



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR – LABOMAR
CURSO DE GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA**

ANA BEATRIZ DA COSTA UCHOA

**CARACTERIZAÇÃO DO CICLO REPRODUTIVO DO GASTRÓPODE *Nassarius
vibex* (SAY, 1822) (MOLLUSCA: GASTROPODA: NASSARIIDAE) EM UM
ESTUÁRIO CONTAMINADO PELO TBT NO ESTADO DO CEARÁ**

Orientador(a): Prof^a Dra Cristina de Almeida Rocha-Barreira

**FORTALEZA-CEARÁ
2017**

ANA BEATRIZ DA COSTA UCHOA

**CARACTERIZAÇÃO DO CICLO REPRODUTIVO DO GASTRÓPODE *Nassarius
vibex* (SAY, 1822) (MOLLUSCA: GASTROPODA: NASSARIIDAE) EM UM
ESTUÁRIO CONTAMINADO PELO TBT NO ESTADO DO CEARÁ**

**Monografia apresentada à Coordenação
do curso de graduação em Oceanografia
da Universidade Federal do Ceará, como
parte das exigências para a obtenção do
título de Bacharel em Oceanografia.**

**Orientador: Prof^ª Dr^ª Cristina de Almeida
Rocha-Barreira**

**FORTALEZA-CEARÁ
2017**

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)

- U19c Uchoa, Ana Beatriz da Costa.
CARACTERIZAÇÃO DO CICLO REPRODUTIVO DO GASTRÓPODE *Nassarius vibex* (SAY, 1822)
(MOLLUSCA: GASTROPODA: NASSARIIDAE) EM UM ESTUÁRIO CONTAMINADO PELO TBT
NO ESTADO DO CEARÁ / Ana Beatriz da Costa Uchoa. – 2018.
52 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do
Mar, Curso de Oceanografia, Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. Cristina de Almeida Rocha-Barreira.
1. gametogênese. 2. imposex. 3. pluviosidade. I. Tímlo.

CDD 551.46

ANA BEATRIZ DA COSTA UCHOA

**CARACTERIZAÇÃO DO CICLO REPRODUTIVO DO GASTRÓPODE *Nassarius vibex*
(SAY, 1822) (MOLLUSCA: GASTROPODA: NASSARIIDAE) EM UM ESTUÁRIO
CONTAMINADO PELO TBT NO ESTADO DO CEARÁ**

Esta monografia foi apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Oceanografia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará. A transcrição de qualquer trecho deste trabalho é permitida, desde que seja feita de acordo com as normas de ética científica.

Monografia aprovada em: 08/01/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Cristina de Almeida Rocha-Barreira (Orientadora)
(Instituto de Ciências do Mar - UFC)

Prof^a Dr^a Helena Mathews-Cascon
(Dept^o de Biologia/UFC)

Prof^a Dr^a Rafaela Camargo Maia
(Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelos conselhos e por não ter me deixado desistir, além de ter sido um pai sempre tão acolhedor, gentil e amoroso.

Agradeço à Oceanografia pelas viagens, amizades e experiências incríveis que somente esse curso poderia me proporcionar. E por realizar meu sonho de conhecer Noronha.

Agradeço à minha família pelo suporte durante a vida e por serem mulheres fortes.

Agradeço à professora Cristina pela infinita paciência e por ter me ensinado tudo quantas vezes fossem necessárias. A senhora é um exemplo de mulher e profissional, terei sorte se um dia for, pelo menos, um pouco parecida com você.

Agradeço aos meus amigos Willian, Amanda e Lucas pelos anos de amizade, pelos encontros incríveis e por tentarem me entender tão bem. Aos amigos feitos durante a graduação, Adline, Larissa, Isaac, Eduardo, Ruan, Rafael e Jordan, esse anos não teriam sido suportáveis sem vocês, mil vezes obrigada pelo apoio, pelos conselhos e pelos ouvidos sempre dispostos a ouvir meus desabafos.

Agradeço à Flávia Lima-Verde por ceder seus dados e material de coleta. Sem eles, esse trabalho não seria possível.

Agradeço ao laboratório de Zoobentos, pela infraestrutura e suporte que tornaram possíveis a realização desse trabalho e de tantos outros ao longo do curso, além de tirarem minhas dúvidas. Wilson, obrigada por me ajudar com as fotos!

Agradeço ao CEDECAM por ceder o microscópio para que eu pudesse fazer as fotos do trabalho. Gratidão.

RESUMO

Nassarius vibex é uma espécie de molusco caenogastropode que pode ser encontrado na costa atlântica americana. Seu ciclo reprodutivo é relativamente pouco estudado, sendo os estudos mais focados na ocorrência do imposex, fazendo com que a espécie possa ser usada como bioindicador de poluição por tributestanho (TBT). Com o objetivo de estudar o ciclo reprodutivo de *Nassarius vibex* no estuário do Rio Ceará, região afetada pela poluição, e fazer uma relação com as variáveis ambientais locais, foram realizadas coletas durante dezessete meses entre os anos de 2007 e 2008, com quarenta animais coletados em cada mês, além de medições das variáveis ambientais como temperatura, salinidade e pluviosidade. Estudos histológicos foram realizados para a determinação dos estágios de desenvolvimento gonadal dos machos e fêmeas coletados, sendo definidos 5 estágios: Imaturos, Maturação Inicial, Maturação Avançada, Eliminação e Regeneração, além de indivíduos considerados Indiferenciados, cujo sexo não foi identificado. Observou-se que animais Imaturos são encontrados em maior quantidade nos períodos com maior precipitação e que os estágios de Maturação Inicial e Avançada são mais encontrados nos períodos secos. A reprodução se mostrou contínua e os estágios reprodutivos de ambos os sexos aparentam sincronia, além de cada estágio estar relacionado a uma coloração diferente de gônada. A ausência de alterações histológicas na gônada das fêmeas indica que o imposex não afeta o ciclo reprodutivo da população, entretanto, a predominância de imposex em fêmeas imaturas e em regeneração sugerem ainda que algum efeito no ciclo gametogênico deve ocorrer, retardando o amadurecimento gonadal na população estudada.

Palavras-chave: gametogênese, imposex, pluviosidade.

ABSTRACT

Nassarius vibex is a species of caenogastropod mollusc that can be found on the American atlantic coast. Their reproductive cycle is relatively little studied, being the studies more focused on the occurrence of the imposex, making the species can be used as a tributyltin (TBT) pollution bio indicator. In order to study the reproductive cycle of *Nassarius vibex* on the estuary of the Ceará River, environment affected by pollution, samples were collected during seventeen months between the years of 2007 and 2008. Forty animals were collected in each month, and environmental variables such as temperature, salinity and rainfall were measured. Histological studies were performed to determine the reproductive stage of males and females collected. Five reproductive stages were found in both sexes: Immature, Early Maturation, Advanced Maturation, Elimination and Regeneration, besides individuals considered Undifferentiated, that is, animals that could not have their gender identified. It was observed that Immature animals are found in greater quantity in the periods with higher precipitation and that the stages of Early and Advanced Maturation are more found in the dry periods. Reproduction has been continuous and the reproductive stages of both sexes showed synchrony, in addition to each stage being related to a different gonad color. Histological changes absence in the females' gonad indicates that the imposex does not affect the reproductive cycle of this population. However, the predominance of imposex in immature and in regeneration females also suggests that some effect on the gametogenic cycle should occur, delaying gonadal maturation in the population studied.

Key-words: gametogenesis, imposex, rainfall.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vista ventral da concha de <i>Nassarius vibex</i>	15
Figura 2: (A) Porção costeira do rio Ceará, destacando a região estuarina, onde foram realizadas as coletas dos exemplares de <i>Nassarius vibex</i> . (B) Banco areno-lamoso onde as coletas foram realizadas.....	19
Figura 3: Isca utilizada para captura dos exemplares de <i>Nassarius vibex</i> no estuário do rio Ceará durante o período de estudo.....	19
Figura 4: Temperatura média do ar, da água e do sedimento do estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 a agosto de 2008.....	23
Figura 5: Relação entre a precipitação pluviométrica e as salinidades da água e sedimento no estuário do Rio Ceará, no período de abril de 2007 a agosto de 2008.....	24
Figura 6: Correlação de Spearman entre a precipitação acumulada mensal e (a) salinidade da água e (b) salinidade do sedimento no estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 e agosto de 2008 (* $p < 0,05$).....	25
Figura 7: Comprimento médio das conchas de indiferenciados, machos e fêmeas de <i>Nassarius vibex</i> observados no estuário do Rio Ceará de abril de 2007 a agosto de 2008.....	27
Figura 8: Frequências das classes de comprimento das conchas de indiferenciados, machos e fêmeas de <i>Nassarius vibex</i> observados no estuário do Rio Ceará de abril de 2007 a agosto de 2008.....	27
Figura 9: Fotomicrografia das células germinativas femininas de <i>Nassarius vibex</i> . A: ovogônia (OVG). B: ovócito pré-vitelogênico (OVP). C: ovócito vitelogênico (OVV). D: ovócito maduro (OVM).....	28
Figura 10: Fotomicrografia das células germinativas masculinas de <i>Nassarius vibex</i> . A: espermatogônia (EPG). B: espermátide (EPT). C: espermatócito (EPA). D: espermatozóides (EPZ).....	29
Figura 11: Fotomicrografia da massa visceral de indivíduos Imaturos de <i>Nassarius vibex</i>	30
Figura 12: Estágios de desenvolvimento gonadal de machos de <i>Nassarius vibex</i> . A: maturação inicial. B: maturação avançada. C: eliminação. D: regeneração.....	32
Figura 13: Estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas de <i>Nassarius vibex</i> . A: maturação inicial. B: maturação avançada. C: eliminação. D: regeneração.....	33

Figura 14: Estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas de <i>Nassarius vibex</i> observados de abril de 2007 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará.....	36
Figura 15: Estágios de desenvolvimento gonadal de machos de <i>Nassarius vibex</i> observados de abril de 2007 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará.....	36
Figura 16: Estágios de desenvolvimento gonadal de <i>Nassarius vibex</i> observados nos meses de abril de 2007 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará.....	37
Figura 17: Estágios de desenvolvimento gonadal de <i>Nassarius vibex</i> e a precipitação acumulada mensal observados nos meses de abril de 2008 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará..	39
Figura 18: Correlação de Spearman entre os estágios Imaturo e Regeneração e a ocorrência do imposex em fêmeas de <i>Nassarius vibex</i> observadas na região do estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 e agosto de 2008 (* $p < 0,05$).....	39

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Correlação de Spearman entre as variáveis ambientais medidas em campo (salinidade da água e do sedimento e temperatura do ar, da água e do sedimento) e a precipitação acumulada mensal observada na região do estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 e agosto de 2008 (* $p < 0,05$).....25
- Tabela 2: Dados de proporção sexual entre machos e fêmeas para os meses de abril de 2007 a agosto de 2008 no estuário do rio Ceará.....26
- Tabela 3: Frequência de ocorrência dos estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas *Nassarius vibex* observados entre abril de 2007 e agosto de 2008 no estuário do rio Ceará (I = Imaturo; MI = Maturação Inicial; MA = Maturação Avançada; E = Eliminação; R = Regeneração; N = Número total de indivíduos; % = Porcentagem do total de indivíduos).....34
- Tabela 4: Frequência de ocorrência dos estágios de desenvolvimento gonadal de machos *Nassarius vibex* observados entre abril de 2007 e agosto de 2008 no estuário do rio Ceará (I = Imaturo; MI = Maturação Inicial; MA = Maturação Avançada; E = Eliminação; R = Regeneração; N = Número total de indivíduos; % = Porcentagem do total de indivíduos).....35
- Tabela 5: Correlação de Spearman entre os estágios de desenvolvimento gonadal de *Nassarius vibex* e as variáveis ambientais medidas em campo (salinidade da água e do sedimento e temperatura do ar, da água e do sedimento) e a precipitação acumulada mensal observada na região do estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 e agosto de 2008 (* $p < 0,05$).....38

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	2
RESUMO	3
ABSTRACT	4
LISTA DE FIGURAS	5
LISTA DE TABELAS	7
SUMÁRIO	8
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Reprodução e ciclo reprodutivo.....	11
2.2 TBT e imposex.....	12
2.3 Gênero <i>Nassarius</i>	14
2.4 <i>Nassarius vibex</i>	15
3. OBJETIVOS	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 Área de estudo.....	19
4.2 Procedimentos em campo.....	20
4.3 Procedimentos de laboratório.....	21
4.4 Análise do Ciclo reprodutivo.....	22
4.5 Análise do Imposex.....	22
4.6 Análises estatísticas.....	22

5. RESULTADOS	23
5.1 Variáveis ambientais na área de estudo.....	23
5.2 Proporção sexual.....	25
5.3 Linhagens de células germinativas.....	28
5.4 Estágios de desenvolvimento gonadal.....	29
5.5 Ciclo reprodutivo.....	33
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÃO	46
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1.INTRODUÇÃO

Estuários são ambientes de transição entre o continente e o oceano e possuem águas biologicamente mais produtivas do que as dos rios, já que apresentam altas concentrações de nutrientes que estimulam a produção primária (MIRANDA *et al*, 2012). A área de estuário é um ambiente de muita fragilidade e vulnerabilidade devido à pressão antrópica, causando diversos desequilíbrios na sua dinâmica natural (ARAÚJO & FREIRE, 2007).

Moluscos incluem alguns dos mais conhecidos invertebrados. O filo contém, aproximadamente, 80.000 espécies descritas, além de outras que ainda esperam nomes e descrições (BRUSCA, 2016).

A espécie *Nassarius vibex* é um molusco caenogastrópode que pode ser usado como bioindicador de poluição por tributilestanho (TBT), substância causadora de imposex. Costuma ser achado em substratos lamosos e arenosos, águas salobras com salinidade variando de 15 a 25 e se alimenta de animais mortos. Está disperso de Cape Cod à Flórida, nos Estados Unidos, Índias ocidentais, Venezuela e Brasil (Pará a Santa Catarina) (RIOS, 1994).

Reprodução é o fenômeno que dá continuidade à espécie, originando novos indivíduos e promovendo a estabilidade de um grupo de organismos em determinado ambiente. Quando essa atividade é impedida ou retardada, a espécie corre risco de extinção, uma vez que não poderá originar novos organismos. Vários aspectos podem afetar a reprodução dos organismos, entre eles, está a poluição química do ambiente.

Alguns estudos já foram realizados com a intenção de relacionar alterações na morfologia e reprodução de *Nassarius vibex* com a poluição por TBT, como DEMAINTENON (2001b), CARDOSO (2009), CARDOSO (2010), LIMA-VERDE *et al.* (2010) e CABRINI (2012), entretanto, tais estudos abordaram apenas as alterações morfológicas causadas pelo contaminante, fazendo-se necessário ainda um estudo sobre os efeitos no ciclo reprodutivo das populações de *Nassarius vibex* afetadas. Dos trabalhos realizados nesse contexto, podem-se destacar o de LIMA-VERDE (2007; 2009), onde a autora buscou analisar as características reprodutivas da espécie e relacioná-las com contaminação e parasitismo nos estuários dos rios Ceará e Pacoti, localizados na região metropolitana de Fortaleza – Ceará. O presente estudo foi realizado utilizando-se dados e amostras dos organismos coletados pela autora LIMA-VERDE (2009).

