle of the three commercially important holothurian species (Echinodermata) from the lagoon of New Caledonia. **Bulletin of Marine Science**, v. 31, p. 523-543, 1981.
- DANCE, S.K.; LANE, I; BELL, J.D. Variation in short-term survival of cultured sandfish (*Holothuria scabra*) released in mangrove–seagrass and coral reef flat habitats in Solomon Islands. **Aquaculture**, v. 220, p. 495- 505, 2003.

DEHEYN, D; MALLEFET, J; JANGOUX, M. Evidence of seasonal variation in bioluminescence of *Amphipholis squamata* (Ophiuroidea, Echinodermata): effects of environmental factors. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [s.l.], v. 245, n. 2, p. 245-264, mar. 2000.

DIAS, I. F. **Taxonomia e Distribuição de Holothuroidea (Echinodermata) na costa cearense**. 2009. 56 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

DIAS, I. F. **Distribuição espaço-temporal e densidade populacional de *Holothuria (Halodeima) grisea* (Holothuroidea: Aspidochirotida) na praia de Bitupitá, Ceará, Nordeste do Brasil**. 2012. 71 f. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

DONG, G *et al.* Effects of light intensity on daily activity rhythm of juvenile sea cucumber, *Apostichopus japonicus* (Selenka). **Aquaculture Research**, [s.l.], v. 41, n. 11, p. 1640-1647, 9 jun. 2010.

DONG, G, *et al.* Effects of photoperiod on daily activity rhythm of juvenile sea cucumber, *Apostichopus japonicus* (Selenka). **Chin. J. Ocean. Limnol.**, [s.l.], v. 29, n. 5, p. 1015-1022, 8 ago. 2011.

DRUMM, D.J.; LONERAGAN, N. R. Reproductive Biology of *Holothuria leucospilota* in the Cook Island and the implications of the traditional fishing of gonads on the population. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 39, p. 141-156. 2005.

ERIKSSON, H. *et al.* Sea Cucumber Aquaculture in the Western Indian Ocean: Challenges for Sustainable Livelihood and Stock Improvement. **Ambio**, [s.l.], v. 41, n. 2, p. 109-121, 20 out. 2011.

FANKBONER, P. V. Suspension-feeding mechanisms of the armoured sea cucumber *Psolus chitinooides* Clark. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 11-25, jan. 1978.

FONSECA, R. J. C. *et al.* Effects of oversulfated and fucosylated chondroitin sulfates on coagulation. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 103, p. 995-1004, 2010.

FONSECA, R. J. C.; MOURÃO, P. A. S. Fucosylated chondroitin sulfate as a new antithrombotic agent. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 96, p. 822–829, 2006.

HADEL, V. F. *et al.* Filo Echinodermata. *In*: MIGOTTO, A. E.; TIAGO, C. G. (Eds.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo: Síntese do conhecimento no final do século XX**. Parte 3: Invertebrados marinhos. São Paulo: FAPESP, 1999. p. 259-271.

HATAKEYAMA, T. *et al.* Interaction of the Hemolytic Lectin CEL-III from the Marine Invertebrate *Cucumaria echinata* with the Erythrocyte Membrane. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 8, p. 3560-3564. 1995.

HERENCIA, F. *et al.* Antiinflammatory Activity in Mice of Extracts from Mediterranean Marine-Invertebrates. **Life sciences**, v. 62, n. 9, p. 115-120. 1998.

HUDSON, I. R.; WIGHAM, B. D.; TYLER, P. A. The feeding behaviour of a deep-sea holothurian, *Stichopus tremulus* (Gunnerus) based on in situ observations and experiments using a Remotely Operated Vehicle. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [s.l.], v. 301, n. 1, p. 75-91, abr. 2004.

HUFFARD, C. L. *et al.* Demographic indicators of change in a deposit-feeding abyssal holothurian community (Station M, 4000m). **Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, [s.l.], v. 109, p.27-39, mar. 2016.

HYMAN, L. H. **The invertebrates**: Echinodermata. The Coelomate Bilateria. New York: McGraw-Hill, 1955. 763 p.

JANAKIRAM, N. B.; MOHAMMED, A.; RAO, C. V. Sea Cucumbers Metabolites as Potent Anti-Cancer Agents. **Mar. Drugs**, v. 13, p. 2909 - 2923, 2015.

KHOTIMCHENKO, Y. S. The nutritional value of holothurians. **Russian Journal Of Marine Biology**, [s.l.], v. 41, n. 6, p. 409-423, nov. 2015.

KUZNETSOVA, T. A. *et al.* A comparative study in vitro of physiological activity of triterpene glycosides of marine invertebrates of echinoderm type. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 73, n. 1, p. 41– 43, 1982.

