



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR**  
**DOUTORADO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

Ítala Alves de Oliveira

Ecologia populacional e dinâmica pesqueira de *Anomalocardia flexuosa*  
(Linnaeus, 1767) (BIVALVIA: VENERIDAE) em um estuário hipersalino  
do semiárido brasileiro

Fortaleza – Ceará

2019

Ítala Alves de Oliveira

Ecologia populacional e dinâmica pesqueira de *Anomalocardia flexuosa*  
(Linnaeus, 1767) (BIVALVIA: VENERIDAE) em um estuário hipersalino  
do semiárido brasileiro

Tese submetida ao curso de Pós-graduação em  
Ciências Marinhas Tropicais, da Universidade  
Federal do Ceará, como requisito para  
obtenção do título de Doutorado.

Orientadora: Dra. Cristina de Almeida Rocha-  
Barreira.

Fortaleza

2019

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)

---

O47e Oliveira, Itala Alves de.  
Ecologia populacional e dinâmica pesqueira de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (BIVALVIA: VENERIDAE) em um estuário hipersalino do semiárido brasileiro / Itala Alves de Oliveira. – 2019.  
123 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Cristina de Almeida Rocha Barreira.

1. Crescimento. 2. Recrutamento. 3. Competição. 4. Rendimento sustentável. I. Título.

CDD 551.46

---

## DEDICATÓRIA

Maior incentivadora, minha inspiração, minha  
fortaleza, e hoje meu anjo da guarda, Francisca  
Pereira de Oliveira, minha mãe.

A Senhora com todo meu amor, minha eterna  
“Mainha”.

## AGRADECIMENTOS

À **Deus** por ter me proporcionado força e fé para seguir em frente e por guiar meus passos nos caminhos tortuosos e felizes dessa vida;

Ao Meu pai, **Eduardo Alves**, que mesmo sem entender o objetivo dessa jornada me incentivou a estudar e lutar pelos meus sonhos com coração cheio de bondade e esperança.

A minha eterna mãe, **Francisca Pereira**, que mesmo não estando aqui fisicamente, se faz tão presente em meu coração cheio de gratidão. Mainha, tão presente, tão ativa, cheia de esperança em um futuro melhor através da educação. Me ensinou a lutar pelos meus objetivos. A senhora acima de tudo me amou incondicionalmente e me mostrou o real sentido desta vida. Obrigada por tanto amor, tanta dedicação, por tantos ensinamentos de vida.

A minha orientadora/mãe, **Cristina Rocha Barreira**, pelos ensinamentos científicos e de vida. Por me incentivar a conquistar muito mais que um papel, mas sim um sonho, que foi construído coletivamente. Por ser tão ativa na construção do nosso conhecimento e pelos puxões de orelha também.

Ao meu eterno amor e companheiro de vida, **Josiellyson**, que sonhou esse sonho comigo. Que me acompanhou e apoiou em todas as etapas desta conquista. Obrigada por me ofertar tanto amor em todos os momentos de minha vida.

As minhas irmãs, **Pollyanna e Camila**, que foram excelentes parceiras e companheiras durante toda uma vida, especialmente durante este último ano de doutorado. Nossos laços nunca serão desfeitos, continuaremos unidas.

A minha família cearense, a qual construí durante esses anos de doutorado e não posso largar jamais. **Luysa, Natália, Ellano, Ravena, Ana Luísa, Alê** vocês fizeram tudo ficar mais leve. Obrigada pela irmandade, paciência e carinho.

Ao melhor laboratório, **Zoobentos**, e as pessoas que o fazem ser tão lindo e aconchegante. Agradeço cada pessoa que me acolheu e me proporcionou lindos momentos neste lugar, especialmente na pessoa do nosso pai científico e salvador da pátria **Wilson** e a pós-doutora do sucesso **Kcrishna** pela paciência e carinhos nas correções.

A todos os alunos de graduação que direta e indiretamente foram envolvidos nesse processo. Como são vários não tenho como citar nomes, mas saibam que a colaboração de vocês foi valiosa e minha gratidão será eterna.

Aos amigos do Ceará, **Óscar e Júnior**, por tanto carinho e atenção para com meu projeto. Agradeço a amizade, que espero perdurar por toda uma vida.

Meu grupo de amigos queridos “Espuma do Mar”, **Alisson, Índira, Poli, Meire, Ju, Maga e Jadson**. Obrigada pela disponibilidade, parceria e compreensão durante esses 4 anos.

Ao Labomar por ofertar toda estrutura física e científica. Em especialmente ao Laboratório de Geologia Marinha, e minhas mães cearenses **Cida e Mônica**, por toda disponibilidade e especialmente pela compreensão e carinho.

Um agradecimento especial também a prof. **Vânia** por toda atenção e carinho em nossas parcerias.

A **Tallita Tavares**, pela disponibilidade, paciência e carinho durante nossas análises e construção do capítulo de microbiologia.

Ao meu trio de amigas fantásticas, minha diretoria e nosso quarteto. **Analice, Daniele e Andréa** obrigada pela compreensão e irmandade, especialmente, durante os momentos de ausência da amiga doutoranda. Obrigada pelo apoio de uma vida inteira.

Ao Prof. Dr. **Adauto**, in memoriam, por ter me estimulado na busca de conhecimentos na ciência pesqueira. Obrigada por ter me dado o prazer de conviver com o Senhor, mesmo que pouco tempo.

Aos membros desta banca, **Raul Cruz, Helena Matthews, Marquinhos e Guilherme Corte**, por toda atenção e colaboração para com este projeto.

À CAPES pela oferta da bolsa durante os 4 anos de execução deste projeto, o que foi essencial.

## RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de analisar a dinâmica populacional de *Anomalocardia flexuosa* em um estuário hipersalino do litoral da costa branca no Rio Grande do Norte. Durante o período de novembro de 2015 à outubro de 2017 foram recolhidas amostras de material biológico, sedimento para análises granulométricas, e aferidos os parâmetros abióticos (salinidade e temperatura) em 3 diferentes áreas do estuário Apodi/Mossoró. Uma área mais interna distante 9 km da foz (A), uma área intermediária (B) e uma área na região da foz deste estuário (C). A salinidade apresentou um padrão invertido decrescente dentro do estuário, onde os maiores valores de salinidade foram registrados em A. A caracterização granulométrica diferiu entre áreas e apresentou maior percentual de silte e argila na área B e maior percentual de areia na área C. A densidade de *A. flexuosa* diferiu entre áreas, onde A apresentou sempre os maiores valores, registrando até 4.728 ind/m<sup>2</sup>, e C os menores, com em média 370 ind/m<sup>2</sup>. A precipitação apresentou correlação positiva com a densidade de *A. flexuosa*. A hipersalinidade não limitou a distribuição e abundância da espécie, no entanto, a competição por espaço com uma pradaria de *Halodule wrightii*, estabelecida em C, restringiu a distribuição e densidade de *A. flexuosa*. O crescimento foi considerado rápido com ciclo de vida curto. O tamanho de maturidade sexual morfológica foi de 13,8 mm e concorda com o registrado na literatura. O recrutamento foi constante, porém com períodos de maior representatividade e abundância dos recrutas regulados pela sobrevivência de adultos em decorrência da competição por espaço e recurso. Deste modo, a abundância de *A. flexuosa* também interferiu nos processos estruturais desta população, ocasionando efeitos de denso-dependência. A mortalidade natural foi superior a mortalidade por pesca e a taxa atual de exploração por pesca não excedeu o limite máximo suportado pela espécie. No entanto, as projeções futuras de incremento na taxa de exploração indicam baixa produtividade. A comunidade de bactérias associadas a *A. flexuosa* foi diferente da microbiota da água e dos bivalves *Tivela mactroides* e *Phacoides pectinatus* e a hipersalinidade não interferiu na composição do microbioma de *A. flexuosa*. Assim, a espécie apresenta ampla tolerância as variações de diversos fatores abióticos, porém, fatores bióticos, como competição e predação por pesca podem estar influenciando a estrutura desta população.