A motivação deste trabalho foi a caracterização do ciclo reprodutivo de uma espécie de gastrópode bentônico que pode ser utilizada como bioindicadora de poluição e observar, através do uso da histologia, se ocorrem alterações na sua gametogênese provocadas pelo desenvolvimento do imposex, uma vez que seus efeitos a nível histológico ainda são desconhecidos.

Estando fortemente presente no estuário do Rio Ceará, a espécie *Nassarius vibex* sofre com as perturbações antrópicas da região e pode ter sua reprodução afetada, o que, a longo prazo, teria um impacto negativo na produção de descendentes e na biota local. Assim, observar variáveis ambientais juntamente com esses fatores, pode dar indicativos de como o habitat influencia na reprodução da espécie.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Reprodução e ciclo reprodutivo

A reprodução, o desenvolvimento embrionário e o ciclo de desenvolvimento gonadal são aspectos importantes para o entendimento da biologia de qualquer organismo, uma vez que sem indicações seguras sobre o ritmo e o ciclo reprodutivo, outros aspectos biológicos seriam difíceis de ser compreendidos (NARCHI, 1976).

A gônada dos animais marinhos sofre periodicamente uma renovação parcial dos seus principais elementos tissulares, passando por transformações celulares, visando produzir gametas viáveis à fertilização. Esta dinâmica celular pode ser, em geral, sincrônica em um mesmo indivíduo ou entre indivíduos de uma mesma população (ROCHA-BARREIRA, 2002).

O ciclo de vida é um processo fisiológico cíclico que pode ser dividido em três fases: desenvolvimento gonadal, liberação de gametas e fertilização, e desenvolvimento e crescimento. Geralmente, os ciclos reprodutivos consistem de um estágio vegetativo ou de descanso com pouca atividade gonadal, e um estágio reprodutivo iniciado pela gametogênese e seguido pela liberação dos gametas. Os padrões de periodicidade reprodutiva podem ser anuais, semi-anuais ou contínuos durante todo o ano (VERNBERG, 1992). No início da gametogênese, todas as partes da gônada estão em estágio similar de desenvolvimento. Com a continuidade da gametogênese, nem todas as células gonadais estão em sincronia. Geralmente, com o

prosseguimento da maturação da gônada, ovócitos e espermatozóides maduros tornam-se o estágio dominante (WEBBER, 1977).

Na maioria dos caenogastrópodes, a atividade gametogênica durante o ciclo reprodutivo é sincrônica em uma população e pode ser dividida em estágios de maturação distintos, sendo geralmente, três estágios: um estágio de descanso, um período de ativa gametogênese, e um período no qual a gônada contém gametas fertilizáveis ou aparentemente maduros (WEBBER, 1977).

Considera-se que fatores ambientais têm um papel “chave” para sincronizar o ciclo gametogênico dos organismos. Temperatura da água, fotoperíodo, disponibilidade de alimentos e ritmos lunares têm sido freqüentemente sugeridos como fatores exógenos que afetam a reprodução destas espécies (LESSIOS, 1984; PEARSE & CAMERON, 1991; FREIRE *et al.* 1992; CHEN & CHEN, 1993 e BENTLEY, 1998). A presença de ritmos reprodutivos independentes das condições locais pode indicar a manifestação de um controle endógeno. Fisiologicamente, de acordo com GROTTA & LUNETTA (1980), admite-se que a reprodução seja comandada por fatores intrínsecos, como a interação hormonal entre os centros controladores da reprodução, o ciclo gametogênico e as reservas nutricionais, sendo esta interação sincronizada pelos fatores ambientais.

2.2 TBT e imposex

As tintas anti-incrustantes à base de TBT (Tributilestanho) eram, até pouco tempo, as mais usadas no mundo (FENT, 1996; CHOI, 2008). Até a década de 90, estimava-se que 70% dos navios comerciais eram protegidos por tintas à base de TBT, pois estas apresentavam maior eficiência e maior durabilidade em cascos de navios (EVANS, 2000; ALMEIDA, 2004). Até 2003, a produção mundial de TBT chegava a 35.000 toneladas por ano (GODOI, 2003).

A Convenção Internacional sobre Controle de Sistemas Anti-incrustantes da Organização Marítima Internacional (IMO) proibiu a utilização de compostos organoestânicos nocivos em navios e estabeleceu diversas metas para o banimento mundial do uso do TBT em 2001, tendo em vista os efeitos toxicológicos causados (SONAK, 2009). Entretanto, somente em 2008, a proibição do uso de compostos organoestânicos em tintas anti-incrustantes entrou em vigor internacionalmente (IMO, 2008; SONAK, 2009) No Brasil, em 2007, uma Normativa de Autoridade Marítima (NORMAN) banuiu a utilização de sistema anti-incrustantes à base de compostos orgânicos de estanho, bem como determinou medidas de aplicação e fiscalização em portos brasileiros (NORMAN-23/DPC).

O Imposex é provavelmente o mais estudado efeito biológico da poluição por compostos organoestânicos (CASTRO et al., 2012a). Inúmeras investigações evidenciaram a relação entre o desenvolvimento de imposex em moluscos caenogastrópodes e a concentração de TBT em seus tecidos ou no ambiente marinho (sedimentos e corpos d'água) (CASTRO et al., 2012b). Este compostos causam uma disrupção endócrina que promove a masculinização de fêmeas de moluscos caenogastrópodes, que desenvolvem pênis e vaso deferente não funcionais, podendo levar à esterilização (BETTIN *et al*, 1996; MARSHALL & RAJKUMAR, 2003), o fenômeno também pode ser conhecido como pseudohermafroditismo (DEMAINTENON, 2001b).

Várias espécies de organoestânicos podem acumular nos tecidos de invertebrados marinhos, sendo o TBT o que mostra maior acumulação. Esses componentes hoje são conhecidos por produzir uma variedade de condições patológicas em organismos marinhos em concentrações relativamente baixas mas, em termos de sensibilidade, o imposex mostrou-se a alteração mais significativa, sendo uma resposta dos moluscos gastrópodes à poluição. A aparição anormal de pênis em fêmeas tem sido registrada em cerca de 200 espécies pelo mundo (CASTRO et al., 2012a). Em todos os casos que foram extensamente investigados, o imposex foi relacionado com a atividade marítima e consequente exposição à poluição por TBT advinda de tintas antiincrustantes (MARSHALL & RAJKUMAR, 2003).

O efeito geral do imposex varia em diferentes gastrópodes. Em espécies como os nassarídeos *Ilyanassa obsoleta* (Say, 1822) e *Hinia reticulata* (Linnaeus, 1758), o aparecimento de pênis e espermoduto aparentam causar pouca interferência na atividade reprodutiva das fêmeas afetadas. Mas em outros, especialmente muricídeos *Nucella lapillus* (Linnaeus, 1758) e *Ocenebra erinacea* (Linnaeus, 1758), a estrutura do oviduto pode ser tão modificada que a procriação é inibida, resultando em declínio populacional e eventual extinção (MARSHALL & RAJKUMAR, 2003). A ocorrência de bifalia (pênis duplo) é uma anormalidade adicional no sistema reprodutivo das fêmeas (CARDOSO *et al*, 2009).

O grau de formação do espermoduto e também o tamanho do pênis na fêmea dependem da concentração de TBT no ambiente. Em concentrações maiores que 2 ng Sn/L, a formação do espermoduto avança ainda mais, crescendo demais a papila genital (portanto bloqueando a vulva) e invadindo o oviduto para formar tecido da próstata que substitui a bursa copulatória e desloca a glândula da cápsula. Fêmeas nessas condições são efetivamente esterilizadas, uma vez que as cápsulas ovíferas não podem ser expelidas. A produção dessas cápsulas, no entanto, não é impedida por essa deformação e acumulam no oviduto para formar uma massa que

frequentemente distende a parede do oviduto, às vezes chegando a rompê-la (MARSHALL & RAJKUMAR, 2003).

2.3 Gênero *Nassarius*

A família Nassariidae está amplamente distribuída em todo mundo, sendo de grande destaque pela sua dominância na macrofauna bêntica e por desempenhar um papel importante como incorporadores da matéria orgânica na cadeia trófica (CABRINI, 2012). A ciclagem magrofágica é o principal hábito alimentar e os nassarídeos possuem alguns dos mais conhecidos macrófagos, se alimentando de carniça, fragmentos de poliquetas e crustáceos, sedimentos, detritos, esqueletos de invertebrados e vertebrados e algas que estão grudadas às conchas dos animais consumidos ((BRITTON & MORTON, 1994). São moluscos que se encontram usualmente em grandes densidades, são carnívoros e/ou detritívoros, habitam em substratos normalmente do tipo não consolidados e as suas conchas são, em geral, de pequenas dimensões (AFONSO, 2003). Possuem sifão e tentáculos longos (RIOS, 2009). Algumas espécies são infralitorâneas, mas a maioria habita a zona entremarés, emergindo do substrato ou se tornando ativos quando a comida está em seu limte de detecção. São extremamente sensíveis a estímulos físicos e químicos (BRITTON & MORTON, 1994; RIOS, 2009).

Em regiões tropicais, dada a pequena variação nas temperaturas da água, as espécies de Nassarídeos apresentam alta atividade e crescimento para atingir a maturidade sexual. Entretanto, o ciclo de vida torna-se mais curto e a longevidade é menor. As taxas de crescimento tendem a diminuir com o aumento da latitude, uma vez que a sazonalidade da temperatura da água força indivíduos a dedicarem um período do ano ao crescimento somático e o outro ao desenvolvimento gonadal. Espécies de regiões subtropicais e tropicais podem, por consequência, alcançar altas longevidades e formar populações com grandes sobreposições de gerações (YOKOYAMA, 2010). As fêmeas costumam depositar suas cápsulas ovígeras em algas, cada cápsula com cinquenta ovos (RIOS, 1994).

O gênero *Nassarius* pode ser encontrado na África (MARSHALL, 2003), China (CHEUNG & LAM, 1995), Brasil (LIMA-VERDE, 2009), Estados Unidos (DEMAINTENON, 2001a), França, Alemanha (WIRZINGER et al, 2007), Portugal (GÉNIO et al, 2008), Austrália (BRITTON & MORTON, 1994) e também na Suécia (TALLMARK, 1980). No Brasil, existem 6 espécies: *Nassarius albus* (Say, 1826), *Nassarius capillaries* (Watson, 1882), *Nassarius*

karinae (Usticke, 1971), *Nassarius pernitidus* (Dall, 1889), *Nassarius scissuratus* (Dall, 1889) e *Nassarius vibex* (Say, 1822) (RIOS, 2009).

2.4 *Nassarius vibex*

Nassarius vibex (Figura 1) é um caenogastropode que habita a zona intertidal de fundos duros (CARDOSO & CAETANO, 2010) e lamosos, em águas salobras com salinidade variando de 15 a 25, e com ampla distribuição geográfica, de Cape Cod à Flórida, nos Estados Unidos; Índias ocidentais; Venezuela e Brasil (Pará a Santa Catarina) (RIOS, 2009). Quando adulto atinge cerca de 15 mm de comprimento de concha. Esta espécie apresenta-se geralmente em populações abundantes e desempenha um importante papel na teia trófica, já que este gastrópode é detritívoro e atua como um elo de ligação entre a matéria orgânica não-viva e os consumidores dos níveis tróficos superiores (CABRINI, 2012).

Figura 1: Vista ventral da concha de *Nassarius vibex*.



Fonte: The World Register of Marine Species (WORMS)
(<http://www.marinespecies.org>) Acesso em: 30/11/2017)

Existem poucos estudos sobre esta espécie e as informações disponíveis referem-se ao comportamento alimentar (GIRÃO, 2006; LUCENA *et al.*, 2012), resposta de escape (GORE, 1966), ontogênese do sistema reprodutivo (DEMAINTENON, 2001a; 2001b), biologia

reprodutiva e populacional (LIMA-VERDE, 2009; YOKOYAMA, 2010; CABRINI & CARDOSO, 2012) e desenvolvimento larval (YOKOYAMA & AMARAL, 2011; MATTHEWS-CASCON *et al.*, 2011).

Nassarius vibex tem sido também considerado um bom bioindicador de poluição ambiental ou estresse, já que o desenvolvimento do imposex na espécie reflete o grau de poluição (CARDOSO & CAETANO, 2010). O imposex em *Nassarius vibex* foi primeiramente registrado por Demaintenon (2001a,b) nos Estados Unidos. No Brasil, o imposex nessa espécie foi registrado por Lima-Verde *et al.* (2010) para o estuário do Rio Ceará, em Fortaleza, CE e por Cardoso *et al.* (2009) no Rio de Janeiro, RJ. Em *N. vibex*, foram registrados ainda casos de bifalia (ocorrência de dois pênis em um mesmo animal) em fêmeas da praia de Flexeira, no Rio de Janeiro (CARDOSO *et al.*, 2009).

A anatomia do sistema reprodutor de *Nassarius vibex* foi descrita por Demaintenon (2001a) por Lima-Verde (2009). Nos machos, os testículos localizam-se nas porções apical e dorsal das primeiras três espirais; a porção posterior do espermoduto passa dentro do tecido conjuntivo, abaixo do meio da parede columelar, sendo, geralmente, composto por uma porção gonadal e uma porção renal, com o limite entre essas regiões não aparente; o final do espermoduto posterior é reto por uma pequena distância após sair dos testículos e então se torna enrolado, formando uma vesícula seminal. O epitélio dos testículos e espermoduto gonadal consiste em uma camada de células cuboidais em uma membrana basal, com partículas de material amarelado nas células e no lúmen. Nas fêmeas, os ovários ocupam as espirais apicais, na mesma posição que os testículos nos machos; o oviduto posterior corresponde a porção entre o ovário e o ducto gonopericardial, sendo largo, com paredes finas e irregularmente dobradas. O epitélio consiste em uma única camada de células irregularmente organizadas, ocupando o tecido conectivo entre a parede columelar e a glândula digestiva e se prolonga a um ponto próximo ao rim. A massa glandular é uma unidade anatômica única em adultos, com as glândulas do albúmen e a da cápsula amplamente unidas. A glândula do albúmen se curva da parede columelar, ao lado da porção posterior da cavidade do manto; o epitélio da sua parede esquerda é composto por células secretoras ciliares, enquanto a parede direita possui um epitélio mais baixo e mais denso. A glândula digestiva é dorsalmente embutida à massa glandular, possui um ducto enrolado, ciliado e muscular que provavelmente age como um receptáculo seminal e é usada para digerir esperma.

A maior parte dos caenogastrópodes deposita seus ovos em alguma forma de cápsula ovígera bentônica. As cápsulas ovígeras de *Nassarius vibex* são lisas, possuem abas laterais

com suturas, sem ornamentações e com abertura terminal e possuem três estágios de desenvolvimento: ovos fertilizados, com formato arredondado; desenvolvimento inicial de larvas véliger; larva com protoconcha formada, velário e trato digestivo (YOKOYAMA, 2010; MATTHEWS-CASCON *et al.*, 2011).

3. Objetivos

- Caracterizar o ciclo reprodutivo da espécie *Nassarius vibex* no estuário do Rio Ceará através de estudos histológicos.
- Relacionar os estágios da reprodução da espécie estudada com dados de pluviosidade, salinidade e temperatura locais.
- Avaliar os efeitos do imposex no desenvolvimento gonadal de *Nassarius vibex*.