LEE, P. G.; MEYERS, S. P. Chemoattraction and feeding stimulation in crustaceans. **Aquaculture Nutrition**, [s.l.], v. 2, n. 3, p. 157-164, set. 1996.

LEITE-CASTRO, L. V. **Biologia reprodutiva e produção em cativeiro do pepino do mar *Holothuria grisea* (Holothuroidea – Echinodermata) em latitude equatorial, Ceará – Brasil**. 2016. 111 f. Tese (Pós-Graduação em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

LEITE-CASTRO, L. V. *et al.* Reproductive biology of the sea cucumber *Holothuria grisea* in Brazil: importance of social and environmental factors in breeding coordination. **Marine Biology**, [s.l.], v. 163, n. 3, p. 163-167, mar. 2016

LOVATELLI, A. *et al.* **Advances in sea cucumber aquaculture and management**. **FAO Fisheries Technical Paper**. No. 463. Rome, FAO. 2004. 425p.

MARQUES, D. F. **Crescimento, sobrevivência, e desenvolvimento larval do pepino do *Holothuria grisea*: alimentação com diferentes microalgas**. 2016. 73 f. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

MARTINS, L. R. **Estudo Taxonômico dos Holothuroidea (Echinodermata) de águas rasas da costa Brasileira**. 2012. 134 f. Dissertação (Pós-Graduação em Diversidade Animal) – Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

MCCLINTOCK, J. B.; WATTS, S. A. The effects of photoperiod on gametogenesis in the tropical sea urchin *Eucidaris tribuloides* (Lamarck) (Echinodermata: Echinoidea). **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [s.l.], v. 139, n. 3, p. 175-184, jul. 1990.

MELO, A. A. *et al.* HGA-2, a novel galactoside-binding lectin from the sea cucumber *Holothuria grisea* binds to bacterial cells. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 64, p. 435-442, mar. 2014.

MENDES, F. M.; MARENZI, A. W. C.; DOMENICO, M. Population patterns and seasonal observations on density and distribution of *Holothuria grisea* (Holothuroidea:Aspidochirotida) on the Santa Catarina Coast, Brazil. **SPC Beche-de-mer Information Bulletin**, n. 23, p. 5 -10, 2006.

MERCIER, A.; BATTAGLENE, S.C.; HAMEL, J.-F. Daily burrowing cycle and feeding activity of juvenile sea cucumbers *Holothuria scabra* in response to environmental factors. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [s.l.], v. 239, n. 1, p. 125-156, jun. 1999.

MERCIER, A.; BATTAGLENE, S.C.; HAMEL, J.-F. Settlement preferences and early migration of the tropical sea cucumber *Holothuria scabra*. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [s.l.], v. 249, n. 1, p. 89-110, jun. 2000.

MEZALI, K.; SOUALILI, D. L. The ability of holothurians to select sediment particles and organic matter. **SPC Beche-de-mer Information Bulletin**, n. 33, p. 38 – 43, 2013.

MILLER, J. E.; PAWSON, D. L. **Swimming sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea):** A survey, with analysis of swimming behavior in four bathyal species. *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences*, Washington, D. C. 1990.

MIGOTTO, A.E. Pepino do mar. Banco de imagens *Cifonauta*. Disponível em: <http://cifonauta.cebimar.usp.br/photo/8074/> Acesso em: 25/06/2016.

MOURA, R. M. *et al.* *Holothuria grisea* agglutinin (HGA): the first invertebrate lectin with anti-inflammatory effects. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 27, p. 656–668, 2013.

MOURÃO, P. A. S. *et al.* Structure and Anticoagulant Activity of a Fucosylated Chondroitin Sulfate from Echinoderm: Sulfated Fucose Branches on The Polysaccharide Account for Its High Anticoagulant Activity. **Journal Biological Chemistry**, v. 271, p. 23973-23984, 1996.

MOURÃO, P. A. S. *et al.* Antithrombotic Activity of a Fucosylated Chondroitin Sulfate from Echinoderm: Sulfated Fucose Branches on the Polysaccharide Accounts for its Antithrombotic Action. **British Journal of Haematology**, v. 101, p. 647-652, 1998.

MOURÃO, P. A. S. *et al.* Inactivation of thrombin by a fucosylated chondroitin sulfated from echinoderm. **Thrombosis Research**, v. 102, p. 167-176, 2001.

MUTHIGA, N. A.; KAWAKA, J. A.; NDIRANGU, S. The timing and reproductive output of the commercial sea cucumber *Holothuria scabra* on the Kenyan coast. **Estuarine, Coastal And Shelf Science**, [s.l.], v. 84, n. 3, p. 353-360, set. 2009.