**Palavras-chave:** competição, crescimento, recrutamento, rendimento sustentável.

## ABSTRACT

The present work was developed with the objective of analyzing the population dynamics of *Anomalocardia flexuosa* in a hypersaline estuary off the coast of the white coast in Rio Grande do Norte. During the period from November 2015 to October 2017 samples of biological material, sediment for particle size analysis, and abiotic parameters (salinity and temperature) were collected in 3 different areas of the Apodi/Mossoró estuary. An innermost area 9 km from the mouth (A), an intermediate area (B) and an area in the mouth of this estuary (C). The salinity showed a decreasing inverted pattern inside the estuary, where the highest values of salinity were recorded in A. The granulometric characterization differed between areas and presented a higher percentage of silt and clay in area B and greater percentage of sand in area C. The density of *A. flexuosa* differed between areas, where A presented always the highest values, registering up to 4,728 ind / m<sup>2</sup>, and C the lowest, with an average of 370 ind / m<sup>2</sup>. The precipitation showed a positive correlation with the density of *A. flexuosa*. Hypersalinity did not limit the distribution and abundance of the species, however, space competition with a prairie of *Halodule wrightii*, established in C, restricted the distribution and density of *A. flexuosa*. Growth was considered fast with a short life cycle. The morphological sexual maturity size was 13.8 mm and agrees with that recorded in the literature. Recruitment was constant, but with periods of greater representativeness and abundance of recruits regulated by the survival of adults as a result of competition for space and resource. Thus, abundance of *A. flexuosa* also interfered in the structural processes of this population, causing effects of dense dependence. Natural mortality was higher than fishing mortality and the current rate of fishing operation did not exceed the maximum limit borne by the species. However, future projections of increased farm rate indicate low productivity. The community of bacteria associated with *A. flexuosa* was different from the microbiota of the water and the bivalves *Tivela mactroides* and *Phacoides pectinatus* and the hypersalinity did not interfere in the composition of the *A. flexuosa* microbiome. Thus, the species presents a wide tolerance to the variations of several abiotic factors, however, biotic factors such as competition and predation by fishing may be influencing the structure of this population.

**Keywords:** competition, growth, recruitment, sustainable yield.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Localização geográfica do estuário Apodi-Mossoró, Grossos, Rio Grande do Norte (4° 56 '51 "S and 37° 08' 55" W) indicando os locais de amostragem definidos para este estudo.....30
- Figura 2** - Dimensões da concha de *Anomalocardia flexuosa* consideradas nas análises biométricas.....32
- Figura 3** – Médias mensais de salinidade das 3 áreas analisadas e precipitação pluviométrica durante o período de novembro de 2015 à outubro de 2017 para as regiões de influência do estuário Apodi-Mossoró.....33
- Figura 4** – Valores médios mensais de temperatura da água de percolação no sedimento das 3 áreas analisadas, no estuário Apodi-Mossoró, durante o período de novembro de 2015 à outubro de 2016.....34
- Figura 5** – Caracterização dos percentuais das frações granulométricas dos sedimentos coletados nas 3 áreas de amostragem do estuário Apodi-Mossoró durante o primeiro (a) e o segundo (b) ano de estudo.....35
- Figura 6** – Densidade populacional média de *Anomalocardia flexuosa* entre as áreas estudadas durante dois anos de amostragem (a = primeiro ano, b = segundo ano). As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.....36
- Figura 7** – Variações mensais da densidade populacional média de *Anomalocardia flexuosa* nas 3 áreas estudadas no estuário Apodi-Mossoró durante o período de novembro/2015 à outubro/2016 (a = primeiro ano) e novembro/2016 à outubro/2017 (b = segundo ano). As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.....38

- Figura 8** – Densidade populacional média de *A. flexuosa* entre zonas/transectos das 3 áreas analisadas durante dois anos de amostragem (a = primeiro ano, b = segundo ano) no estuário Apodi-Mossoró. As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.....39
- Figura 9** – Relação mensal de precipitação pluviométrica da região estuarina do rio Apodi-Mossoró com densidade populacional média de *A. flexuosa* durante o período de novembro/2015 à outubro /2017.....40
- Figura 10** – Correlação cruzada entre densidade populacional média de *A. flexuosa* e precipitação pluviométrica no estuário Apodi-Mossoró durante dois anos de amostragem.....41
- Figura 11** – Comprimento médio da concha de *A. flexuosa* nas 3 áreas analisadas no estuário Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte. As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.....42
- Figura 12** - Comprimento médio da concha de *A. flexuosa* entre zonas/transectos nas 3 áreas de amostragem no estuário Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte. As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.....42
- Figura 13** – Abundância de juvenis e adultos de *A. flexuosa* nas três diferentes áreas analisadas no Estuário Apodi-Mossoró durante o período de novembro de 2015 à outubro de 2017.....43
- Figura 14** – Curva de crescimento estimada, com as respectivas relações de idade x comprimento, para *Anomalocardia flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró, predita a partir da equação de crescimento de Von Bertalanffy.....80
- Figura 15** – Curva de Captura Linearizada ajustada para *Anomalocardia flexuosa* no estuário Apodi/Mossoró.....80
- Figura 16** – Variações mensais da taxa instantanea de mortalidade total (Z) de *Anomalocardia flexuosa* e precipitação pluviométrica no estuário Apodi-

Mossoró durante o período de novembro/2015 a outubro/2017.....82

**Figura 17** – Histogramas mensais de frequência de comprimento da concha de *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró durante o período de Novembro de 2015 à Outubro de 2016. As setas indicam as diferentes coortes observadas em cada mês.....83

**Figura 18** – Histogramas mensais de frequência de comprimento da concha de *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró durante o período de Novembro de 2016 à Julho de 2017. As setas indicam as diferentes coortes observadas em cada mês.....84

**Figura 19** – Variações mensais das taxas de recrutamento (R) e mortalidade total (Z) para *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró durante o período de novembro/2015 à outubro/2017.....85

**Figura 20** – Curvas de taxa de exploração (E) por Rendimento por Recruta (Y/R) e Biomassa por recruta (B'/R) em dois diferentes cenários de pesca (a e b) com diferentes tamanhos de captura ( $L_c$ ). a) cenário de pesca indicando  $L_c = 16$  mm de concha, b) cenário de pesca indicando  $L_c = 24$  mm de concha.  $E_{50}$  indica a taxa de exploração para 50% da biomassa virgem,  $E_{10}$  exploração em 10% da inclinação da curva e  $E_{max}$  taxa máxima de exploração sustentável.....86

**Figura 21** – Similaridades para a comunidade bacteriológica presente em diferentes partes do corpo do bivalve *Anomalocardia flexuosa* coletada em diferentes regiões de um estuário hipersalino do Rio Grande do Norte e em um estuário do Piauí, além das amostras de água dos locais e os referidos padrões das bandas em DGGE para cada uma das amostras. AT: tecido total de *A. flexuosa* coletada na área A, BT: tecido total de *A. flexuosa* coletada na área B, CT: tecido total de *A. flexuosa* coletada na área C, AB: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área A, BB: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área B, CB: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área C, TIMT: tecido total de *A. flexuosa* coletada no estuário