4. Materiais e métodos

4.1 Área de estudo

O rio Ceará possui cerca de 60 km de extensão, nasce na serra de Maranguape e desemboca no Oceano Atlântico (LIMAVERDE, 2009) e forma-se da junção do riacho Bom Princípio com o Jandaíra (MORAES, 2015). O Estuário do rio Ceará está localizado entre os municípios de Fortaleza e Caucaia e, de acordo com a COGERH, 2010, ele drena uma área de 555,9 km² e forma, junto com o Rio Maranguapinho o sistema Ceará/Maranguape. Possui fluvimetria semi-perene e sofre penetração das marés, formando um estuário composto por 640 ha de vegetação de mangue. A APA do Estuário do Rio Ceará é uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável administrada por um órgão público estadual e os maiores problemas encontrados no local são aqueles decorrentes da ação antrópica degradadora, ocasionada pela ocupação desordenada e irregular às margens do Rio Ceará, desflorestamento da mata ciliar, degradação do manguezal, a pesca predatória e o assoreamento do rio (MORAES, 2015).

Foi selecionado um banco areno-lamoso no qual foram coletados espécimes de *Nassarius vibex* e medidas de variáveis ambientais. A localização do banco areno-lamoso foi realizada com um GPS 72 da marca Garmin. A localização georeferenciada do banco areno-lamoso no estuário do Rio Ceará foi 03°42'02.0"S/38°35'35.3"W (Figura 2).

Figura 2: (A) Porção costeira do rio Ceará, destacando a região estuarina, onde foram realizadas as coletas dos exemplares de *Nassarius vibex*. (B) Banco areno-lamoso onde as coletas foram realizadas.



Fonte: Google Earth



Fonte: Lima-Verde (2009)

4.2 Procedimentos em campo

As coletas foram realizadas entre abril de 2007 e agosto de 2008. Mensalmente, foram coletados 40 indivíduos do gastrópode *Nassarius vibex*, durante a maré baixa, com auxílio de iscas que consistiram em pedaços de peixe fixadas ao substrato por meio de palitos de madeira (Figura 3).

As variáveis ambientais analisadas consistiram na salinidade da água do leito dos estuários durante a maré baixa e na temperatura do ar, da água e do sedimento do estuário durante a coleta. As variáveis abióticas de salinidade foram medidas com refratômetro manual portátil modelo RTS-101 ATC – marca Instrutherm, resolução 1% e a temperatura foi medida com termômetro digital com precisão de 0,5°C. Os dados foram obtidos no momento da coleta, mensalmente, em triplicata para posteriores análises estatísticas.

Os índices pluviométricos mensais utilizados obtidos na página virtual da Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME). Os índices mensais de pluviosidade foram obtidos no posto Pici.

Os dados referentes às coletas dos indivíduos, temperatura e salinidade foram obtidos a partir dos dados coletados por Lima-Verde (2009).

Figura 3: Isca utilizada para captura dos exemplares de *Nassarius vibex* no estuário do Rio Ceará durante o período de estudo.



Fonte: LIMA-VERDE (2009)

4.3 Procedimentos de laboratório

Os animais coletados foram mantidos em aquários de 1000ml contendo água trazida dos pontos de coleta, com aeração constante, até o processamento no Laboratório de Zoobentos do Instituto de Ciências do Mar (Labomar) da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram anestesiados com $MgCl_2$ (cloreto de magnésio) salino 7% por duas horas. Foram realizadas medições de altura e largura de concha com paquímetro com precisão de 0,05 mm. As conchas foram removidas com torno mecânico para análise da morfologia das partes moles dos animais. Foi utilizado microscópio estereoscópico para facilitar a visualização das estruturas corporais. Essas análises consistiram em observações do sistema reprodutivo como grau de desenvolvimento ao longo do período estudado e alterações nos órgãos.

Os órgãos femininos analisados macroscopicamente foram: as glândulas da cápsula e de albumen, bursa copulatória, vestíbulo e oviduto. Os órgãos masculinos analisados foram: a vesícula seminal, o vaso deferente e o pênis.

A proporção sexual de *Nassarius vibex* no estuário do Rio Ceará foi calculada mensalmente pela relação $r = \text{número de machos/número de fêmeas}$ e analisada estatisticamente pelo teste do “Qui-quadrado” (χ^2) (onde, H_0 : r é igual a 1; r é diferente de 1), assumindo um nível de significância de 95%.

Após análise do sexo, uma média de 20 animais por mês foi preparada para o processamento histológico, sendo fixados em Bouin salino por 12 horas e conservados em álcool etílico a 70%. O protocolo histológico realizado consistiu em desidratação em concentrações crescentes, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Foram realizadas secções transversais das gônadas dos animais com espessura de 5-7 μm e as peças foram coradas com Hematoxilina – Eosina (adaptado de JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983). Foram realizados estudos histológicos das gônadas de machos e fêmeas para caracterizar as linhagens de células germinativas e para determinação do estágio de maturação no ciclo reprodutivo. Os procedimentos realizados em laboratório foram realizados por Lima-Verde (2009).

A caracterização das células germinativas foi realizada de acordo com as descrições de Lima-Verde (2009) e os estágios de desenvolvimento gonadal adaptados de Araújo et al. (2007).

4.4 Análise do ciclo reprodutivo

Mensalmente, cada animal foi analisado histologicamente observando a proporção de ocorrência das células germinativas para a definição do estágio de amadurecimento gonadal. O número de organismos nos diferentes estágios foi analisado e correlacionado com os valores de precipitação pluviométrica observados no período de estudo.

4.5 Análise do imposex

A determinação do imposex nos exemplares coletados foi realizada por Lima-Verde (2009), considerando a ocorrência de caracteres masculinos como pênis ou papilas, vaso deferente proximal e convolução do oviduto. Nestes estudo, as gônadas foram analisadas a fim de verificar a ocorrência de alterações histológicas e possíveis interferências no desenvolvimento gametogênico.

O comprimento médio da concha de *Nassarius vibex* foi comparado entre fêmeas com e sem imposex utilizando-se o teste de Mann-Whitney. A incidência do imposex foi avaliada considerando os meses de coleta, pelo teste de Kruskal-Wallis.

4.6 Análises estatísticas.

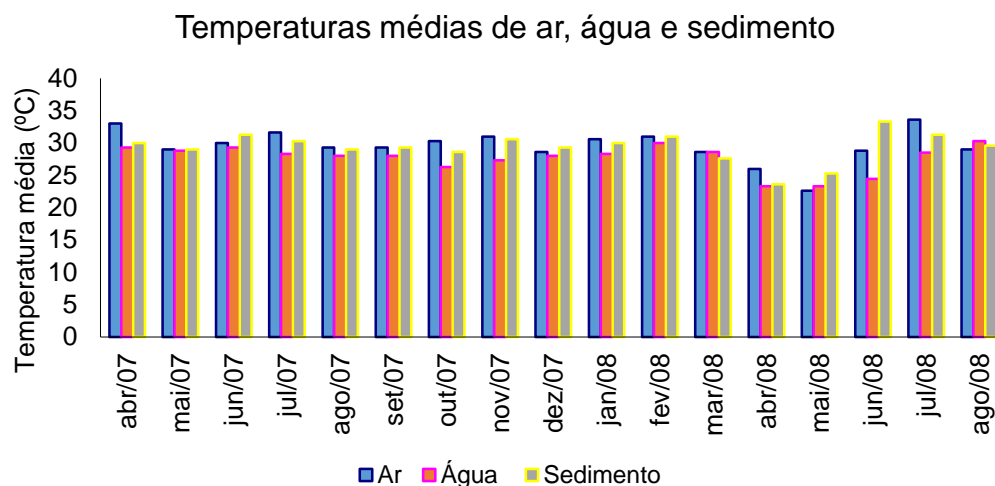
Para análise do ciclo reprodutivo, utilizou-se o teste de correlação não paramétrica de Spearman. Já para a análise do imposex, uma análise de correlação não paramétrica de Spearman foi realizada entre a incidência de imposex e os estágios de desenvolvimento gonadal. Para todos estes testes foi utilizado o programa Statistica® versão 7.0.

5 . RESULTADOS

5.1 Variáveis ambientais nas áreas de estudo

Os registros da temperatura média do ar, da água e do sedimento medidos no momento da coleta estão representados na figura 4. A temperatura do ar mínima registrada para o estuário do Rio Ceará foi 22,6°C em maio de 2008 e a máxima foi 33,6°C em julho de 2008. A maior temperatura da água foi observada em abril de 2007 (31°C) e a menor nos meses de março e abril de 2008 (23,3°C). A temperatura do sedimento variou de 23,6°C em abril de 2008 a 33,3°C em junho de 2008. A média das temperaturas pode ser vista na figura 4.

Figura 4: Temperatura média do ar, da água e do sedimento do estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 a agosto de 2008.



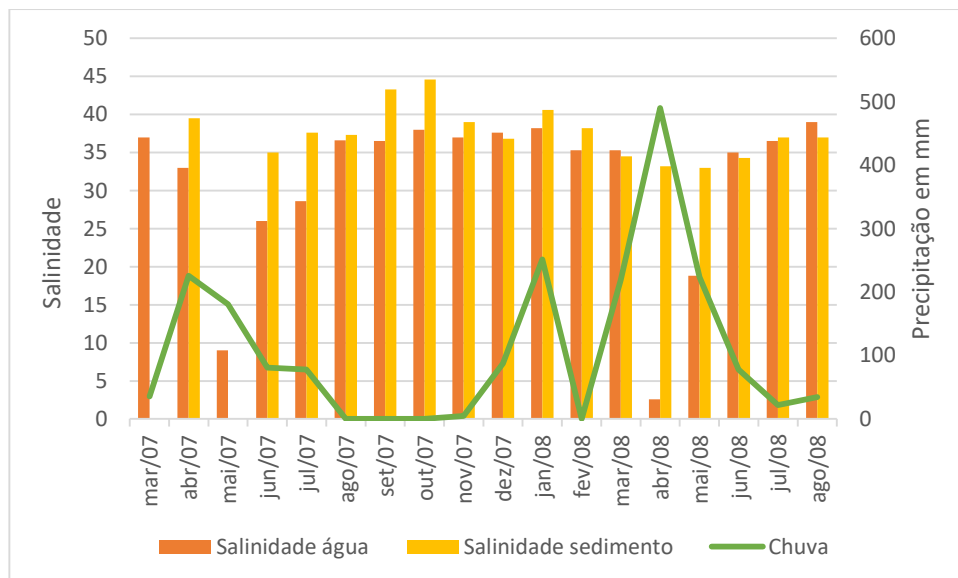
A salinidade média da água do estuário variou significativamente ao longo dos meses de estudo (Teste Kruskal-Wallis: $H(17, N=54) = 52,23331$ $p < 0,05$), apresentando mínima de 2,6, registrada no mês de abril de 2008, e máxima de 39, em agosto de 2008, com um mínimo observado também em maio de 2007, quando a salinidade foi de 9. Já a salinidade média do sedimento variou de 33, em maio de 2008, a 44,6, em outubro de 2007, não variando estatisticamente ao longo do estudo [Teste Kruskal-Wallis: $H(17, N=48) = 0,000$ $p > 0,05$] (Figura 5).

A precipitação pluviométrica acumulada durante os meses de abril de 2007 a agosto de 2008 foi de 1978,2 mm, ressaltando que os dados referentes aos meses de agosto a outubro de 2007 não foram disponibilizados pela FUNCEME. A precipitação mensal máxima ocorreu no

mês de abril de 2008, com 490,4 mm, e a mínima de 5 mm no mês de novembro de 2007. Em fevereiro de 2008, a precipitação registrada foi de 1,8 mm, mas não há registro para todo o mês (Figura 5).

Considerando a distribuição das chuvas ao longo do período de estudo e a salinidade da água observada no momento da coleta, verificou-se que os menores valores de salinidade, medidos em maio de 2007 e em abril e maio de 2008, ocorreram quando os valores de precipitação acumulada apresentaram os maiores valores (Figura 5).

Figura 5: Relação entre a precipitação pluviométrica e as salinidades da água e do sedimento no estuário do Rio Ceará, no período de abril de 2007 a agosto de 2008.

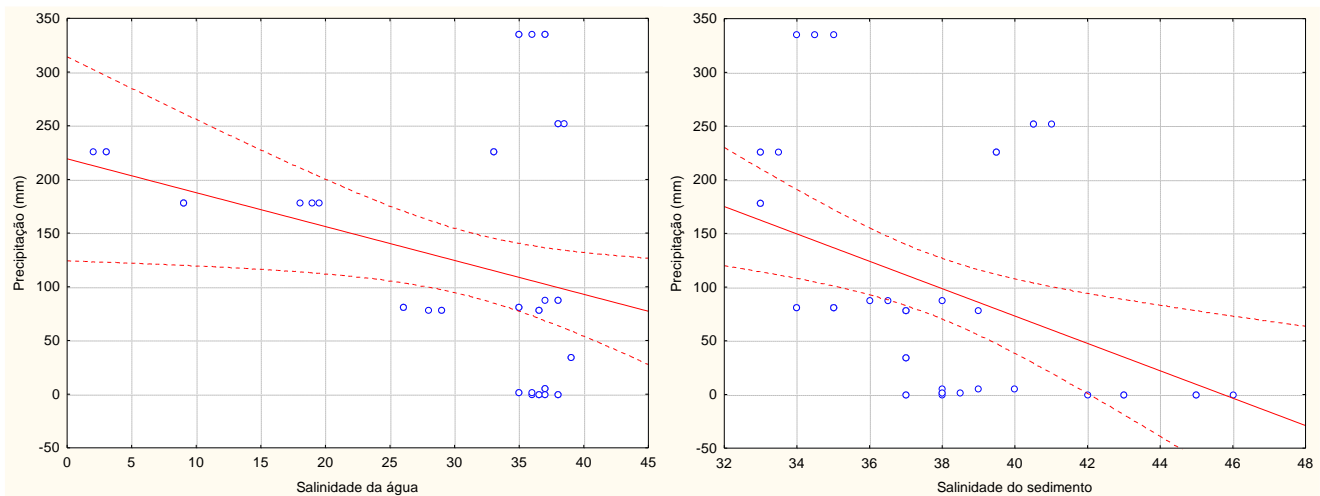


De acordo com a análise de Spearman, a precipitação correlacionou-se negativamente com a salinidade da água ($r = -0,29$, $p < 0,05$) e com a salinidade do sedimento ($r = -0,48$, $p < 0,05$) (Tabela 1, Figura 6). As demais variáveis observadas não apresentaram correlações significativas entre si. Este resultado evidencia que os períodos de menor precipitação existe uma redução na salinidade, principalmente no sedimento.

Tabela 1: Correlação de Spearman entre as variáveis ambientais medidas em campo (salinidade da água e do sedimento e temperatura do ar, da água e do sedimento) e a precipitação acumulada mensal observada na região do estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 e agosto de 2008 (* $p < 0,05$).

Variáveis coletadas	Salinidade		Temperatura			Precipitação
	Água	Sedimento	Ar	Água	Sedimento	
Salinidade da água	-	0,58	0,21	0,12	0,18	-0,29*
Salinidade do sedimento	0,58	-	0,56	0,024	0,18	-0,48*
Temperatura do ar	0,21	0,56	-	0,33	0,58	-0,12
Temperatura da água	0,12	0,02	0,33	-	0,60	0,16
Temperatura do sedimento	0,18	0,18	0,58	0,60	-	-0,14
Precipitação	-0,29	0,48	-0,12	0,16	-0,14	-

Figura 6: Correlação de Spearman entre a precipitação acumulada mensal e (a) salinidade da água e (b) salinidade do sedimento no estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 e agosto de 2008 (* $p < 0,05$).