NELSON, B. V.; VANCE, R. R. Diel foraging patterns of the sea urchin *Centrostephanus coronatus* as a predator avoidance strategy. **Mar. Biol.**, [s.l.], v. 51, n. 3, p. 251-258, 1979.

OLIVEIRA, J. P. **Holothuroidea (Echinodermata) da região Nordeste do Brasil**. 2013. 222 f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Zoologia) – Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, 2013.

PAWSON, D. L. Phylum Echinodermata. **Zootaxa**, v. 1668, p. 749-764, 2007.

PAWSON, D. L.; PAWSON, D. J.; KING, R. A. A taxonomic guide to the Echinodermata of the South Atlantic Bight, USA: 1. Sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea). **Zootaxa**, v. 2449, p. 1–48, 2010.

PETZELT, C. Are Echinoderms of Interest to Biotechnology? *In*: MATRANGA, V. (Ed). **Echinodermata**, New York: Springer-Verlag, 2005. p. 1-5.

PLOTIEAU, T. *et al.* Analysis of the impact of *Holothuria scabra* intensive farming on sediment. **Cali. Biol. Mar.**, v. 54, p. 703-711, 2013.

PURCELL, S. W.; HAIR, C. A.; MILLS, D. J. Sea cucumber culture, farming and sea ranching in the tropics: Progress, problems and opportunities. **Aquaculture**, [s.l.], v. 368-369, p. 68-81, nov. 2012.

RAMOFAFIA, C; BYRNE, M; BATTAGLENE, S. C; Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Holothuria fuscogilva* in the Solomon Islands. **Marine Biology**, v. 136, p. 1045-1056, 2000.

ROBERTS, D.; MOORE, H. M. Tentacular diversity in deep-sea deposit-feeding holothurians: implications for biodiversity in the deep sea. **Biodiversity And Conservation**, [s.l.], v. 6, n. 11, p. 1487-1505, 1997.

ROCHA, R. M. Echinodermata. *In*: RIBEIRO-COSTA, C. S.; ROCHA, R. M. (Org.) **Invertebrados: Manual de Aulas Práticas**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, Editora Ltda-ME. 2006. p. 198-213.

RUPPERT, E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados**. 7 ed. São Paulo: Roca Ed, 2005. p. 1145.

SLATER, M. J.; ALEXANDER, C. G. Effect of sea cucumber (*Australostichopus mollis*) grazing on coastal sediments impacted by mussel farm deposition. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, p. 1123–1129, 2009.

SAMYN, Y.; VANDENSPIEGEL, D.; MASSIN, C. A new Indo-West pacific species of *Actinopyga* (Holothuroidea: Aspidochirotida: Holothuriidae). **Zootaxa**, v. 1138, p. 53-68, 2006.

SANTOS, R. *et al.* Sea cucumber *Holothuria forskali*, a new resource for aquaculture? Reproductive biology and nutraceutical approach. **Aquac Res**, p. 1-17, 2015.

SEWELL, M.A. Aspects of the ecology of *Stichopus mollis* (Echinodermata: Holothuroidea) in north-eastern New Zealand. **New Zealand Journal Of Marine And Freshwater Research**, [s.l.], v. 24, n. 1, p. 97-103, mar. 1990.

SLOAN, A.; VON BODUNGEN, B. Distribution and Feeding of the Sea Cucumber *Isostichopus badionotus* in Relation to Shelter and Sediment Criteria of the Bermuda Platform. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v.2 p. 257-264, 1980.

SOLÍS-MARÍN, F. A. *et al.* **Holoturoideos (Echinodermata:Holothuroidea) del Golfo de California**. 1. Ed. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología: Universidad Nacional Autónoma de México, Conabio. 2009. 177 p.

SOLÍS-MARÍN, F.A.; LAGUARDA-FIGUERAS, A.; HONEY-ESCANDÓN, M. Biodiversidad de equinodermos (Echinodermata) en México. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, [s.l.], v. 85, p. 441-449, jan. 2014.

SONNENHOLZNER, J. Seasonal variation in the food composition of *Holothuria theeli* (Holothuroidea: Aspidochirotidae) with observations on density and distribution patterns at the Central Coast of Ecuador. **Bulletin of Marine Science**, v. 73, n. 3, p. 527–543, 2003.

SOUSA, S. T. Características texturais e geoambientais das áreas de ocorrência do pepino do mar, *Holothuria grisea* (Equinodermata: holothuroidea), Bitupitá-Ceará. **Revista GeoUECE** - Programa de Pós-Graduação em Geografia da UECE Fortaleza/CE, v. 3, n. 5, p. 235-237, jul./dez. 2014.