	Timonha/Ubatuba, TIMB: brânquia de <i>A. flexuosa</i> coletada no estuário Timonha/Ubatuba, WA: amostra de água da área A, WB: amostra de água da área B, WC: amostra de água da área C.....	109
<b>Figura 22 -</b>	Percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias presentes nas amostras do tecido branquial (Brânquia) e demais regiões (Total) do corpo de <i>A. flexuosa</i> no estuário hipersalino Apodi/Mossoró - RN.....	110
<b>Figura 23 -</b>	Percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias presentes nas amostras do tecido branquial de <i>A. flexuosa</i> coletadas em 3 diferentes regiões do estuário hipersalino Apodi/Mossoró. A: brânquia de <i>A. flexuosa</i> coletada na área A, B: brânquia de <i>A. flexuosa</i> coletada na área B, C: brânquia de <i>A. flexuosa</i> coletada na área C.....	111
<b>Figura 24 -</b>	Percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias presentes nas amostras de água coletadas em 3 diferentes regiões do estuário hipersalino Apodi/Mossoró. WA: amostra de água da área A, WB: amostra de água da área B, WC: amostra de água da área C.....	111
<b>Figura 25 -</b>	Análise de similaridade para a composição da microbiota associada a brânquia e as demais partes do corpo dos bivalves: <i>Anomalocardia flexuosa</i> , <i>Tivela mactroides</i> e <i>Phacoides pectinatus</i> .....	112
<b>Figura 26 -</b>	Percentual de ocorrências das diferentes famílias de bactérias associadas ao tecido de bivalves das espécies <i>Anomalocardia flexuosa</i> , <i>Tivela mactroides</i> e <i>Phacoides pectinatus</i> no estuário hipersalino Apodi/Mossoró - RN.....	113
<b>Figura 27 -</b>	Percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias associadas as brânquias dos bivalves <i>Anomalocardia flexuosa</i> ( <i>A. flexuosa</i> RN: amostra de brânquia do bivalve coletado no estuário Apodi/Mossoró, Rio Grande do Norte - RN, e <i>A. flexuosa</i> Piauí: amostra de brânquia do bivalve coletado no estuário Timonha/Ubatuba, Piauí) <i>Tivela mactroides</i> e <i>Phacoides pectinatus</i> .....	114

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Correlações entre variáveis abióticas e densidade populacional de *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró.....40
- Tabela 2** - Resultado da correlação de Spearman ( $r_s$ ) entre as variáveis abióticas e abundância de juvenis e adultos de *A. flexuosa* no Estuário Apodi-Mossoró. Os valores em negrito indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).....43
- Tabela 3** – Parâmetros da população de *Anomalocardia flexuosa* do estuário Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte.  $L_{\infty}$  indica o comprimento assintótico,  $K$  o parâmetro de curvatura do crescimento,  $R_n$  indica o ajuste do método computacional,  $\phi$  índice de performance de crescimento,  $Z$  taxa instantânea de mortalidade total,  $F$  taxa instantânea de mortalidade por pesca,  $M$  taxa instantânea de mortalidade natural,  $E$  taxa de exploração,  $t_{max}$  idade máxima.....79
- Tabela 4** – Taxas de exploração ( $E$ ) e estimativas dos Rendimentos por Recruta ( $Y/R$ ) e Biomassa por Recruta ( $B'/R$ ) em diferentes cenários de pesca (a e b) obtidos para *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró. Os valores em negrito representam as taxas definidas para as projeções de aumento e redução da taxa de exploração.....87
- Tabela 5** – Resumo das estimativas dos parâmetros populacionais de crescimento para *A. flexuosa* em diferentes regiões do Brasil, publicados durante os últimos 10 anos.....87

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	16
1.1 OBJETIVO GERAL DA TESE .....	20
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS DA TESE.....	20
CAPÍTULO I - Distribuição espaço-temporal de <i>Anomalocardia flexuosa</i> (Linnaeus, 1767) em um estuário hipersalino .....	26
2 INTRODUÇÃO.....	26
2.1 HIPÓTESE .....	28
2.2 OBJETIVOS.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4 RESULTADOS .....	32
5 DISCUSSÃO .....	43
6 REFERÊNCIAS .....	52
CAPÍTULO II.....	58
7 INTRODUCTION.....	58
8 MATERIAL AND METHODS.....	59
<b>Study area and sampling work</b> .....	59
<b><i>Morphometric Analysis</i></b> .....	60
<b><i>Determination of morphological sexual maturity</i></b> .....	61
9 RESULTS.....	61
10 DISCUSSION.....	62
11 REFERENCES .....	65
CAPÍTULO III - Dinâmica populacional e pesca de <i>Anomalocardia flexuosa</i> em um estuário hipersalino.....	72
12 INTRODUÇÃO.....	72
12.1 HIPÓTESE .....	73

	15
12.2 OBJETIVOS .....	73
13 MATERIAL E MÉTODOS.....	74
14 RESULTADOS .....	77
14.1 Dinâmica populacional de <i>Anomalocardia flexuosa</i> .....	77
14.2 Avaliação do estoque e determinação do rendimento por recruta máximo sustentável para o estoque de <i>Anomalocardia flexuosa</i> .....	84
15 DISCUSSÃO .....	87
16 REFERÊNCIAS .....	95
Capítulo IV – Relações simbióticas entre a <i>Anomalocardia flexuosa</i> e microbiota em um estuário hipersalino.....	100
17 INTRODUÇÃO.....	100
17.1 HIPÓTESE .....	101
17.2 OBJETIVOS .....	101
18 MATÉRIAS E MÉTODOS .....	102
19 RESULTADOS .....	107
19.1 PERFIL DO DGGE.....	107
19.2 SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO .....	108
20 DISCUSSÃO .....	113
21 REFERÊNCIAS .....	118
Considerações Finais .....	123

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O filo Mollusca apresenta uma alta diversidade, sendo portanto considerado o segundo mais diverso entre os filos. Devido ao desenvolvimento de adaptações para sobreviverem nas mais diversas condições abióticas, podem habitar ambientes terrestres, marinhos, estuarinos e de água doce (MATTHEWS-CASCON e ROCHA-BARREIRA, 2016).

A classe Bivalvia é exclusivamente aquática e sua principal característica é a presença de uma concha com duas valvas e o corpo comprimido lateralmente (GOSLING, 2003). Muitos são considerados excelentes bioindicadores ambientais, apresentam representantes com importância econômica, e são ecologicamente importantes dentro da caracterização trófica do ecossistema (PINTO, 2012; SILVA-CAVALCANTI, 2011).

Dentre estes representantes *Anomalocardia flexuosa* se destaca por ser uma das espécies mais exploradas e comercializadas em todo o litoral brasileiro (BOEHS, 2000). Habita regiões de sedimento lamoso ou areno-lodoso em áreas abrigadas, apresentando ampla distribuição geográfica, é euritérmica e eurialina, e bastante resistente as variações de oxigênio em ambientes anóxicos (NARCHI, 1974; RIOS, 2009; SCHAEFFER-NOVELI, 1980). É um bivalve dióico, sem dimorfismo sexual aparente, que apresenta reprodução contínua nas regiões tropicais (BARREIRA e ARAÚJO, 2005; LAVANDER *et al.*, 2011; LUZ e BOEHS, 2011).

O nome específico *Anomalocardia brasiliana*, designado por Gmelin em 1791, foi recentemente revisado (WORMS, 2019), atualmente, vem sendo reportada como *Anomalocardia flexuosa*, denominação atribuída por Linnaeus em 1767, respeitando-se a ordem de designação mais antiga.

Vários estudos ao longo do litoral brasileiro já foram desenvolvidos com *Anomalocardia flexuosa* no litoral de São Paulo (SCHAEFFER-NOVELI, 1980; CORTE *et al.*, 2015, 2017), em Santa Catarina (PEZZUTO e ECHTERNACHT, 1999), Bahia (LUZ e BOEHS, 2011), Paraíba (GROTTA e LUNETTA, 1980), Ceará (BARREIRA e ARAÚJO, 2005), Rio Grande do Norte (BELÉM *et al.*, 2013) e auxiliaram na compreensão das características biológicas e ecológicas da espécie.