5.2 Proporção sexual

Foram coletados 665 espécimes de *Nassarius vibex* durante os 17 meses analisados. As fêmeas representaram 54,73% (N = 364) dos animais amostrados, enquanto os machos representaram 39,70% (N = 264), resultando em uma proporção sexual de 0,72: 1. Animais de sexo indeterminado representaram 5,56% (N = 37). O teste qui-quadrado (X^2) mostrou um desvio significativo da proporção 1:1 entre machos e fêmeas na população ($x^2 = 14,32$, $df = 1$,

$p = 0,0002$). As frequências e proporções sexuais observadas no período estão representadas na Tabela 2. Do total de indivíduos coletados, 311 tiveram a determinação sexual realizada pela histologia, sendo confirmados 148 machos (47,59%), 148 fêmeas (47,59%) e 15 indiferenciados (4,82%).

Tabela 2: Dados de proporção sexual entre machos e fêmeas para os meses de abril de 2007 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará.

Mês	Machos	Fêmeas	Indeterminados	Total	Proporção
abr/07	9	20	11	40	0,45:1
mai/07	18	19	3	40	0,95:1
jun/07	13	24	3	40	0,64:1
jul/07	17	22	1	40	0,77:1
ago/07	16	23	1	40	0,69:1
set/07	18	22	0	40	0,82:1
out/07	14	26	0	40	0,54:1
nov/07	19	21	0	40	0,90:1
dez/07	16	24	0	40	0,66:1
jan/08	20	20	0	40	1:1
fev/08	16	24	0	40	0,66:1
mar/08	15	22	3	40	0,68:1
abr/08	9	11	5	25	0,82:1
mai/08	17	19	4	40	0,89:1
jun/08	13	24	3	40	0,54:1
jul/08	16	21	3	40	0,76:1
ago/08	18	22	0	40	0,82:1

Fonte: Lima-Verde (2009)

Dentre as 148 fêmeas analisadas histologicamente, 46 (31,08%) apresentaram algum nível de imposex. Ao longo dos meses de estudo, a abundância de fêmeas com imposex também não variou significativamente (Teste de Kruskal-Wallis: $H(16, N=149) = 22,90, p = 0,12$). Não foram observadas diferenças significativas no comprimento médio da concha das fêmeas com (14,08 mm) e sem imposex (14,07 mm) (Teste de Mann-Whitney: $U = 2311,5, p = 0,81$).

O comprimento médio das conchas das fêmeas foi de 14,07 mm ($\pm 0,79$ mm), sendo o mês com maior média dezembro de 2007, com 16,3 mm, e o mês de outubro de 2007 com menor média 12,0 mm. Nos machos, o comprimento médio de concha foi de 13,62 mm ($\pm 0,84$ mm), sendo o mês de outubro de 2007 o de maior média, com 15,5 mm e agosto de 2008 o mês com menor média, com 12,2 mm. Os animais indiferenciados observados apresentaram

comprimento da concha até 13,5mm, com média de 12,2 mm ($\pm 0,83$ mm). Estes resultados levaram em consideração somente os organismos que tiveram o sexo confirmado pela histologia, não tendo sido analisados exemplares menores que 10,0 mm de comprimento. Considerando a frequência de tamanho dos organismos, verificou-se que os machos tendem a ser mais abundantes nas menores classes e as fêmeas atingem tamanhos maiores. Os indiferenciados ocorreram nas classes de 11-11,6 mm a 13,1-13,7mm, o que pode indicar que esta faixa de tamanho seja aquela em que os organismos diferenciam-se sexualmente (Figura 8).

Figura 7: Comprimento médio das conchas de indiferenciados, machos e fêmeas de *Nassarius vibex* observados no estuário do Rio Ceará de abril de 2007 a agosto de 2008.

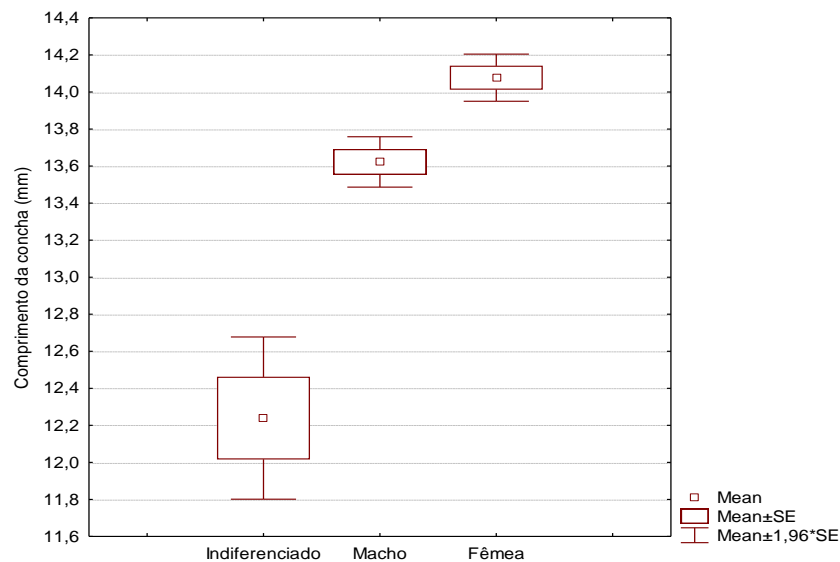
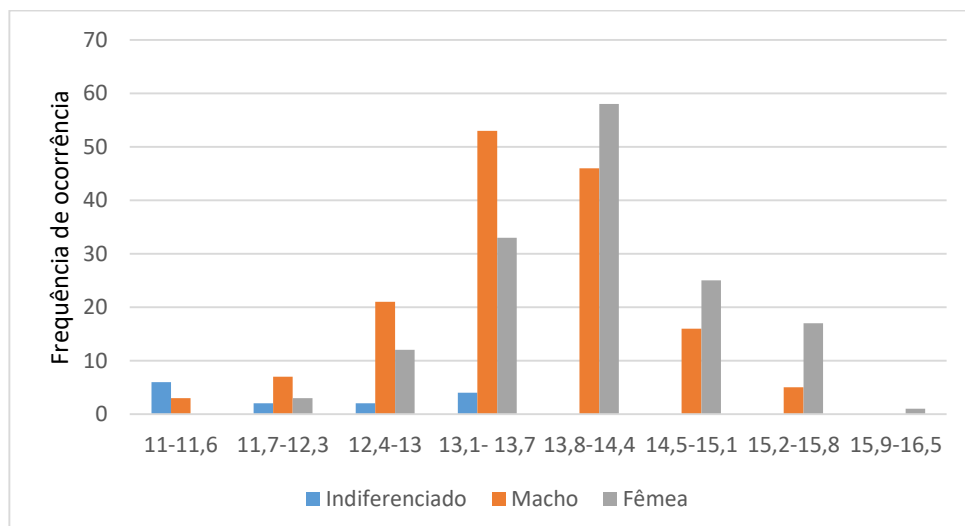


Figura 8: Frequências das classes de comprimento das conchas de indiferenciados, machos e fêmeas de *Nassarius vibex* observados no estuário do Rio Ceará de abril de 2007 a agosto de 2008.



5.3 Linhagens de células germinativas

Os primeiros estágios da gametogênese ocorrem próximos às paredes dos folículos. Durante os estágios iniciais, o tecido conjuntivo ocupa grande parte da gônada sendo substituído progressivamente por folículos maiores à medida que ocorre o processo maturativo. As gônadas maduras apresentam aumento de tamanho devido ao acúmulo de gametas.

Na gônada feminina foram reconhecidos as seguintes células: ovogônias, ovócitos pré-vitelogênicos, ovócitos vitelogênicos e ovócitos maduros (Figura 9). Nos machos, foram visualizadas espermatogônias, espermatócitos, espermatídes e espermatozoides (Figura 10).

Figura 9: Fotomicrografia das células germinativas femininas de *Nassarius vibex*. A: ovogônia (OVG). B: ovócito pré-vitelogênico (OVP). C: ovócito vitelogênico (OVV). D: ovócito maduro (OVM).

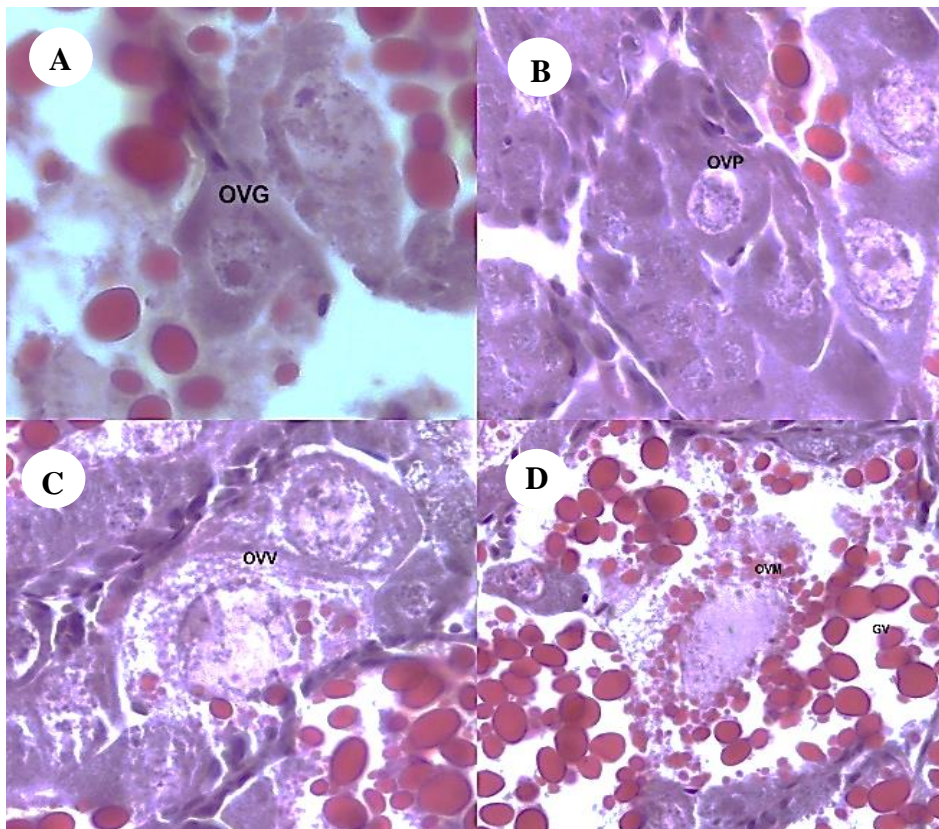
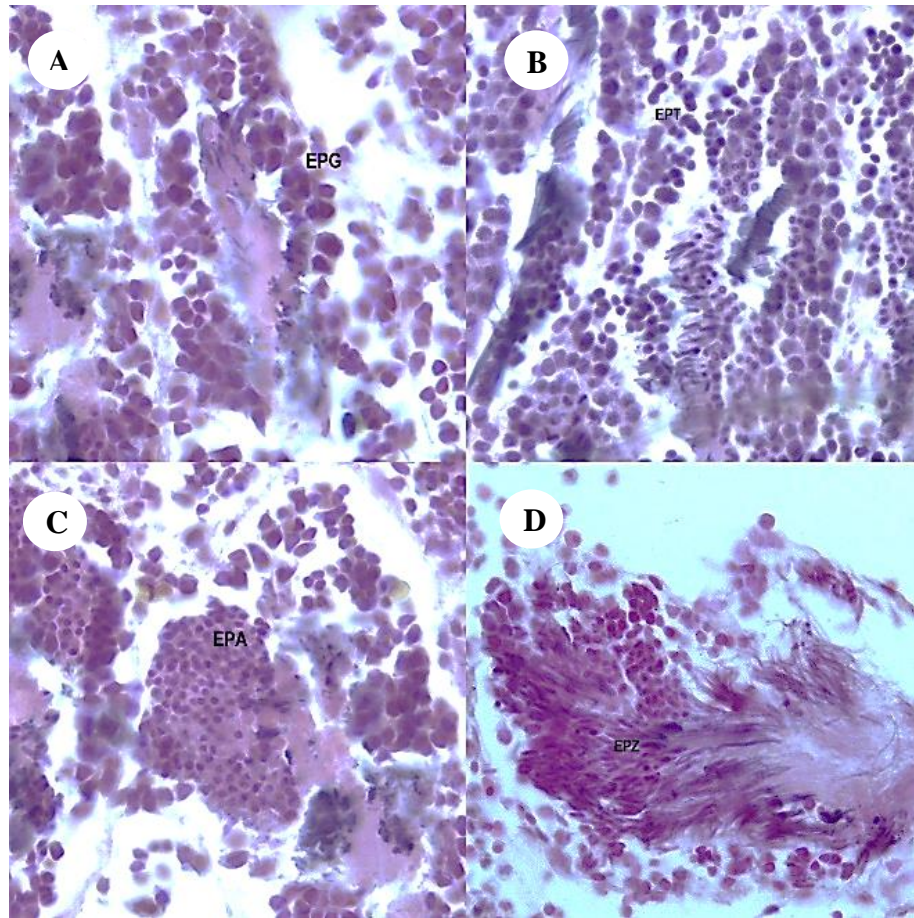


Figura 10: Fotomicrografia das células germinativas masculinas de *Nassarius vibex*. A: espermatogônia (EPG). B: espermatíde (EPT). C: espermatíde (EPA). D: espermatozóides (EPZ).



5.4 Estágios de desenvolvimento gonadal

Através da análise macroscópica das partes moles e da histologia da gônada, a condição reprodutiva dos organismos foi determinada. Foram considerados indiferenciados, os indivíduos com comprimento da concha até 14 mm, sem estruturas sexuais externas e gônada translúcida de cor verde. Histologicamente, a gônada dos indiferenciados é preenchida por células primordiais.

Os organismos com sexo definido foram classificados quanto aos estágios de desenvolvimento gonadal, considerando os 4 estágios propostos por Araújo et al. (2007), e 1 estágio adicional observado para *Nassarius vibex* neste estudo: Imaturo (I), Maturação Inicial (MI), Maturação Avançada (MA), Eliminação (E) e Regeneração (R).

Imaturo (I)

Macroscopicamente, as fêmeas imaturas apresentaram sistema reprodutor não desenvolvido, sem estruturas evidentes e gônada com coloração verde, não tendo sido evidenciadas cápsulas ovíferas incubadas. Nos machos, os órgãos reprodutores também se encontravam não desenvolvidos, com o pênis presente, pouco desenvolvido e translúcido e gônada com coloração verde. Histologicamente, tanto em machos quanto em fêmeas, nota-se a presença de células iniciais ligadas à parede do folículo/túbulo gonadal bastante espessa e fortemente corada por eosina (Figura 11).