SUCHANEK, T. H. Control of seagrass communities and sediment distribution by *Callianassa* (Crustacea, Thalassinidea) bioturbation. **Journal of Marine Research**, v. 41, p. 281-298, 1983.

SUN, J. *et al.* Feeding behavior and digestive physiology in sea cucumber *Apostichopus japonicus*. **Physiology & Behavior**, [s.l.], v. 139, p. 336-343, fev. 2015.

TAPON-BRETAUDIÈRE, J. *et al.* A Fucosylated Chondroitin Sulfate from Echinoderm Modulates in Vitro Fibroblast Growth Factor 2–Dependent Angiogenesis. **Molecular Cancer Research**, v. 1, p. 96–102, 2002.

TARDY, E.; PAKOA, K. The status of sea cucumbers in Yap State, Federated States of Micronesia. [Noumea, New Caledonia]: **Secretariat of the Pacific Community (SPC)**. 68 p, 2009.

TOMMASI, L. R. Lista dos holothuroidea recentes do Brasil. **Contribuições Avulsas do Instituto OceanoFigura**. Universidade de São Paulo, série Oceanografia Biológica, São Paulo, n.15, p. 1-29,1969.

TOMMASI, L. R. Echinodermata Recentes e Fósseis do Brasil. *In*: **BDT–Informação Científica–Fauna-Invertebrados**. Campinas: Banco de Dados Tropical. 1999.

TORA-GRANDA, V.; LOVATELLI, A.; VASCONCELLOS, M. (Eds). 2008. **Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade**. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 516, Rome, FAO, 317 p.

UTHICKE, S. Sediment bioturbation and impact of feeding activity of *Holothuria (Halodeima) atra* and *Stichopus chloronotus*, two sediment feeding holothurians, at Lizard Island, Great Barrier Reef. **Bulletin of Marine Science**, v. 64, p. 129–141, 1999.

UTHICKE, S; KAREZ, R. Sediment patch selectivity in tropical sea cucumbers (Holothurioidea: Aspidochirotida) analysed with multiple choice experiments. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [s.l.], v. 236, n. 1, p. 69-87, mar. 1999.

WEN, J., HU, C., FAN, S. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. **J Sci Food Agric.**, v. 90, p. 2469–2474, 2010.

VOOGT, P. A. *et al.* Effect of photoperiod on steroid metabolism in the sea star *Asterias rubens* L. **Comparative Biochemistry And Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, [s.l.], v. 100, n. 1, p. 37-43, jan. 1991.

XIA, S. *et al.* Feeding preferences of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) on various seaweed diets. **Aquaculture**, [s.l.], v. 344-349, p. 205-209, maio 2012.

XU, Q.; HAMEL, J.-F.; MERCIER, A. Feeding, digestion, nutritional physiology, and bioenergetic. *In*: YANG, H.; HAMEL, J.-F., MERCIER, A. (Eds.), **The Sea Cucumber *Apostichopus japonicus*. History, Biology and Aquaculture**, Academic Press, p. 153–176, 2015.

YANG, H; HAMEL, J.F; MERCIER, A. (Ed.) **The Sea Cucumber *Apostichopus japonicus*: History, Biology and Aquaculture**. Elsevier, 2015. p. 454.

YINGST, J. Y. The utilization of organic matter in shallow marine sediments by an epibenthic deposit-feeding holothurian. **J. exp. mar. Biol. Ecol.** v. 23, p. 55-69, 1976.

YOSHIDA, S. *et al.* Hemolytic C-Type Lectin CEL-III from Sea Cucumber Expressed in Transgenic Mosquitoes Impairs Malaria Parasite Development. **PLoS Pathogens**, v. 3. p. 1962-1970, 2007.

YOU, K. *et al.* Experimental feeding ecology studies of the edible sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*) off the coast of Qingdao, China. **Acta Ecologica Sinica**, v. 24, n. 5, p. 1006-1014, 2004.

ZAMORA, L. N., JEFFS, A. G. Feeding, selection, digestion and absorption of the organic matter from mussel waste by juveniles of the deposit-feeding sea cucumber, *Australostichopus mollis*. **Aquaculture**, v. 31, p. 223–228, 2011.

ZANCAN, P; MOURÃO, P. A. S. Venous and arterial thrombosis in rat models: dissociation of the antithrombotic effects of glycosaminoglycans. **Blood Coagul. Fibrinolysis**, v. 15, p. 45–54. 2004.

ZHAO, P., YANG, H. Selectivity of particle size by sea cucumber *Apostichopus japonicus* in different culture systems. **Mar. Sci.**, v. 34, p. 11–16, 2010.

ZHAO, P. **Basic study on feeding selectivity of sea cucumber *Apostichopus japonicus***. 2010. Master Degree Thesis. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 2010.