Trabalhos experimentais desenvolvidos por Leonel *et al.* (1983) demonstram que a espécie é bastante resistente as variações de salinidade, apresentando tolerância entre 17 e 42. A capacidade de osmoregulação da *Anomalocardia flexuosa* em

condições de salinidades reduzidas foi analisada e demonstra que a condição de hiposalinidade pode interferir na reprodução por induzir o animal a destinar mais energia ao ajuste osmótico, devido ao estresse ao qual está sendo submetido (LIMA *et al.*, 2009). A espécie também já foi registrada em uma lagoa hipersalina no Rio de Janeiro, com salinidades que ultrapassam 60 (SILVA *et al.*, 2005). No entanto, trabalhos com enfoques direcionados a melhor compreensão sobre os efeitos que a hipersalinidade apresenta sobre as respostas funcionais dos organismos, a distribuição, desenvolvimento e a estrutura populacional deste bivalve ainda não foram desenvolvidos.

O bivalve *Anomalocardia flexuosa* é amplamente encontrado em elevadas densidades no litoral do estado do Rio Grande do Norte, que apresenta clima semiárido e concentra ambientes caracteristicamente em condições naturalmente hipersalinas. A alta taxa de evaporação, altas temperaturas e intensidade dos ventos nesta região (MEDEIROS, 2016) contribuem para que naturalmente este ambiente já seja caracterizado como um estuário invertido hipersalino, registrando salinidades elevadas durante praticamente todo o ano. E a condição de hipersalinidade em um estuário se estabelece justamente quando a taxa de evaporação excede a precipitação e o escoamento superficial (SAVENIJE e PAGES, 1992).

A salinidade pode atuar como um agente controlador da distribuição, riqueza e/ou diversidade da macrofauna (BASSLER-VEIT *et al.*, 2013; MARIANO e BARROS, 2015; MEDEIROS *et al.*, 2010; SERPE *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2005), e a condição de hipersalinidade pode interferir bem mais na estrutura da comunidade (VELASCO *et al.*, 2006). Junior *et al.* (2015) afirmam que a hipersalinidade dos estuários potiguares interferem no desenvolvimento da vegetação de mangue e conseqüentemente limita a biodiversidade animal, logo esses ambientes são ocupados por animais que conseguem resistir a estas condições. Assim como também pode alterar o metabolismo, crescimento, reprodução dos organismos aquáticos (FRAGA, 1972), abundância (ABRAHÃO *et al.*, 2010) e sobrevivência (LIMA *et al.*, 2009). As variações mais expressivas de salinidade podem interferir na capacidade de osmorregulação dos animais interferindo assim em sua fisiologia (LIMA *et al.*, 2009).

Estudos sobre a biologia de *A. flexuosa* relataram as interferências da redução da salinidade, durante o período chuvoso, sobre a densidade e aspectos estruturais das populações (BELÉM *et al.*, 2012; BARREIRA e ARAÚJO, 2005; CORTE, 2015). Contudo, as influências que os limites extremos de salinidade podem ocasionar sobre a

dinâmica populacional desta espécie ainda não foram analisadas.

Neste contexto, avaliar os aspectos da história de vida dos animais é de extrema importância especialmente em ambientes que apresentam condições adversas, como os ambientes hipersalinos, para compreender melhor os limites de tolerância das espécies, assim como para entender os fatores que regulam as populações. Corte *et al.* (2017), analisando a dinâmica populacional de *A. flexuosa* em duas praias com características morfodinâmicas distintas constataram diferenças entre os parâmetros populacionais das duas localidades, relacionadas especialmente aos fatores da hidrodinâmica dos ambientes. A caracterização atribuída para ambientes, definidos como praias arenosas, oceânicas pode não ser adequada para analisar influências do meio sobre a dinâmica de populações de bivalves que habitam regiões protegidas, como baías e estuários. Porém, o referido estudo demonstra que os fatores abióticos exercem forte influência sobre a estrutura das populações.

A reprodução é um aspecto preponderante dentro da ecologia de populações de qualquer organismo, especialmente se são explorados comercialmente. As variáveis ambientais também exercem influências sobre o ciclo reprodutivo das espécies (GROTTA e LUNETTA, 1980). Segundo Barreira e Araújo (2005), a salinidade é um dos fatores abióticos que regula o ciclo reprodutivo de *A. flexuosa*, assim como também para a ostra *Crassostrea virginica* (ASCENCIO *et al.*, 2016). De acordo com Corte (2011), uma espécie pode apresentar características reprodutivas que diferem entre locais dependendo das condições do meio em que vive.

Diante desses aspectos, o questionamento central deste estudo está relacionado as interferências que a hipersalinidade pode ocasionar na estrutura desta população de bivalve. Assim, o que estamos investigando é se a hipersalinidade pode intervir na distribuição e na dinâmica populacional de *A. flexuosa* e quais fatores regulam esta população em condições extremas de elevados valores de salinidade.

Outros aspectos que podem ser avaliados dentro da ecologia populacional de uma espécie são as interações biológicas existentes entre os organismos para compensar possíveis desvantagens ambientais. As relações de simbiose entre bactérias quimiossintéticas e bivalves estão sendo bastante documentadas atualmente, e relacionadas especialmente ao aporte energético e a nutrição dos organismos. Os avanços da biologia molecular estão permitindo sequenciamento e determinação dos referidos táxons de bactérias associadas aos organismos marinhos (CHEN *et al.*, 2016).

Bivalves que apresentam tais relações de simbiose necessitam das bactérias para

conseguirem assimilar produtos orgânicos a partir da conversão de carbono ou nitrogênio pelas bactérias (PETERSEN *et al.*, 2016). As endosimbioses em Lucinidae são bastante estudadas. A família apresenta representantes que concentram bactérias nas brânquias, que são essenciais para absorção dos nutrientes em ambientes anóxicos e ricos em sulfídricos (DUPERRON *et al.*, 2013; TAYLOR e GLOVER, 2006; KONIG *et al.*, 2016). As bactérias podem ser adquiridas do ambiente ou repassadas de geração para geração (BRISSAC *et al.*, 2009). Estas relações são ainda mais importantes em ambientes com maiores salinidades, como a água do mar, que apresenta elevadas concentrações de sulfatos (BOLHUIS *et al.*, 2014).

Para alguns bivalves filtradores, que apresentam simbioses com bactérias, existem trabalhos que enfocam essas relações como sendo estratégias auxiliares para nutrição (KRUEGER *et al.*, 1992). Em condições limitantes, essas relações simbióticas podem beneficiar e melhorar o estabelecimento das espécies, já que alguns microrganismos apresentam maiores resistências em ambientes extremos. Estudos desenvolvidos em regiões temperadas, em manguezais, ambientes profundos, fontes hidrotermais e pradarias marinhas já demonstram a importância deste tipo de interação biológica entre bactérias e invertebrados marinhos (BRISSAC *et al.*, 2010; DUBILIER *et al.*, 2008).

Desta forma, avaliar a composição da microbiota associada aos invertebrados em ambientes hipersalinos é importante para compreender melhor estes tipos de relações interespecíficas em ambientes costeiros, especialmente aqueles considerados extremos. Assim o que se busca também compreender neste trabalho é se a hipersalinidade interfere na composição da microbiota associada a *A. flexuosa* e se tal microbiota difere das associações presentes em outros bivalves.

Considerando que esta espécie é um importante recurso de conotação socioeconômica, não se pode negligenciar os efeitos da pesca sobre a estrutura desta população explorada comercialmente. A captura de recursos estuarino/costeiros apresenta múltiplos impactos sobre a estrutura das populações e o funcionamento do ecossistema como um todo, causando, especialmente, ao nível da espécie alvo, modificações sobre abundância e estrutura etária e de tamanho dos estoques pesqueiros (BLABER *et al.*, 2000). Interferindo assim nos processos de crescimento, reprodução e mortalidade que regulam as populações.

No litoral da costa branca, região a qual a presente área de estudo está inserida, muitas comunidades tradicionais sobrevivem da exploração de recursos naturais e *A.*

*flexuosa* apresenta um importante papel dentro deste contexto. Esta espécie faz parte da dieta da maioria das famílias que habita esta região, sendo também uma importante fonte de renda. No entanto, a pesca deste recurso ocorre sem monitoramento, controle e fiscalização (SILVA *et al.*, 2014).