Figura 11: Fotomicrografia da massa visceral de indivíduos Imaturos de *Nassarius vibex*. (G =gônada)



Maturação Inicial (MI)

Neste estágio, os machos apresentaram gônada variando de cor verde a verde escuro, com vesícula seminal esbranquiçada e vaso deferente sem pigmentação. As fêmeas apresentaram gônadas variando de cor creme a amarela. Algumas fêmeas neste estágio apresentaram cápsulas incubadas contendo embriões. Histologicamente, nos machos foi observada a presença de espermatogônias e espermatócitos, os túbulos estão cheios e com paredes mais grossas, porém apresentando espaço interfolicular (Figura 12A). Já nas fêmeas, as gônadas possuem muitas ovogônias e ovócitos pré-vitelogênicos, além de uma grande

quantidade de grânulos de vitelo; o espaço interfolicular é razoável e as paredes dos folículos estão também espessas (Figuras 13A).

Maturação Avançada (MA)

Na maturação avançada, os machos apresentam gônadas com coloração verde escura e as fêmeas cor amarelo forte, além de massa glandular (glândulas do albume e da cápsula) variando de amarelo a laranja. A maioria das fêmeas com cápsulas incubadas, apresentaram larva véliger. Histologicamente, nos machos, os espermatozoides predominam no interior dos túbulos, sendo observado também espermátides e espermatócitos próximos à parede dos túbulos, os quais estão mais cheios e com paredes mais finas (Figura 12B). Nas fêmeas, há uma grande quantidade de grânulos de vitelo dispersos, sendo predominantes ovócitos vitelogênicos e maduros, que estão mais próximos das paredes dos folículos (Figura 13B).

Eliminação (E)

Nesta fase, todas as fêmeas apresentaram cápsulas incubadas, em diferentes estágios de desenvolvimento (embriões, pré-véliger e véliger), além de gônada com coloração amarela escura. Já nos machos, a gônada apresentou coloração esverdeada a marrom escuro, com vesícula seminal branca. Histologicamente, nos machos, os espermatozoides ainda estão presentes, porém em menor quantidade e aspecto de esvaziamento dos túbulos, estes com um aumento do espaço intrafolicular (Figura 12C). Nas fêmeas, ainda há presença de ovócitos maduros, porém em menor quantidade; os folículos estão esvaziados e suas paredes mais finas; grânulos de vitelo ainda presentes (Figura 13C).

Regeneração (R)

Neste estágio, as fêmeas apresentaram sinais de desova, contendo “bursa” esvaziada ou resquícios da “bursa”, sendo a estrutura pouco evidente podendo conter véligers e embriões; a gônada apresenta coloração amarela escura. Os machos apresentaram gônada com coloração marrom clara a escura. Histologicamente, os túbulos possuem um grande espaço vazio, resultado da eliminação dos espermatozóides, restando alguns ainda espalhados ao longo da luz dos túbulos; as células iniciais já estão presentes próximas à parede dos túbulos, porém em

pequena quantidade (Figura 12D). Nas fêmeas, as células iniciais também em pequenas quantidades foram observadas, estando os folículos completamente vazios (Figura 13D).

Figura 12: Estágios de desenvolvimento gonadal de machos de *Nassarius vibex*. A: maturação inicial. B: maturação avançada. C: eliminação. D: regeneração.

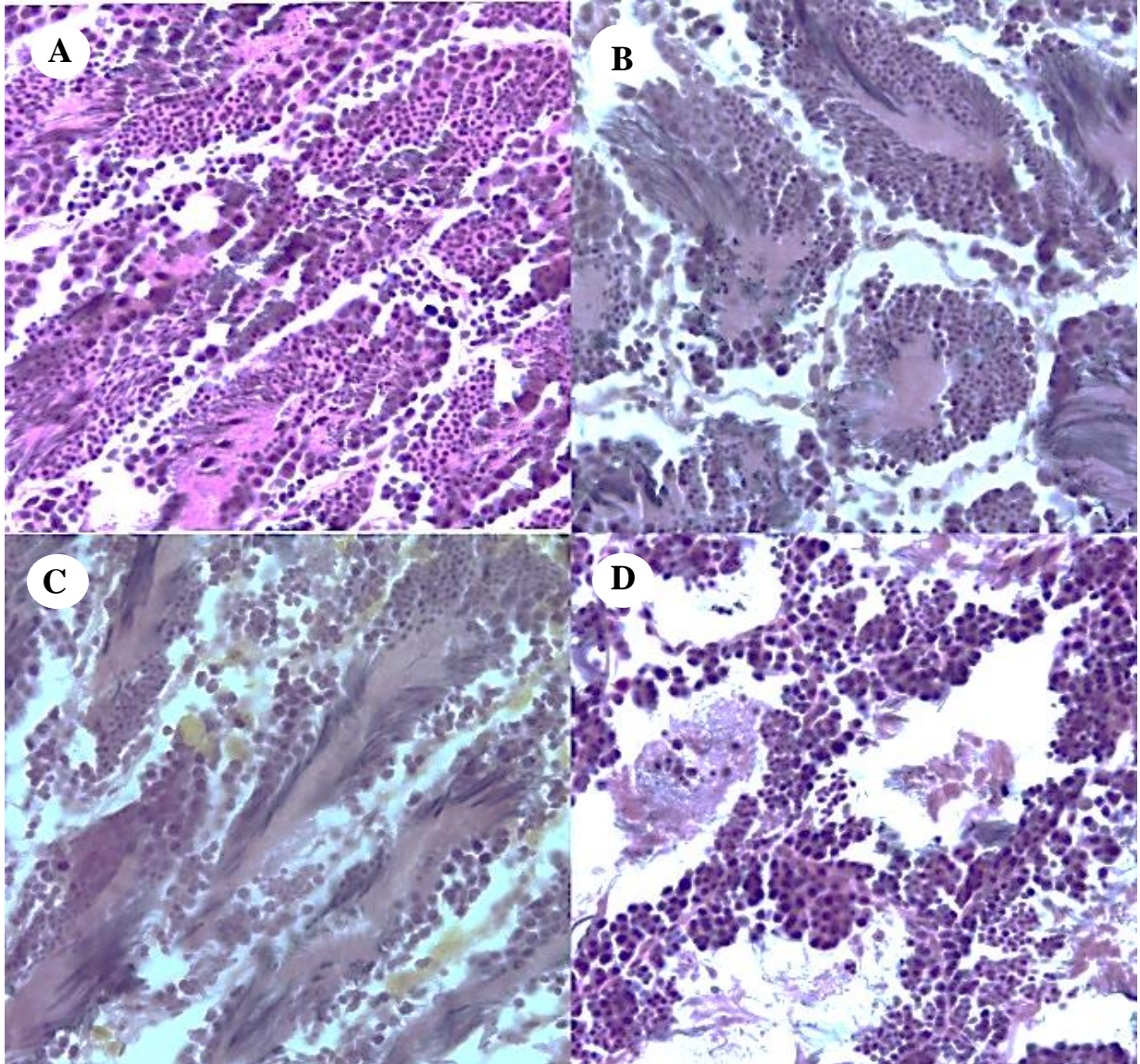
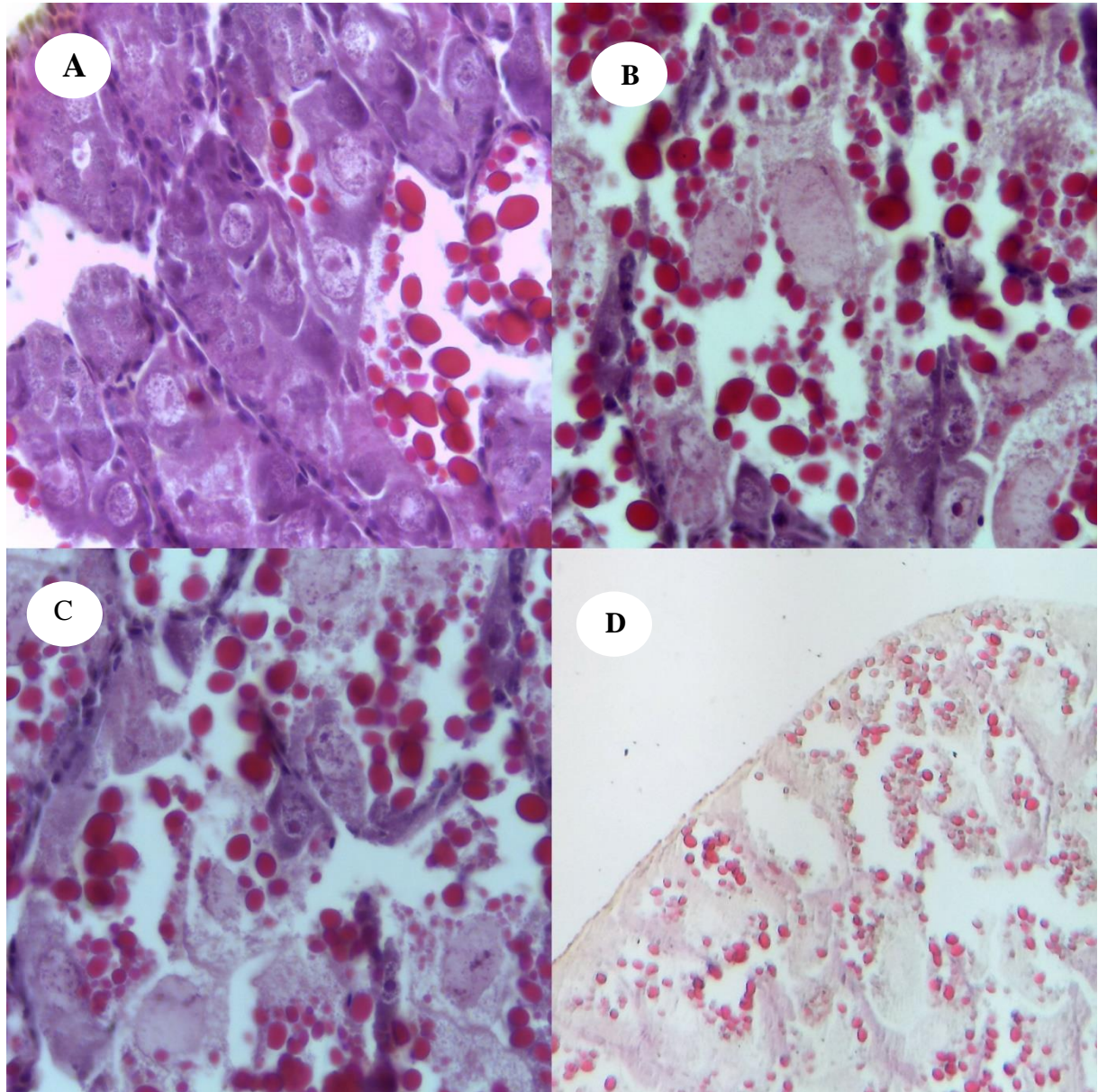


Figura 13: Estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas de *Nassarius vibex*. A: maturação inicial. B: maturação avançada. C: eliminação. D: regeneração.



5.5 Ciclo reprodutivo

A frequência mensal da ocorrência dos estágios do desenvolvimento gonadal de *Nassarius vibex* foi observada (Tabelas 3 e 4). Para ambos os sexos, foi observada uma alternância dos estágios do desenvolvimento ao longo dos meses de estudo (Figuras 14 e 15). Este fato indica que a população de *Nassarius vibex*, no estuário do rio Ceará, tem ciclo reprodutivo contínuo, porém, os indivíduos parecem não reproduzir continuamente, uma vez que um estágio de regeneração bem evidente foi verificado em ambos os sexos.

Tabela 3: Frequência de ocorrência dos estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas *Nassarius vibex* observados entre abril de 2007 e agosto de 2008 no estuário do rio Ceará (I = Imaturo; MI = Maturação Inicial; MA = Maturação Avançada; E = Eliminação; R = Regeneração; N = Número total de indivíduos; % = Porcentagem do total de indivíduos).

Meses de Coleta	Frequência	I	MI	MA	E	R	Total
abr/07	N	5,0	1,0			2,0	8
	%	55,6	11,1			22,2	100
mai/07	N	3,0	1,0			1,0	5
	%	60,0	20,0			20,0	100
jun/07	N	1,0	7,0	1,0	1,0	3,0	13
	%	7,7	53,8	7,7	7,7	23,1	100
jul/07	N		4,0	4,0	2,0	1,0	11
	%		36,4	36,4	18,2	9,1	100
ago/07	N		7,0	2,0	1,0		10
	%		70,0	20,0	10,0		100
set/07	N		4,0	6,0			10
	%		40,0	60,0			100
out/07	N		1,0	5,0	3,0		9
	%		11,1	55,6	33,3		100
nov/07	N		1,0	4,0	4,0	1,0	10
	%		10,0	40,0	40,0	10,0	100
dez/07	N		7,0	1,0			8
	%		87,5	12,5			100
jan/08	N		6,0			1,0	7
	%		85,7			14,3	100
fev/08	N		6,0	2,0	1,0		9
	%		66,7	22,2	11,1		100
mar/08	N		5,0	1,0			6
	%		83,3	16,7			100
abr/08	N		3,0	2,0			5
	%		60,0	40,0			100
mai/08	N	1,0	7,0				8
	%	12,5	87,5				100
jun/08	N		4,0	4,0		2,0	10
	%		40,0	40,0		20,0	100
jul/08	N		6,0	2,0		1,0	9
	%		66,7	22,2		11,1	100
ago/08	N		8,0	1,0			9
	%		88,9	11,1			100

Tabela 4: Frequência de ocorrência dos estágios de desenvolvimento gonadal de machos *Nassarius vibex* observados entre abril de 2007 e agosto de 2008 no estuário do rio Ceará (I = Imaturo; MI = Maturação Inicial; MA = Maturação Avançada; E = Eliminação; R = Regeneração; N = Número total de indivíduos; % = Porcentagem do total de indivíduos).

Meses de coleta	Frequência	I	MI	MA	E	R	Total
abr/07	N	8,0	1,0				9
	%	88,9	11,1				100
mai/07	N	7,0	2,0	1,0			10
	%	70,0	20,0	10,0			100
jun/07	N		1,0	2,0	5,0		8
	%		12,5	25,0	62,5		100
jul/07	N		1,0	3,0	5,0		9
	%		11,1	33,3	55,6		100
ago/07	N		1,0	4,0	4,0		9
	%		11,1	44,4	44,4		100
set/07	N		2,0	4,0	3,0		9
	%		22,2	44,4	33,3		100
out/07	N		1,0	5,0	4,0		10
	%		10,0	50,0	40,0		100
nov/07	N			2,0	7,0		9
	%			22,2	77,8		100
dez/07	N	1,0	6,0		3,0		10
	%	10,0	60,0		30,0		100
jan/08	N		2,0	2,0	4,0		8
	%		25,0	25,0	50,0		100
fev/08	N		1,0	1,0	3,0		5
	%		20,0	20,0	60,0		100
mar/08	N	2,0	2,0	1,0	3,0	1,0	8
	%	25,0	25,0	12,5	37,5	12,5	100,0
abr/08	N		1,0	3,0			4
	%		25,0	75,0			100
mai/08	N	1,0	3,0		2,0	1,0	6
	%	16,7	50,0		33,3	16,7	100,0
jun/08	N		3,0	7,0	1,0		11
	%		27,3	63,6	9,1		100
jul/08	N		3,0	3,0	5,0		11
	%		27,3	27,3	45,5		100
ago/08	N	1,0	2,0	5,0	2,0		10
	%	10,0	20,0	50,0	20,0		100

Figura 14: Estágios de desenvolvimento gonadal de fêmeas de *Nassarius vibex* observados de abril de 2007 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará.