Defeo (2003) reforça que a ausência de estudos, informando os efeitos desta atividade sobre os aspectos da história de vida das espécies exploradas, pode, inclusive, dificultar a tomada de decisão, e inadequação das corretas estratégias de manejo pesqueiro. Desta forma, os estudos de dinâmica de populações de espécies exploradas são essenciais para a gestão dos recursos pesqueiros.

Portanto, aspectos da ecologia populacional deste bivalve, como distribuição, crescimento, reprodução, mortalidade, e interações biológicas com microrganismos serão avaliados. Aliados a isto, o estado de exploração deste importante estoque pesqueiro e assim os possíveis efeitos da pesca também serão abordados no presente estudo. Todos estes aspectos facilitarão na melhor compreensão sobre os fatores que regulam o estabelecimento desta população em condições de hipersalinidade e adequada exploração.

## **1.1 OBJETIVO GERAL DA TESE**

Avaliar os atributos populacionais, aspectos da história de vida e fatores bióticos e abióticos que interferem no estabelecimento da população de *Anomalocardia flexuosa* em um ambiente hipersalino.

## **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS DA TESE**

- Avaliar a distribuição espaço-temporal de *Anomalocardia flexuosa* em três diferentes áreas de um estuário hipersalino;
- Verificar a possível relação de fatores ambientais (salinidade, temperatura, composição granulométrica do sedimento, pluviosidade) com a densidade e distribuição de *Anomalocardia flexuosa*;
- Determinar o tamanho de maturidade sexual morfológica e características morfométricas da espécie para esta área de estudo;
- Avaliar a dinâmica populacional desta espécie considerando, especialmente, os aspectos sobre crescimento, mortalidade, recrutamento e estimativa de vida;
- Analisar a interferência da pesca sobre os aspectos populacionais, especialmente associados ao crescimento, mortalidade e recrutamento deste bivalve;

- Definir a taxa de exploração máxima e o rendimento máximo sustentável do estoque, através de modelos de avaliação de estoques pesqueiros, e assim analisar os efeitos da pesca sobre o estado de conservação de *A. flexuosa* nesta área.
- Realizar projeções para diferentes cenários de pesca com aumento e redução da taxa de exploração e assim observar a possível influência sobre o rendimento e biomassa do estoque pesqueiro;
- Caracterizar a composição da microbiota associada a *A. flexuosa* neste estuário hipersalino e assim verificar a similaridade com as amostras de água do ambiente e com o microbioma de outros bivalves.

Os aspectos de distribuição espaço-temporal serão inicialmente abordados e discutidos no capítulo I.

O capítulo II aborda aspectos do crescimento da concha de *A. flexuosa* verificando as análises morfométricas e determinando o tamanho de maturidade sexual morfológica para esta espécie. Este capítulo foi submetido a revista Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom e segue os padrões exigidos pela revista.

O capítulo III tem como objetivo descrever todos os demais aspectos da dinâmica populacional desta espécie e com isso avaliar efeitos da pesca e da hipersalinização das águas deste estuário sobre o desenvolvimento deste bivalve. Conta ainda com a avaliação do estado de exploração deste importante estoque pesqueiro, verificando o rendimento frente a taxa de exploração submetida atualmente e projeções futuras com oscilações desta taxa. Para concluir, o capítulo IV apresenta o enfoque sobre a composição da microbiota associada a *A. flexuosa* buscando compreender as influências da condição de salinidades elevadas sobre os organismos que apresentam, possível, simbiose com esta espécie.

## REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, J. R.; CARDOSO, R. S.; YOKOYAMA, L. Q.; AMARAL, C. Z. Population biology and secondary production of the stout razor clam *Tagelus plebeius* (Bivalvia, Solecurtidae) on a sandflat in southeastern Brazil. **Zoologia**, v.27, n.1, 54-64, 2010.

ASCENCIO, L. A. A.; ENRÍQUEZ, M. D.; MARTÍNEZ, I. M.; ALDANA, D. A. Efecto de la temperatura y la salinidad en el ciclo reproductor de hembras y machos de *Crassostrea virginica* (Bivalvia: Ostreidae). **Revista de Biología Tropical**, v.64, n.2, 449-459, 2016.

BARREIRA, C. A. R. e ARAÚJO, M.L.R. Ciclo reprodutivo de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, vol. 31, no. 1, 9-20, 2005.

BASSLER-VEIT, B.; BARUT, I. F.; MERIC, E.; AVSAR, N.; NAZIK, A.; KAPAN-YESILYURT, S.; YILDIZ, A. Distribution of microflora, meiofauna, and macrofauna assemblages in the hypersaline environment of Northeastern Aegen Sea Coasts. **Journal of Coastal Research**, v.29, n.4, 883-898, 2013.

BELÉM, T. P.; MOURA, R. S. T.; HENRY-SILVA, G. G. Distribuição e densidade do bivalve *Anomalocardia flexuosa* em praias do Rio Grande do Norte durante um período de pluviosidade atípica. **Biotemas**, v.26, n.1, 109-122, 2007.

BLABER, S. J. M.; CYRUS, D. P.; ALBARET, J. J.; CHING, C. V.; DAY, J. W.; ELLIOTT, M.; FONSECA, M. S.; HOSS, D. E.; ORENSANZ, J.; POTTER, I. C.; SILVERT, W. Effects of fishing on the structure and functioning of estuarine and nearshore ecosystems. **Journal of Marine Science**, v.57, 590-602, 2000.

BOEHS, G. **Ecologia populacional, reprodução e contribuição em biomassa de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Bivalvia: Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil**. 201 f. Tese (Doutorado em Zoologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

BOLHUIS, H.; CRETOIU, M. S.; STAL, L. J. Molecular ecology of microbial mats. **Microbiol Ecol.**, v.90, 335-350, 2014.

BRISSAC, T.; GROS, O.; MERÇOT, H. Lack of endosymbiont release by two *Lucinidae* (Bivalvia) of the genus *Codakia*: consequences for symbiotic relationships. **Microbiol Ecol**, v.67, 261-267, 2009.

CHEN, H.; LIU, Z.; SHI, Y.; DING, H. H. Microbiological analysis and microbiota in oyster: a review. **ISJ**, v.13: 374-388, 2016.

CORTE, G. N. **Biologia populacional e reprodutiva de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Bivalvia: Veneridae)**. 120f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CORTE, G. N. Reproductive cycle and parasitism in the clam *Anomalocardia flexuosa* (Bivalvia: Veneridae). **Invertebrate Reproduction e Development**, 37-41, 2015.

CORTE, G. N.; COLEMAN, R. A.; AMARAL, A. C. Z. Environmental influence on population dynamics of the bivalve *Anomalocardia flexuosa*. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 187, 241-248, 2017.

DEFEO, O. Marine invertebrate fisheries in Sandy beaches: an overview. *Journal of Coastal Research*, v.35, 56-65, 2003.

DUBILIER, N.; BERGIN, C.; LOTT, C. Symbiotic diversity in marine animals: the art of harnessing chemosynthesis. **Nature**, v.6, 725-740, 2008.

DUPERRON, S.; GAUDRON, S. M.; RODRIGUES, C. F.; CUNHA, M. R.; DECKER, C.; OLU, K. An overview of chemosynthetic symbioses in bivalves from the North Atlantic and Mediterranean Sea. **Biogeosciences**, v.10, 3241-3267, 2013.

FRAGA, F. El água marina. In: CASTELLI, J. **Ecologia marina**. Caracas: Fundación La Salle de Ciencias Naturales, 1972. 67-99.

MATTHEWS-CASCON, H. e ROCHA-BARREIRA, C. A. Mollusca. In: FRANSOZO, A.; NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. **Zoologia dos invertebrados**. Rio de Janeiro: Editora Roca. 2016.