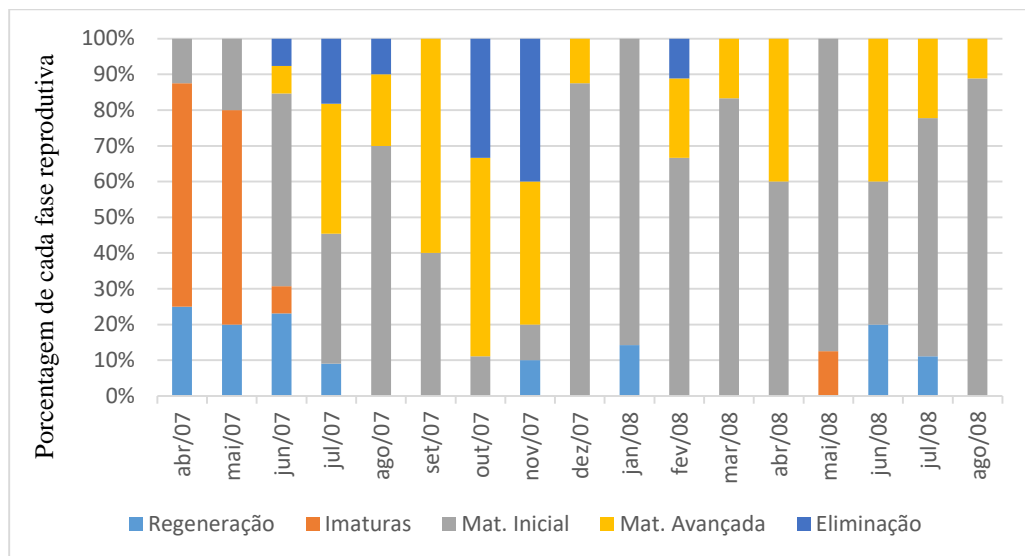
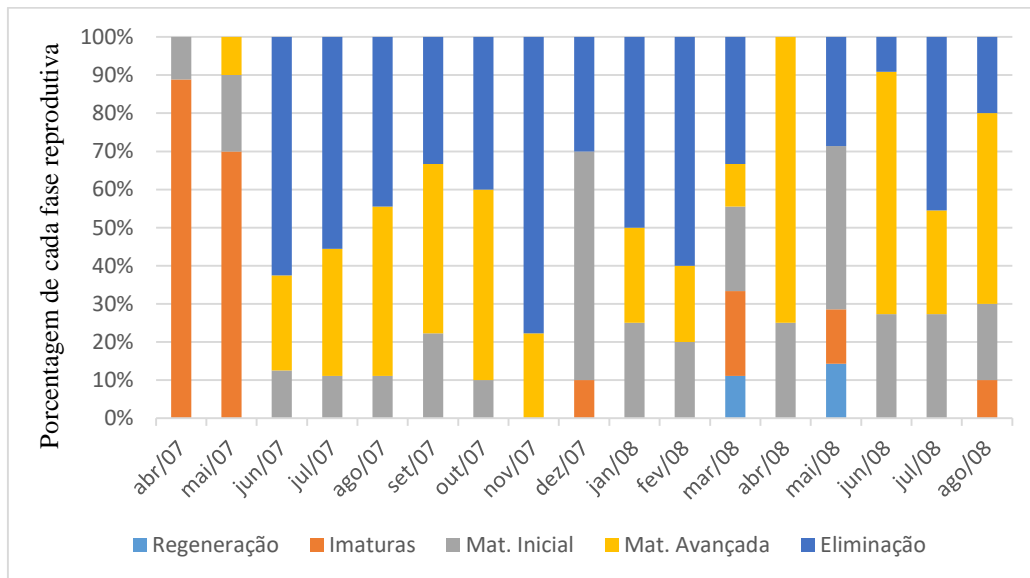


Figura 15: Estágios de desenvolvimento gonadal de machos de *Nassarius vibex* observados de abril de 2007 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará.



Fêmeas imaturas foram observadas entre os meses de abril a junho de 2007 e maio de 2008. Já os machos imaturos estiveram presentes em abril, maio e dezembro de 2007 e março, maio e agosto de 2008. Para ambos os sexos, abril e maio de 2007 foram os meses em que os imaturos foram mais frequentes (superior a 50%) (Figuras 14 e 15).

Indivíduos em Maturação Inicial foram observados em todos os meses de estudo, entretanto, as maiores frequências foram observadas nas fêmeas entre junho a setembro de 2007

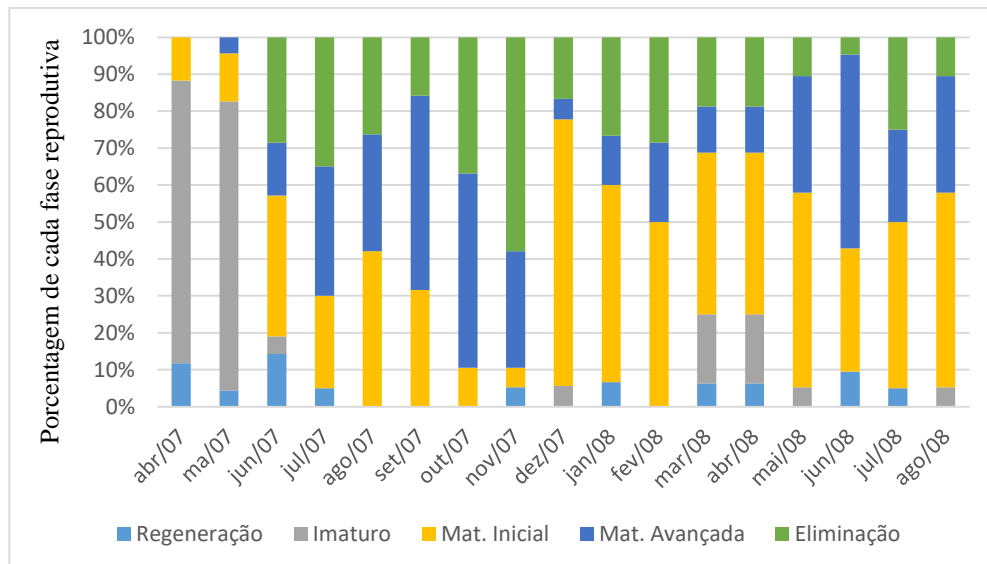
e de dezembro de 2007 e agosto 2008. Machos em Maturação Inicial foram poucos evidentes ao longo dos meses, com exceção de dezembro de 2007.

Fêmeas em Maturação Avançada estiveram presentes de julho a novembro de 2007 e de julho a agosto de 2008, com a ocorrência em pequenos percentuais de fevereiro a abril de 2008. Já os machos em Maturação Avançada foram mais frequentes ao longo dos meses de estudo, apresentando os maiores percentuais de junho a novembro de 2007 e junho a agosto de 2008.

Fêmeas com sinais de Eliminação de gametas foram pouco frequentes e ocorreram nos meses de junho a agosto e outubro e novembro de 2007 e em fevereiro de 2008. Observou-se que as fêmeas em Eliminação ocorreram nos meses em que o percentual de fêmeas em Maturação Avançada foi elevado. Os machos eliminaram gametas em quase todos os meses de estudo com exceção de abril e maio de 2007 e abril de 2008. A maior ocorrência de machos neste estágio foi verificada de junho a novembro de 2007.

Os maiores percentuais de fêmeas em Regeneração foram observadas de abril a junho de 2007. Machos em regeneração foram pouco frequentes, tendo sido observados, em percentuais pequenos, somente em março e maio de 2008.

Figura 16: Estágios de desenvolvimento gonadal de *Nassarius vibex* observados nos meses de abril de 2007 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará.



Analisando os estágios do desenvolvimento gonadal de ambos os sexos conjuntamente, observou-se uma progressão dos estágios ao longo dos meses de estudo (Figura 16). Os maiores percentuais de organismos Imaturos e em regeneração foram observados nos meses de abril e

maio de 2007 e de 2008. O estágio de Maturação Inicial ocorreu ao longo do estudo, porém foi predominante entre os meses de junho e setembro de 2007 e de dezembro de 2007 a agosto de 2008. A Maturação Avançada teve uma frequência de ocorrência semelhante a Maturação Inicial nos dois anos de estudo. Indivíduos em Eliminação de gametas foram observados ao longo de todo o estudo, exceto em abril e maio de 2007. Organismos com gônadas em regeneração foram observados de abril a junho de 2007, em novembro de 2007 e em janeiro, março, abril, junho e julho de 2008.

A precipitação, a salinidade do sedimento e a temperatura do ar apresentaram correlações significativas com a frequência de ocorrência dos estágios de desenvolvimento gonadal de *Nassarius vibex* (Tabela 5). A precipitação correlacionou-se positivamente com a ocorrência de Imaturos ($r = 0,45$, $p < 0,05$) e negativamente com a Maturação Avançada ($r = -0,62$, $p < 0,05$) e a Eliminação ($r = -0,43$, $p > 0,05$). A salinidade do sedimento correlacionou-se negativamente com a frequência de indivíduos em Maturação Inicial ($r = -0,40$, $p < 0,05$) e a temperatura do ar correlacionou-se positivamente com a ocorrência dos indivíduos em Regeneração ($r = 0,35$, $p < 0,05$).

Tabela 5: Correlação de Spearman entre os estágios de desenvolvimento gonadal de *Nassarius vibex* e as variáveis ambientais medidas em campo (salinidade da água e do sedimento e temperatura do ar, da água e do sedimento) e a precipitação acumulada mensal observada na região do estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 e agosto de 2008 (* $p < 0,05$).

Estágio de desenvolvimento gonadal	Precipitação (mm)	Salinidade da água	Salinidade do sedimento	Temperatura do ar (°C)	Temperatura da água (°C)	Temperatura sedimento (°C)
Regeneração (R)	0,24	-0,23	-0,06	0,35*	0,26	0,26
Imaturo (I)	0,45*	-0,28	-0,04	0,25	0,30	0,17
Maturação Inicial (MI)	0,07	0,03	-0,40*	-0,10	0,08	-0,07
Maturação avançada (MA)	-0,62*	0,03	0,09	0,04	-0,25	0,11
Eliminação (E)	-0,43*	0,07	0,26	-0,03	-0,22	0,23

Desta forma, verificou-se que nos meses mais chuvosos, a maior parte dos indivíduos estava Imatura, principalmente em abril e maio de 2007, ou em Maturação Inicial, como foi observado nos meses de dezembro a maio de 2008. Nos meses mais secos, os indivíduos encontrados estavam nos estágios de Maturação Avançada e Regeneração (Figura 17).

As fêmeas afetadas pelo imposex não apresentaram alterações histológicas em suas gônadas, apresentando características semelhantes as gônadas das fêmeas sem imposex. As

fêmeas imosexadas apresentaram todos os estágios de desenvolvimento da gônada, entretanto, foram verificadas correlações positivas significativas do imosex com fêmeas imaturas ($r = 0,37$, $p < 0,05$) e em regeneração ($r = 0,38$, $p < 0,05$) (Figura 18).

Figura 17: Estágios de desenvolvimento gonadal de *Nassarius vibex* e a precipitação acumulada mensal observados nos meses de abril de 2008 a agosto de 2008 no estuário do Rio Ceará.

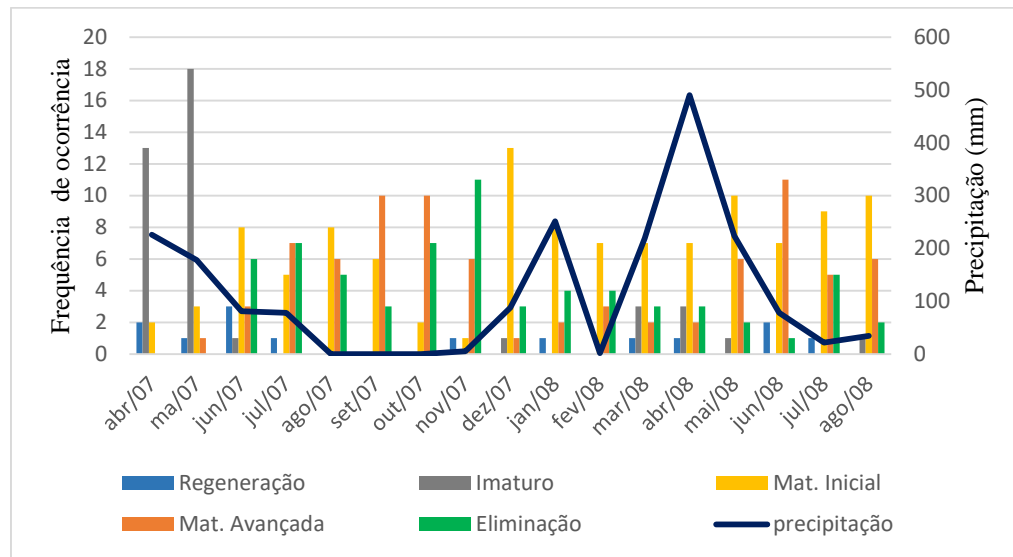
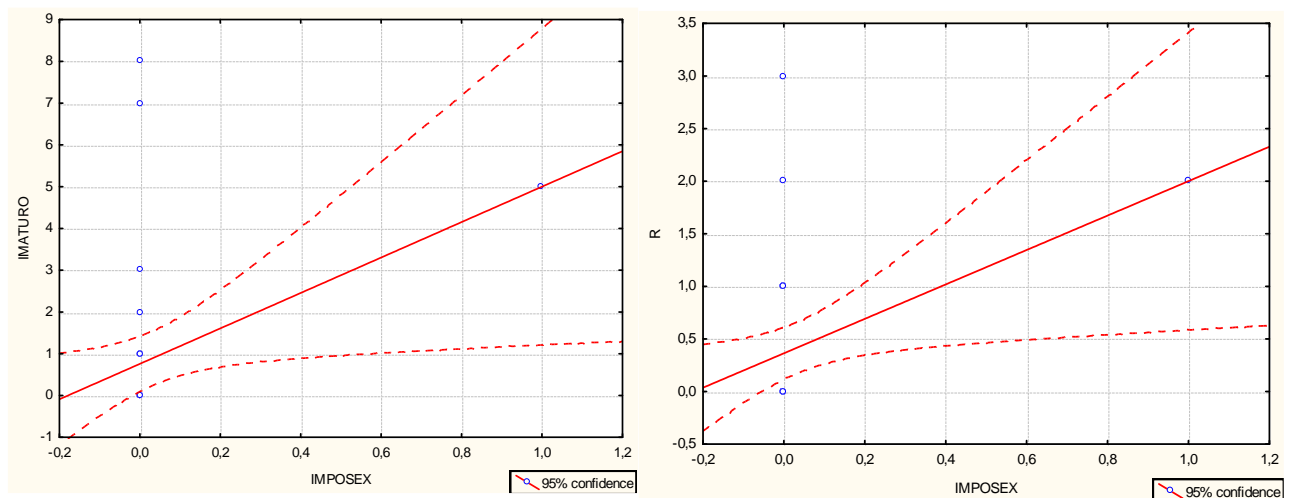


Figura 18: Correlação de Spearman entre os estágios Imaturo e Regeneração e a ocorrência do imosex em fêmeas de *Nassarius vibex* observadas na região do estuário do rio Ceará, no período de abril de 2007 e agosto de 2008 (* $p < 0,05$).