GOSLING, E. **Bivalve Molluscs: biology, ecology and culture**. Fishing News Books Oxford 443p, 2003.

GROTTA, M. e LUNETTA, J.E. Ciclo sexual de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) do litoral do Estado da Paraíba. **Revista Nordest. Biol**, v.3, n.1, 5-55.,1980.

HICKMAN, C. S. Mollusc-Microbe mutualisms extend the potential for life in hypersaline systems. **Astrobiology**, v.3, n.3, 2003.

JUNIOR, T.; EDBERSON, E.; FERREIRA, B. A etnogeomorfologia como proposta de análise dos desertos salinos do litoral setentrional do estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. **Revista do Ceres**, v.1, n.2, 2015.

KONIG, S.; GROS, O.; HEIDEN, S. E.; HINZKE, T.; THURMER, A.; POEHLEIN, A.; MEYER, S.; VATIN, M.; MBÉGUIÉ-A-MBÉGUIÉ, D.; TOCNY, J.; PONNUDURAI, R.; DANIEL, R.; BECHER, D.; SCHWEDER, T.; MARKERT, S. Nitrogen fixation in a chemoautotrophic lucinid symbiosis. **Nature Microbiology**, v.2, n.16193, 2016.

KRUEGER, D. M.; GALLAGER, S. M.; CAVANAUGH, C. M. Suspension feeding on phytoplankton by *Solemya velum*, a symbiont-containing clam. **Marine Ecology Progress Series**, v.86, 145-151, 1992.

LAVANDER, H. D.; JÚNIOR, L. O. C.; OLIVEIRA, R. L.; NETO, S. R. S.; GALVEZ, A. O.; PEIXOTO, S. R. M 2011 Biologia reprodutiva da *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) no litoral norte de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.2, 344-350, 2011.

LEONEL, R. M. V.; MAGALHÃES, A. R. M.; LUNETTA, JE. Sobrevivência de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Mollusca: Bivalvia) em diferentes salinidades. **Bol. Fisiol. Animal Univ. S. Paulo**, v. 7, 63-72, 1983.

LIMA, M. A.; SOARES, M. O.; PAIVA, C. C.; OSÓRIO, F. M.; PORFÍRIO, A. F.; MATTHEWS-CASCON, H. Osmorregulação em moluscos: o caso do bivalve estuarino tropical *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767). **Conexões: Ciência e Tecnologia**, v. 3, 79-84, 2009.

LUZ, J. R.; BOEHS, G. Reproductive cycle of *Anomalocardia flexuosa* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) in the estuary of the Cachoeira River, Ilhéus, Bahia. **Braz. J. Biol.**, v.71, n.3, 679-686, 2011.

MARIANO, D. L. S.; BARROS, F. Intertidal benthic macrofaunal assemblages: changes in structure along entire tropical estuarine salinity gradients. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v.95, n.1, 5-15, 2015.

MEDEIROS, A. M. A.; BARBOSA, J. E. L.; MEDEIROS, P. R.; ROCHA, R. M.; SILVA, L. F. Salinity and freshwater discharge determine rotifer distribution at the Mossoró River Estuary (Semiarid Region of Brazil). **Braz. J. Biol.** v.70, n.3, 551-557, 2010

MEDEIROS, D. H. **Ambientes hipersalinos no litoral semiárido brasileiro: zona estuarina do rio Apodi-Mossoró (RN)**. 151f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2016.

NARCHI, W. Aspectos ecológicos e adaptativos de alguns bivalves do litoral paulista. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 27, n.19, 235-262, 1974.

PETERSEN, J. M.; KEMPER, A.; GRUBER-VODICKA, H.; CARDINI, U.; GEEST, M. V. D.; KLEINER, M.; BULGHERRESI, S.; MURBMANN, M.; HERBOLD, C.; SEAH, B. K. B.; ANTONY, C. P.; LIU, D.; BELITZ, A.; WEBER, M. Chemosynthetic symbionts of marine invertebrate animals are capable of nitrogen fixation. **Nature Microbiology**, v.2, n.16195, 2016.

PEZZUTO, P.R. & A.M. ECHTERNACHT. Avaliação de impactos da construção da Via Expressa SC-Sul sobre o berbigão *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Mollusca: Pelecypoda) na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé (Florianópolis, SC -Brasil). **Atlântica**, v.21, 105-119, 1999.

PINTO, S. L. **Os moluscos *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) e *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) como bioindicadores de poluição orgânica no estuário da**

**Bacia do Pina, Recife-PE, Brasil.** 114f. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

RIOS, E. 2009. **Compendium of Brazilian Sea Shells.** Rio Grande, RS. 668 p.

SAVENIJE, H. H. G.; PAGES, J. Hypersalinity: a dramatic change in the hydrology of Sahelian estuaries. **Journal of Hydrology**, v.135, 157-174, 1992.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Análise populacional de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767), na praia do Saco da Ribeira, Ubatuba, Estado de São Paulo. **Bol. Inst. Oceanogr.**, v.29, n.2, 351-355, 1980.

SERPE, F. R.; ADLOFF, C. T.; CRISPIM, M. C.; ROCHA, R. M. Comunidade zooplancônica em um estuário hipersalino no nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Eng. Pesca**, v.5, n.3, 51-73, 2010.

SILVA, E.; SOARES-GOMES, A.; FERNANDES, F.; ABREU, C. M. Sandy beach macrobenthos assemblages at an hypersaline coastal lagoon, Lagoa de Araruama, RJ, Brazil. **Journal of Coastal Research**. v.42, 265-270, 2005.

SILVA-CAVALCANTI, J. S. **Biologia e exploração de *Anomalocardia flexuosa* por populações de ribeirinhos no estuário do Rio Goiana (PE-PB) nordeste do Brasil.** 177f. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SILVA, H. G.; COSTA, R. S.; BELEM, T. P.; RODRIGUES, A. M. L.; MOURA, R. S. T.; MARTINS, L. P. C.; DIAS, L. P.; SILVA, C. F.; OLIVEIRA, I. Ecologia populacional e manejo pesqueiro de *Anomalocardia flexuosa*. In: SILVA, H. G.; CAROLSFELD, J.; GÁLVEZ, A. O. **Gente da maré: aspectos ecológicos e socioeconômicos da mariscagem no Nordeste Brasileiro.** Mossoró: EdUFERSA, 2014.

TAYLOR, J. D.; GLOVER, E. A. Functional anatomy, chemosymbiosis and evolution of the Lucinidae. In: HARPER, E. M., TAYLOR, J. D. & CRAME, J. A. (eds) **The Evolutionary Biology of the Bivalvia.** Geological Society, London, Special Publications, 177, 207-225.2006.

VELASCO, J.; MILLÁN, A.; HERNÁNDEZ, J.; GUTIÉRREZ, C.; ABELLÁN, P.; SÁNCHEZ, D.; RUIZ, M. Response of biotic communities to salinity changes in a Mediterranean hypersaline stream. **Saline Systems**, v.2, n.12, 2006.

WORLD REGISTER OF MARINE SPECIES (WORMS). Worms taxon details: *Anomalocardia flexuosa*. Disponível em: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=215265>. Acesso: 2019.

# CAPÍTULO I - Distribuição espaço-temporal de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) em um estuário hipersalino

## 2 INTRODUÇÃO

Os estuários são ambientes de transição entre as zonas marítimas e terrestres. Considerados ambientes bastante dinâmicos, onde as forças das descargas fluviais e ações das correntes marinhas controlam as modificações naturais destas regiões. Apresentam elevada produtividade, com acúmulo de nutrientes, e alta diversidade, uma vez que, muitas espécies utilizam estas áreas como zonas de reprodução, berçários, alimentação e abrigo (MIRANDA, 2002). Neste contexto, os moluscos apresentam grande destaque, já que muitas espécies conseguem se estabelecer e apresentam importância ecológica e econômica dentro do ecossistema estuarino.

*Anomalocardia flexuosa* é uma espécie de molusco bivalve lamelibrânquio, pertencente à família Veneridae, com concha de formato triangular, podendo atingir até 45 mm de comprimento da concha, e apresenta ampla distribuição geográfica (RIOS, 2009), sendo encontrada em praticamente todo o litoral brasileiro. Bem aceita no consumo humano, de fácil localização e captura, o que justifica sua intensa exploração comercial e de subsistência em diversas regiões do país (PEZZUTO e ECHTERNACHT, 1999).

Esta espécie apresenta ampla resistência as diferentes condições ambientais (BOEHS, 2000), podendo suportar variações de salinidade entre 17 e 42, com ótimo em torno de 22 (LEONEL, 1983), condições anóxicas e períodos de exposição prolongados (BOEHS, 2000; SCHAEFFER-NOVELLI, 1980). Formando, ainda, bancos com elevadas densidades, em regiões de baías, estuários e entremarés (BOEHS *et al.*, 2008). No entanto, os fatores que regulam estes limites amplos de tolerância, estabelecimento e desenvolvimento da espécie em diferentes condições ambientais ainda não são completamente compreendidos. Diante disto, os estudos populacionais são de extrema relevância para avaliação dos diversos fatores que interferem nos padrões de distribuição da espécie.

O comportamento dos indivíduos, em escalas temporais e espaciais, pode ser investigado a partir do conhecimento dos aspectos estruturais da população

(abundância, crescimento, reprodução) (CORTE, 2011). A distribuição de invertebrados bentônicos em ambientes inconsolidados pode ser regulada por fatores biológicos (reprodução), assim como também fatores abióticos do meio (granulometria, matéria orgânica, hidrodinamismo) (MCLACHLAN, 1983). Algumas variáveis ambientais se tornam mais limitantes e regulam a distribuição dos indivíduos nos ambientes aquáticos, e esses fatores podem diferir dependendo das condições de cada local (PINTO, 2012). A temperatura e salinidade são fatores que regulam a distribuição e abundância de moluscos em escalas locais e regionais. Em regiões estuarinas, a salinidade é o principal fator que limita a distribuição (GOSLING, 2003). Barroso e Matthews-Cascon (2009), avaliando a distribuição da malacofauna em um estuário do nordeste brasileiro, verificaram que *A. flexuosa* apresenta ampla distribuição ao longo de toda a região estuarina, no entanto, com menor tolerância aos valores reduzidos de salinidade, que pode indicar que condições hiposalinas interferem a distribuição desta espécie.

Apesar de ser uma espécie bastante estudada, devido, sobretudo, sua importância econômica, trabalhos com enfoques sobre a influência de fatores abióticos sobre sua distribuição e abundância ainda são escassos (CORTE, 2011). Especialmente considerando os limites de tolerâncias às elevações extremas de salinidade, condição ambiental muito acentuada nos estuários do litoral do semiárido brasileiro. Maia *et al.* (2017) observando a sobrevivência desta espécie em experimentos com diferentes salinidades verificaram maior sobrevivência nas faixas de salinidade entre 15 e 45 mg. L<sup>-1</sup> com mortalidades mais expressivas acima e abaixo desta faixa de variação.

Os ambientes hipersalinos, os quais registram valores de salinidade acima da salinidade marinha (LARGIER, 2010), são considerados comuns no litoral dos estados do Rio Grande e parte do Ceará, especialmente devido as condições climáticas da região e dos barramentos dos rios. Nestes ambientes, a ação da maré permite a comunicação entre a região oceânica e as áreas interiores do continente, e a vazão fluvial, bastante reduzida, não permite que a água do mar seja diluída pela água doce (PINHEIRO e MORAIS, 2010), o que favorece a salinização dos corpos d'água.

É sabido que a hipersalinidade afeta a diversidade fitoplanctônica (BARBOSA *et al.*, 2001) e limita o desenvolvimento do manguezal desta zonas estuarinas (COSTA, 2010; MEDEIROS, 2016). No entanto, ainda se conhece muito pouco sobre os efeitos que tais condições podem gerar sobre a distribuição e desenvolvimento de bivalves estuarinos. Logo, buscando-se compreender um pouco mais sobre as influências que a hipersalinidade pode ocasionar sobre as características populacionais de *A. flexuosa* e

verificar quais fatores ambientais regulam a abundância desta espécie em condições de hipersalinização das zonas estuarinas é que este estudo foi desenvolvido.

## 2.1 HIPÓTESE

A condição de hipersalinidade limita a distribuição espacial e abundância de *Anomalocardia flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte.

## 2.2 OBJETIVOS

### *Objetivo Geral*

Avaliar aspectos da estrutura populacional de *Anomalocardia flexuosa*, enfocando distribuição espacial horizontal e densidade populacional em um estuário hipersalino.

### *Objetivos específicos*

- Avaliar as variações de abundância de *Anomalocardia flexuosa* em 3 diferentes áreas de um estuário hipersalino, levando em consideração um gradiente inverso de salinidade;
- Verificar quais fatores abióticos, dentre salinidade, temperatura, composição sedimentológica do substrato e pluviosidade, influenciam a distribuição espaço-temporal de *Anomalocardia flexuosa* na condição de hipersalinidade;
- Observar se existem variações de densidade populacional e comprimento da concha dentro e entre cada área amostrada;
- Verificar quais fatores ambientais regulam a abundância de indivíduos considerando adultos e juvenis.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### *Caracterização da área de estudo*

O local selecionado para a realização deste trabalho foi o estuário Apodi/Mossoró, localizado entre os municípios de Mossoró, Grossos e Areia Branca no litoral oeste do Rio Grande do Norte, que abrange uma área de 244 km<sup>2</sup> (Figura 1). O Rio Apodi-Mossoró é intermitente, e corta as regiões do Alto Oeste e Mossoroense do Rio Grande do Norte (ROCHA *et al.*, 2011a).

A região da costa branca, onde o estuário está inserido, apresenta clima semiárido, com precipitações pluviométricas bastante reduzidas e temporárias e

elevadas temperaturas durante praticamente todo o ano, que favorece a intensa evaporação (DINIZ e VASCONCELOS, 2017). A reduzida vazão do rio e a intensa influência marítima fazem com que o estuário seja dominado pelo regime das marés (MEDEIROS *et al.*, 2018a; ROCHA *et al.*, 2011a). O Rio Apodi-Mossoró é um raso e plano, características estas que aliadas as condições climáticas favorecem a hipersalinização do solo e das águas desta região estuarina (ROCHA *et al.*, 2009), sendo considerado um ambiente naturalmente hipersalino devido ao aprisionamento da água salgada (DINIZ e VASCONCELOS, 2017), onde um gradiente inverso de salinidade é estabelecido ao longo do estuário (MEDEIROS *et al.*, 2010). Esta condição ambiental favorece a intensa produção natural de sal marinho observada nesta região.

O período chuvoso é curto e compreende os meses de fevereiro a maio, com baixos índices de precipitação. Assim, durante a maior parte do ano, o estuário praticamente não recebe descarga fluvial, o que faz com a água salina não seja diluída pela água doce das chuvas, tornando-se hipersalino durante todo o ano (MEDEIROS *et al.*, 2018b; PINHEIRO e MORAIS, 2010). Desta forma, o perfil de salinidade é estabelecido a partir do balanceamento entre evaporação e precipitação, este último quando deficiente institui esse padrão negativo ou invertido longitudinalmente (SAVENIJE e PAGES, 1992; MIRANDA, 1983). Valores de salinidade acima dos valores oceânicos, seguindo a proposta de Hammer (1986), definem ambientes hipersalinos, que registram valores acima de 40 de salinidade.