6. DISCUSSÃO

O ciclo reprodutivo de *Nassarius vibex* foi descrito por Yokoyama (2010) para o litoral de São Paulo, tendo sido caracterizadas 6 fases - Regeneração, Crescimento, Pré-maduro, Maduro, Liberação e Vazio (este último somente em machos). Este autor baseou-se em estudos anteriores com *Nassarius festivus* em Hong Kong (CHAN & MORTON, 2005) e *Nassarius reticulatus* em Portugal (BARROSO & MOREIRA, 1998). Devido ao caráter subjetivo da denominação das fases de desenvolvimento gonadal, que, geralmente, segue o critério estabelecido por cada pesquisador, buscou-se neste estudo uma classificação mais objetiva e simplificada, porém que representasse as principais transformações ocorridas durante o ciclo reprodutivo no tecido gonadal da espécie analisada. Desta forma, este estudo baseou-se na classificação proposta por Araújo et al (2007) para o gastrópode tropical *Olivella minuta*, tendo sido definidos 5 estágios de desenvolvimento gonadal (Regeneração, Imaturo, Maturação Inicial, Maturação Avançada e Eliminação). O estágio Vazio, observado por Yokoyama (2010), não foi verificado neste estudo.

O ciclo reprodutivo da população de *Nassarius vibex* do estuário do rio Ceará é contínuo, com os estágios de desenvolvimento gonadal alternando-se e sobrepondo-se ao longo do ano. Os estágios de Maturação Inicial, Maturação Avançada e Eliminação ocorreram em todos os meses de estudo, porém com uma redução em abril e maio, quando foi observado um pico de ocorrência de imaturos e em regeneração. Yokoyama (2010) observou um ciclo gametogênico bimodal para *Nassarius vibex* do litoral do São Paulo, com dois períodos de amadurecimento e liberação de gametas ao longo do ano. Assim como observado no presente estudo, este autor observou discrepâncias no desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas, estando os machos em constante liberação de gametas, enquanto as fêmeas na maior parte do ano encontravam-se em maturação inicial e avançada. Provavelmente, o custo energético para produzir espermatozoides é menor que o da fêmea, que despense maior energia na síntese do vitelo e também gasta mais tempo na produção dos ovócitos e da cápsula para a deposição no substrato. De acordo com Boehs (2000), embora existam evidências do desenvolvimento da gônada primária ser mais precoce em fêmeas, a progressão das fases proliferativa (multiplicação das ovogônias) e vegetativa (crescimento dos ovócitos) é mais lenta do que nas fases correspondentes nos machos.

A estabilidade dos fatores ambientais caracteriza regiões onde os animais marinhos tendem a apresentar seu ciclo sexual contínuo ao longo do ano não havendo a influência de um único fator exógeno regulando a reprodução (GIESE & PEARSE, 1974) mas sim um conjunto de fatores. Desta forma, a fim de avaliar o ciclo reprodutivo da presente população de *Nassarius vibex*, observar o comportamento das principais variáveis que atuam na zona estuarina do rio Ceará é de extrema relevância, uma vez que o comportamento reprodutivo observado pode ser uma resposta a um efeito conjunto destas variáveis (CHEUNG, 1995).

Variações observadas no ciclo gametogênico são determinadas pela influência de condições ambientais diferentes, fazendo com que certas fases se prolonguem e outras se reduzam (ASSIS, 1985). Vários autores têm ressaltado a importância da temperatura da água em distintas latitudes com o ciclo sexual de invertebrados marinhos (ARAÚJO, 2004). Entretanto, principalmente em áreas tropicais, onde as amplitudes de variação da temperatura são muito pequenas, outros fatores ambientais, e até mesmo fatores endógenos, podem influenciar de forma mais significativa a reprodução dos organismos. No presente estudo, as temperaturas também não foram correlacionadas com os estágios do desenvolvimento gonadal de *Nassarius vibex*, indicando, tal como já observados em outras espécies tropicais, que a baixa amplitude de variação da temperatura não atua como fator sincronizador da reprodução (ROCHA-BARREIRA, 2002; ARAÚJO et al., 2007; YOKOYAMA (2010). Yokoyama (2010) observou um ciclo bianual em populações de *Nassarius vibex* no litoral de São Paulo (sudeste do Brasil), porém também não observou correlação com a temperatura. Outras espécies de *Nassarius* entretanto, mostraram correlação significativa entre os estágios de maturação e eliminação e a temperatura, como em *Nassarius festivus* em Hong Kong (CHAN & MORTON, 2005) e *Nassarius reticulatus* em Portugal (BARROSO & MOREIRA, 1998).

A salinidade e a composição qualitativa e quantitativa do alimento, especialmente no ambiente estuarino tropical, onde existem variações importantes, também podem contribuir na regulação dos processos reprodutivos (CHRISTO, 2006). Assim, a maior quantidade de animais imaturos no período chuvoso pode estar relacionada com a maior disponibilidade de alimento, em virtude do incremento da produtividade estuarina neste período, já no período seco, a elevação da salinidade favorece a sobrevivência dos recrutas no ambiente. Lima Verde (2009) observou que o período de deposição de cápsulas por *Nassarius vibex* no estuário do Rio Ceará está inversamente relacionado ao período chuvoso da região, o que confirma estas afirmações. Yokoyama (2010) verificou que deposição de capsulas ovígeras de *Nassarius vibex*, em São Paulo, está relacionado com desenvolvimento da alga *Ulva lactuca* (Linnaeus, 1753), utilizada

como substrato de fixação, sendo compatível com ciclo reprodutivo e recrutamento da população.

O Estado do Ceará apresenta um clima semiárido que é caracterizado por um período chuvoso concentrado em um curto período do ano (fevereiro - maio) e muitas vezes, concentrado espacialmente, principalmente, nas regiões litorâneas (FECHINE, 2015). No presente estudo, a pluviosidade apresentou maiores picos em abril e maio de 2007 e nos meses de janeiro a abril de 2008, ou seja, meses do primeiro semestre dos anos, coincidindo com o período previsto de chuvas para a região.

Dentre os fatores ambientais observados neste estudo, a precipitação pluviométrica e a salinidade foram as que apresentaram as maiores amplitudes de variação durante o período de estudo e que apresentaram correlações significativas com os estágios de desenvolvimento gonadal. Desta forma, verificou-se que nos meses mais chuvosos, a maior parte dos indivíduos estava Imatura, principalmente em abril e maio de 2007, ou em Maturação Inicial, como foi observado nos meses de dezembro a maio de 2008. Nos meses mais secos, os indivíduos encontrados estavam nos estágios de Maturação Avançada e Regeneração. Lima Verde (2009) afirmou que no estuário do Rio Ceará, durante os meses do primeiro semestre do ano, *N. vibex* aloca recursos no crescimento e não ocorre um investimento acentuado na reprodução, já no segundo semestre, os animais reduzem o crescimento e investem recursos na reprodução. Segundo Cabrini (2012), o ciclo gonadal de *Nassarius vibex* no litoral de São Paulo tem um amadurecimento progressivo no outono e com a maturidade alcançada no inverno. Já Yokoyama (2010) observou que a maturidade gametogênica é atingida no verão e inverno com a liberação concentrada no outono e primavera.

De acordo com Molisani et al. (2006), o fluxo fluvial estimado, considerando o escoamento superficial relativo, da área da bacia do rio Ceará é de $5 \text{ m}^3/\text{s}$ durante o período de chuvas e de $< 1 \text{ m}^3/\text{s}$ no período de estiagem, tornando-se intermitente em alguns pontos. Esta variação no volume de água na zona estuarina provavelmente foi responsável pelas variações significativas de salinidade da água observadas durante o período de estudo. A salinidade da água apresentou índices altos na maioria dos meses analisados, tendo apenas os meses de março de 2007 e abril e maio de 2008 índices baixos, coincidindo com os meses de maiores chuvas no estuário, ou seja, períodos onde as águas do estuário sofrem diluição pela água da chuva e ficam menos salinas. A salinidade do sedimento não apresentou picos significativos de redução como a da água, mantendo-se acima de 30 em todos os meses, porém apresentou uma correlação maior com a pluviosidade do que a salinidade da água. O fato da salinidade do sedimento não

ter variado significativamente juntamente com a salinidade da água, deve-se provavelmente ao caráter pontual da medição, realizada na maré baixa no momento da coleta, o que reflete uma situação momentânea de baixo volume de água sobre o substrato e alta insolação, que eleva evaporação, mantendo a salinidade no sedimento elevada. As temperaturas do ar, da água e do sedimento mostraram uma constância ao longo dos meses de estudo e não mostraram correlação significativa com a pluviosidade.

No presente estudo, a proporção sexual de *Nassarius vibex* no estuário do rio Ceará apresentou um desvio levemente significativo de 1:1, sendo as fêmeas em maior quantidade que os machos. Lima Verde (2006) registrou para esta mesma população proporção sexual em favor dos machos. Cabrini & Cardoso (2012) e Cardoso et al. (2009) também registraram populações com mais machos que fêmeas no litoral de São Paulo. Resultados semelhantes ao do presente estudo, no entanto, foram observados por Yokoyama (2010) também no estado de São Paulo. Populações em que sexos tem o mesmo custo energético na reprodução (CHAN & MORTON, 2005) ou com condições ambientais favoráveis (TORRES & DRUMOND, 1999) tendem a apresentar a razão sexual de 1:1. Esta condição, entretanto, nem sempre é observada. De acordo com Chan & Morton (2005), o hidrodinamismo e a quantidade de matéria orgânica no sedimento favoreceram a maior abundância de fêmeas em populações de *Nassarius festivus*. A incidência de imposex (CARDOSO et al., 2011) e o parasitismo (LIMA VERDE, 2009) também podem promover desvios significativos na proporção sexual de populações de *Nassarius vibex*. Na população estudada, apesar de apresentar imposex, esta condição parece não estar afetando a sobrevivência das fêmeas e, provavelmente, as variações na proporção sexual podem estar relacionadas às flutuações ambientais ou, ainda, a estratégia amostral utilizada neste estudo.

Lima Verde (2009) registrou um comprimento médio da concha de 13,60 mm para a população de *Nassarius vibex* do estuário do rio Ceará. No presente estudo, considerando os organismos cuja condição sexual foi determinada histologicamente, observaram-se comprimentos médios de fêmeas ($14,07 \pm 0,79$ mm) e de machos ($13,62 \pm 0,84$ mm) superiores. Esta diferença dentro das mesmas amostras observadas, pode ser atribuída a presença de indivíduos determinados macroscopicamente como fêmeas, pela ausência de estruturas reprodutivas desenvolvidas, e que, no entanto, tratavam-se de organismos indiferenciados sexualmente, sendo ainda os machos mais abundantes nas menores classes e as fêmeas nas classes de tamanho maiores. Yokoyama (2010) e Cabrini & Cardoso (2012) também verificaram fêmeas maiores que machos em populações de *Nassarius vibex* de São Paulo.

Yokoyama (2010) atribuiu este dimorfismo sexual ao maior investimento somático e gonadal das fêmeas levando a um aumento no tamanho da concha.

Ainda considerando a confirmação histológica, em que somente animais maiores que 11mm de comprimento da concha foram analisados, indivíduos indiferenciados ocorreram nas classes de 11-11,6 mm a 13,1-13,7mm, o que pode indicar que esta faixa máxima de tamanho em que os organismos diferenciam-se sexualmente. Cabrini (2012) observou animais deferenciados sexualmente com 5,33mm para machos e 4,28mm para fêmeas e atribuiu este fato devido as fêmeas possuírem poucas reservas de energia no período de maturação, sendo a maior parte da energia adquirida canalizada para a reprodução e não para o crescimento.

A ocorrência do imposex na população de *Nassarius vibex* do estuário do Rio Ceará foi registrada por Lima-Verde et al (2010), onde a provável fonte de organoestênicos são dois estaleiros próximos à foz do estuário. Cardoso et al. (2009) encontraram 100% de fêmeas com imposex na praia de Flexeiras, no Rio de Janeiro. No presente estudo, o imposex correspondeu a 31,08% das fêmeas analisadas histologicamente, o que pode ser considerado um impacto moderado da contaminação por TBT.

A presença do imposex parece não ter afetado no tamanho das fêmeas, uma vez que não foram observadas diferenças significativas entre fêmeas com e sem imposex. Entretanto, a presença de indivíduos imaturos com comprimento da concha maior que 10,0 mm pode ser um efeito da contaminação por TBT. Cabrini (2012) afirma que a contaminação por TBT afeta a atividade gonadal, sendo a energia que antes era voltada para a reprodução, agora é voltada para o crescimento e aliando isso ao período chuvoso, faz com que apareça uma grande quantidade de animais imaturos. Demaintenon (2001a) fala que a maturação sexual de *Nassarius vibex* ocorre em machos com 11,5 mm de concha e em fêmeas com 15,15 mm, que são comprimentos bem maiores do que o encontrado para *Nassarius festivus* por Chan & Morton (2005), que fala em 5 mm de comprimento de concha. Cardoso (2010) sugere que animais com maiores comprimentos de concha em juvenis são esperados em praias com níveis mais altos de imposex, como uma resposta da redução da reprodução. Durante as coletas realizadas para o presente estudo, foram encontrados machos imaturos de até 14,25 mm e fêmeas imaturas de até 15,5 mm. Aliando essas informações de Demaintenon (2001a), Cardoso (2010) e os dados obtidos no presente estudo, pode-se sugerir que o estuário do Rio Ceará possui um nível de contaminação relativamente elevado e que afeta principalmente a maturação dos machos.

A ausência de alterações histológicas na gônada das fêmeas indica que o imposex não afeta o ciclo reprodutivo da população, sendo este observado em todos os estágios de

desenvolvimento gonadal. As alterações morfológicas macroscópicas nas estruturas reprodutivas, entretanto, sugerem a ocorrência de rotas alternativas de imposex em *Nassarius vibex* visto que foram encontradas fêmeas sem pênis ou vaso deferente, mas com início de convolução do oviduto, além de fêmeas com alterações na massa glandular que indicam esterilidade parcial (LIMA-VERDE, 2009). A predominância de imposex em fêmeas imaturas e em regeneração sugerem ainda que algum efeito no ciclo gametogênico deve ocorrer. Cabrini (2012) afirma que a contaminação por TBT afeta a atividade gonadal, sendo a energia que antes era voltada para a reprodução, agora voltada para o crescimento. Demaintenon (2001a) observou que a maturação sexual de *Nassarius vibex* ocorre em machos com 11,5 mm de concha e em fêmeas com 15,15 mm, que são comprimentos bem maiores do que o encontrado para *Nassarius festivus* por Chan & Morton (2005), em torno de 5 mm de comprimento de concha. Cardoso (2010) sugere que animais com maiores comprimentos de concha em juvenis são esperados em praias com níveis mais altos de de imposex, como uma resposta da redução da reprodução. Assim, o registro de fêmeas imaturas com comprimento da concha até 15,5mm pode indicar que o imposex esteja retardando o amadurecimento gonadal na população estudada.

O uso da histologia pode ser extremamente útil para enriquecer estudos relacionados a imposex e reprodução de gastrópodes, já que, muitas vezes, só é possível a identificação dos animais a nível histológico, uma vez que as características morfológicas dos animais altamente afetados pelo TBT tendem a se tornar bastante parecidas. Entender os níveis de maturação, como eles acontecem e o desenvolvimento das células enriquece os estudos sobre como o processo do imposex ocorre e quão longe ele pode chegar nessa relação contaminação/reprodução, além da sua contribuição a longo prazo na dinâmica populacional

7. CONCLUSÕES

- O ciclo reprodutivo de *Nassarius vibex* no estuário do Rio Ceará é contínuo, com os estágios de desenvolvimento gonadal alternando-se e sobrepondo-se ao longo do ano;
- A precipitação pluviométrica e a salinidade exercem efeitos significativos no desenvolvimento gonadal, sendo os indivíduos imaturos e em maturação inicial predominantes nos meses mais chuvosos e, nos meses mais secos, os indivíduos em Maturação Avançada e Regeneração.
- A ausência de alterações histológicas na gônada das fêmeas indica que o imposex não afeta o ciclo reprodutivo da população, entretanto o imposex pode afetar as gônadas de animais imaturos ou regeneração retardando seu desenvolvimento.

8. REFERÊNCIAS

- AFONSO, C.M.L et al. A família Nassariidae (Mollusca: Gastropoda: Prosobranchia) no Algarve. **Portugala** , Portugal, v. 1, p. 9-9, maio. 2003.
- ALMEIDA E.; DIAMANTINO T. C.; DE SOUSA O. Marine paints: The particular case of antifouling paints. **Progress in Organic Coatings**, v. 59, p.2-20. 2007.
- ARAÚJO, M.V; FREIRE, G.S.S. Utilização de SIG nos estudos ambientais do estuário do rio Acaraú - ceará. **Genomos** , Brasil, v. 15, n. 2, p. 9-19, jan. 2007.
- ARAÚJO, M.L.R. **Ciclo reprodutivo e distribuição espacial de Anomalocardia brasiliana (GMELIN, 1791)(Mollusca: Bivalvia: Veneriidae) na praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará.** 2004. Tese de Doutorado. <http://www.theses.ufc.br/>.
- ARAÚJO, P.H.V; ROCHA-BARREIRA, C.A.; FERNANDES, D.A.O. **Caracterização das fases do ciclo reprodutivo de Olivella minuta (Link, 1822) (Mollusca: Gastropoda: Olividae) na Praia do Meireles, Fortaleza, Ceará, Brasil.** In: XX Encontro Brasileiro de Malacologia, 2007, Rio de Janeiro: Edil Artes Gráficas, 2007. v. XX. p. 3-406.
- ASSIS, R. C. F. Maturação sexual de *Lucina pectinata* (Gmelin, 1791) (Mollusca-Bivalvia). *Universitas. Ciência*. Salvador, (34): 77-92, out./dez., 1985.
- BARROSO, C. M.; MOREIRA, M. H. Reproductive cycle of *Nassarius reticulatus* in the Ria de Aveiro, Portugal: implications for imposex studies. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 78, n. 4, p. 1233-1246, 1998.
- BENTLEY, A.C. Reproductive cycle and gonadal histology of *Echinodiscus bisperforatus* along the southern coast of South Africa. In: MOOI, R.; TELFORD, M. (Eds). **Proceedings of the 9th International Conference of Echinoderms**. Balkema, Rotterdam, p. 571-576, 1998.
- BETTIN, C.; OEHLMANN, J.; STROBEN, E. TBT- induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level. **Helgolander meeresuntersuchungen** , Alemanha, v. 50, p. 299-317, jan. 1996.
- BRITTON, J.C.; MORTON, B. Marine carrion and scavengers. *Oceanography and Marine Biology – An Annual Review*, v. 32, p. 369-434, Londres, 1994.
- BRUSCA, Richard C.; MOORE, Wendy; SHUSTER, Stephen M. **Invertebrates** . 3. ed.

- Estados Unidos: Sinauer Associates, Inc., 2016. 1104 p.
- CABRINI, T.M.B.; CARDOSO, R.S. Population biology of *Nassarius vibex* (Say, 1822) on a sheltered beach in Southeastern Brazil. **Journal of Shellfish Research**, v. 31, n. 3, p. 809-815, 2012.
- CABRINI, T.M. **Biologia populacional de *Nassarius vibex* (SAY, 1822) em uma praia protegida no sudeste do Brasil**. 2012. 43 p. Dissertação (mestrado em ciências biológicas)-Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- CARDOSO, R.S. *et al.* Biphallia in imposed females of marine gastropods: new record for *Nassarius vibex* from Brazil. **Brazilian Journal of Biology**. v. 69, n. 1, p. 223-224, 2009.
- CARDOSO, R. S. *et al.* Effects of environmental gradients on sandy beach macrofauna of a semi-enclosed bay. **Marine ecology**, v. 33, n. 1, p. 106-116, 2012.
- CARDOSO, R.S.; CAETANO, C. H. S. Imposex in *Nassarius vibex*: relationship with harbor and yachting activities at five beaches in Sepetiba Bay, RJ, Brazil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 5, n. 4, p. 540-545, 2010.
- CASTRO, Í. B., Rocha-Barreira, C. D. A., Fernandez, M. A., & Bigatti, G. Transplant bioassay induces different imposex responses in two species of the genus *Stramonita*. **Marine Biology Research**, v. 8, n. 4, p. 397-404, 2012a.
- CASTRO, Ítalo Braga; ROSSATO, Martina; FILLMANN, Gilberto. Imposex reduction and residual butyltin contamination in southern Brazilian harbors. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 31, n. 5, p. 947-954, 2012b.
- CHAN, K; MORTON, B. The reproductive biology of *Nassarius festivus* (Powys, 1835) (Gastropod: Nassariidae) in relation to seasonal changes in temperature and salinity in subtropical Hong Kong. **Aquatic Ecology**, v. 39, p. 213-228, 2005.
- CHEN, B. Y.; CHEN, C. P. Reproduction and development of a miniature sand dollar *Sinaechinocyamus mai* (Echinoidea: Echinodermata) in Taiwan. **Bull. Inst. Zool. Acad. Sin.**, Taipei, v.32, n. 2, p. 100-110, 1993.
- CHEUNG, S.G; LAM, S.W. Effect of salinity, temperature and acclimation on oxygen consumption of *Nassarius festivus* (Powys, 1835) (Gastropoda: Nassariidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Grã Bretanha, v. 111, n. 4, p. 625-631, jan. 1995.

- CHOI, M., *et al.* Butyltin contamination in industrialized bays associated with intensive marine activities in Korea. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v.57, v.1, p. 77-85. 2009.
- CHRISTO, S. W. Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897, na Baía de Guaratuba (Paraná – Brasil): um subsídio ao cultivo. 2006. 146f. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- COGERH (Companhia de Gestão dos Recursos Hídricos) – COGERH. Revisão do plano de gerenciamento das águas das bacias metropolitanas e elaboração dos planos de gerenciamento das águas das bacias do litoral, Acaraú e Coreaú, no Estado do Ceará. Fortaleza, 2010. Versão preliminar.
- DEMAINTENON, M.J. Analysis of reproductive system ontogeny and homology in *Nassarius vibex* (gastropoda: buccinidae: nassariinae). **Journal of Molluscan Studies**, Londres, v. 67, p. 37-49, jul. 2001a.
- DEMAINTENON, M.J. Ontogeny of the pseudohermaphroditic reproductive system in *Nassarius vibex* (gastropod: buccinidae:nassaridae). **Journal of Molluscan Studies**, Londres, v. 67, p. 51-57, jul. 2001b.
- EVANS, S. M.; BIRCHENOUGH, A. C.; BRANCATO, M. S. The TBT ban: out of the frying pan into the fire? **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n.3, p. 204-211. 2000.
- FECHINE, J.A.L. IDENTIFICAÇÃO DE SECAS METEOROLÓGICAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA, USANDO O ÍNDICE DE PRECIPITAÇÃO PADRONIZADA (SPI). **Boletim de Geografia**, v. 33, n. 2, p. 18-33, 2015.
- FENT, K. Ecotoxicology of organotin compounds. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 26, p.1–117. 1996
- FREIRE, C.A. *et al.* Growth and spatial distribution of *Cassidulus mitis* (Echinodermata, Echinoidea) on a sandy beach in southeastern Brazil. **Mar. Biol.**, Berlin, v.112, p. 625-630, 1992.
- FUNCEME. Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. Disponível em: <http://www.funceme.br>. Acesso em 21 de novembro de 2017.

- GÉNIO, L. et al. Effect of low salinity on the survival of recently hatched veliger of *Nassarius reticulatus* (L.) in estuarine habitats: A case of study of Ria de Aveiro. **Journal os Sea Research** , [S.l.], v. 59, p. 133-143, 2008.
- GIESE, A.C.; PEARSE, J.S. Introduction: general principles. In: GIESE, A.C.; PEARSE, J.S. (Eds). **Reproduction of Marine Invertebrates**, v1. New York: Academic Press, 1974. p.1-49.
- GIRÃO, M. M. L. Comportamento alimentar e percepção sensorial do gastrópode *Nassarius vibex* (Say, 1822) (Nassariidae). Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Ceará. 2006.
- GODOI, A.F.L; FAVORET, R.; SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. **Química Nova**, v. 26, n.5, p. 708 – 716. 2003
- GORE, R.H. Observations on the escape response in *Nassarius vibex* (Say),(Mollusca: Gastropoda). **Bulletin of Marine Science**, v. 16, n. 3, p. 423-434, 1966.
- GROTTA, M.; LUNETTA, J.E. Ciclo sexual de *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) do litoral do Estado da Paraíba. **Revista Nordestina de Biologia**, v.3, n.1, p.5-55, 1980.
- IMO - International Maritime Organization. **International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships**. 2008. Disponível em :<
[http://www.imo.org/about/conventions/listofconventions/pages/international-convention-on-the-control-of-harmful-anti-fouling-systems-on-ships-\(afs\).aspx](http://www.imo.org/about/conventions/listofconventions/pages/international-convention-on-the-control-of-harmful-anti-fouling-systems-on-ships-(afs).aspx)> Acesso em: Mai. 2013
- JUNQUEIRA, L.C.U.; JUNQUEIRA; L.M.M.S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. 1. Ed. São Paulo; Livraria e Editora Santos, 1983. 123p.
- LESSIOS, H.A. Annual reproductive periodicity in eighth echinoid species on the Caribbean coast of Panama. In: KEEGAN, B.F.; O'CONNOR, D.D.S. (Eds). **Proceedings of the 5th International Conference of Echinoderms**. Balkema, Rotterdam, p.303-311, 1984.
- LIMA-VERDE, F.B. **Biologia reprodutiva de *Nassarius vibex* (Say, 1822) (MOLLUSCA:GASTROPODA:NASSARIDAE) nos estuários dos rios Ceará e Pacoti, Nordeste, Brasil** . 2009. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais)- Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2009.
- LIMA-VERDE, F.B. **Caracterização histomorfológica do imposex em *Nassarius vibex* (Say, 1822) (Mollusca: Gastropoda: Nassariidae) e monitoramento passivo do alcance da**

- contaminação por compostos organoestânicos no estuário do Rio Ceará.** 2007, 56 p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2007.
- LIMA VERDE, F.B. *et al.* Imposex occurrence in *Nassarius vibex* from South America: a potential bioindicator in estuarine environments. **Marine Biodiversity Records**, v. 3, 2010.
- LUCENA, J.M.; MEIRELLES, C.A.O.; MATTHEWS-CASCON, H. Feeding behavior of *Nassarius vibex* (Gastropoda: Nassariidae). **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 45, n. 2, p. 60-67, 2012.
- LUZ, J. R.; BOEHS, G. Reproductive cycle of *Anomalocardia brasiliiana* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) in the estuary of the Cachoeira River, Ilhéus, Bahia. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 3, p. 679-686, 2011.
- MARSHALL, D.J.; RAJKUMAR, A. Imposex in the indigenous *Nassarius kraussianus* (Mollusca: Neogastropoda) from South Africa harbours. **Marine Pollution Bulletin**, [S.l.], v. 46, p. 1150-1155, jan. 2003.
- MATTHEWS-CASCON, H; ROCHA-BARREIRA, C.A.; DE MEIRELLES, C.A.O. **Egg masses of some Brazilian mollusks.** Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora, 2011.
- MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M.; BJORN, K. **Princípio de oceanografia física de estuários.** São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002.
- MOLISANI, M.M.; CRUZ, A.L.V.; MAIA, L.P. Estimativa da descarga fluvial para os estuários do Estado do Ceará, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 39, n. 1-2, p. 53-60, 2006.
- MORAES, M.V.; PORTELA, J.P.; COSTA, S.S.. A educação ambiental como ferramenta didática na proteção ambiental da água do estuário do rio Ceará. **Revista Equador**, Piauí, v. 4, n. 2, p. 36-55, abr. 2015. Disponível em: <<http://www.ojs.ufpi.br/index.php/equador>>. Acesso em: 16 out. 2017.
- NARCHI, W. *Ciclo anual da gametogênese de Anomalocardia brasiliiana (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia).* *Bolm. Zool. Univer. São Paulo*, v.1, p.331-350, 1976.
- NORMAN. Normas da Autoridade Marítima. **Portaria nº 76/DPC, de 30 de julho de 2007.** Aprova as normas da autoridade marítima para o controle de sistemas anti-incrustantes

- danosos em Embarcações. Brasil, Diário Oficial da União. Disponível em: <<https://www.dpc.mar.mil.br/normam/N23/normam23.pdf>> Acesso em Mai. 2013
- PEARSE, J. S.; CAMERON, R. A. Echinodermata: Echinoidea. In: PEARSE, G.; PEARSE (Eds.). **Reproduction of marine invertebrates: Echinoderms and Lophophorates**. California: Boxwood Press., v. 4, p. 513-662, 1991.
- RIOS, E.C. Compendium of Brazilian Seashells. 668 p. Evangraf, Rio Grande, 2009.
- ROCHA-BARREIRA, C. A. Gonad characterization and reproductive cycle of *Collisella subrugosa* (Orbigny, 1846)(Gastropoda: Acmaeidae) in the Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4B, p. 885-895, 2002.
- SONAK, S., *et al.* Implications of the ban on organotins for protection of global coastal and marine ecology. **Journal of environmental management**, v. 90, p. 96-108. 2009.
- TALLMARK, B. Population dynamics of *Nassarius reticulatus* (Gastropoda, Buccinidae) in Gullmar Fjord, Sweden. . **Marine Ecology (Progress Series)** , [S.l.], v. 3, p. 51-62, jul. 1980.
- VERNBERG, W.B. Responses to estuarine stress In: KETCHUM, B.H. **Estuaries and enclosed seas**. Amsterdam: Ed. Elsevier, 1992. 500p.
- WEBBER, H.H. Gastropoda Prosobranchia. In: **Reproduction of marine invertebrates, 4. Molluscs: Gastropods and Cephalopods**. London: Academic Press, 1977. p. 1-97
- WIRZINGER, G. et al. Impossex of the netted whelk *Nassarius reticulatus* (Prosobranchia) in Brittany along a transect from a point source. **Cahiers de Biologie Marine** , Grã Bretanha, v. 48, p. 85-94, jan. 2007.
- YOKOYAMA, L.Q.. **Nassarius vibex (gastropoda, nassariidae): crescimento e reprodução em bancos de miliúdeos de substrato areno-lamoso na costa Sudeste do Brasil** . 2010. 123 p. tese (doutorado em zoologia)- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- YOKOYAMA, L.Q.; AMARAL, A.C.Z. Temporal variation in egg-capsule deposition by *Nassarius vibex* (Gastropoda: Nassariidae). **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 55, n. 2, p. 82-90, 2011.