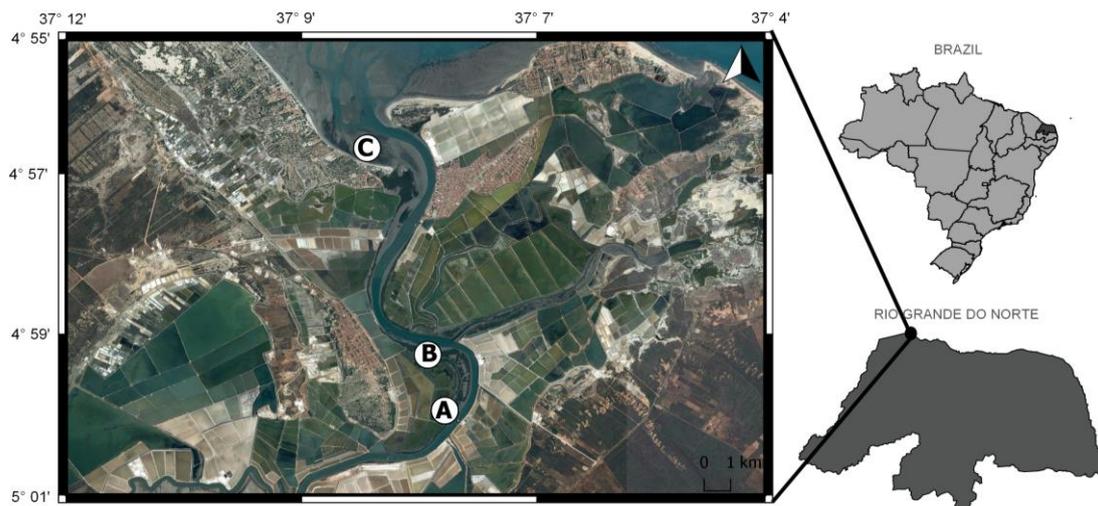


Figura 1 - Localização geográfica do estuário Apodi-Mossoró, Grossos, Rio Grande do Norte (4° 56 '51 "S and 37° 08' 55" W) indicando os locais de amostragem definidos para este estudo.

#### *Procedimentos de campo*

As amostragens ocorreram mensalmente, entre novembro de 2015 a outubro de 2017, em 3 diferentes áreas do estuário, levando em consideração um gradiente inverso de salinidade, a ocorrência da espécie e a acessibilidade para a execução da metodologia de coleta. A Figura 1 mostra a localização das 3 regiões amostradas, que compreende uma área superior no estuário, distando aproximadamente 9 km da foz (A), uma área intermediária com 1 km de distância da área A (B) e uma terceira área localizada na foz, na praia da Barra no município de Grossos (C). Nas áreas A e B, as coletas foram realizadas em bancos areno-lamosos, localizados em direção montante no rio, que ficam expostos durante o período de maré baixa, enquanto que na área C ocorreram na região intertidal de uma praia estuarina dentro de uma pradaria de angiospermas marinhas recém estabelecida.

Em cada uma das áreas de coleta, foram distribuídas três transecções de 50 m cada (T1, T2 e T3), paralelas ao curso do rio, distando entre si 10 m, onde a primeira é a mais próxima da linha d'água. Em cada transecto, três amostras equidistantes contendo exemplares de *Anomalocardia flexuosa* foram coletadas, somando 9 amostras por área e assim 27 amostras por mês. As amostras foram coletadas utilizando-se um quadrado de 50x50 cm e uma pá enterrada no substrato cerca de 10 cm de profundidade, para a coleta de todo material biológico presente. O sedimento escavado na área do quadrado

foi colocado em malha de 1 mm de abertura, sendo posteriormente lavado e acondicionado em saco plástico. Em cada um dos 9 pontos de cada área foram recolhidas uma amostra de sedimento para o para análise granulométrica e também aferidas a salinidade, com auxílio de um refratômetro, e temperatura da água de percolação do sedimento, usando-se um termômetro digital.

#### *Procedimentos de laboratório*

As amostras foram direcionadas ao Laboratório de Zoobentos no Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará para triagem e separação dos espécimes de *Anomalocardia flexuosa*, contagem e biometria dos exemplares capturados. Em cada indivíduo, foram mensuradas 3 diferentes dimensões da concha (comprimento, altura e largura). O eixo ântero-posterior define o comprimento total, o eixo dorso-ventral (região do umbo à margem ventral) caracteriza a altura, e a distância entre as duas valvas, representa a largura (STANLEY, 1970) (Figura 2).

As análises granulométricas foram desenvolvidas no Laboratório de Oceanografia Geológica deste mesmo instituto. As amostras do sedimento foram inicialmente secas em estufa à temperatura de 60 °C. Após secagem, as amostras foram quarteadas e pesadas 100 gramas de cada para o peneiramento úmido e separação das frações de sedimento fino (silte+argila) das frações de areia. A seguir, as frações de areia foram separadas através de peneiramento seco em peneiras com malhas de diferentes aberturas, seguindo a metodologia proposta por Wentworth (1922 *apud* Suguio, 1973). O percentual de cada fração, tamanho do grão e a classificação textual do sedimento foram obtidos após processamento dos dados no programa SYSGRAM 3.0 (CAMARGO, 2005).

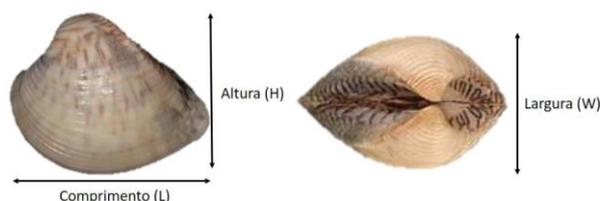


Figura 2 - Dimensões da concha de *Anomalocardia flexuosa* consideradas nas análises biométricas.

### *Análise dos dados*

Os dados foram inicialmente investigados através de uma análise exploratória, onde foi possível verificar a normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnoff), homocedasticidade (teste Levene e observações dos resíduos) e a relação entre as variáveis, assim como também a possível influência de outliers no conjunto de dados.

Análises descritivas e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foram utilizados para descrever as variações dos fatores abióticos entre áreas e transectos. A densidade populacional foi calculada mensalmente com base no número de indivíduos em cada ponto amostrado e posteriormente extrapolada para m<sup>2</sup>. As médias obtidas em cada área, cada transecto por área, e variações mensais de densidade e comprimento médio dos indivíduos, para os dois anos de estudo, foram então comparadas através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, utilizando-se os softwares Past 3.23 (HAMMER, 1999) e R 3.5.0 (R CORE TEAM, 2018).

O coeficiente de Correlação de Spearman foi calculado para verificar as relações entre as variáveis bióticas e abióticas e uma análise de Correlação Cruzada foi utilizada para avaliar os efeitos temporais da precipitação sobre a densidade de organismos capturados.

Os dados referentes às precipitações pluviométricas foram obtidos “*online*” junto a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (Emparn). A precipitação média para os municípios de Mossoró, Grossos e Areia Branca, que compreendem a zona de transição estuarina, foi calculada e utilizada na análise dos dados.

Para avaliar a abundância de juvenis e adultos entre áreas, além de correlacioná-las com variáveis abióticas, os dados de comprimento foram agrupados em duas diferentes categorias. Para isto, o limite de categorização utilizado foi o tamanho de maturação definido nas análises morfométricas do capítulo 2 (ver adiante), onde indivíduos até 13,7 mm foram considerados juvenis e acima deste valor os adultos.

## **4 RESULTADOS**

### *Abióticos*

Durante todo o período de estudo, a salinidade apresentou amplitude de variação de 24 a 59 na área A, 27 a 50, na área B e de 35 a 46 na área C. Os valores mínimos foram registrados durante o início do primeiro semestre e os valores máximos no

segundo semestre em todas as áreas analisadas (Figura 3), com diferenças significativas ( $p < 0,05$ ;  $H = 22,59$ ) entre as médias de salinidade entre áreas, assim como também entre os meses (Área A:  $p = 0,0006$   $H = 35,89$ ; Área B:  $p = 0,0008$   $H = 35,1$ ; Área C:  $p = 0,0006$   $H = 35,64$ ). Assim, um gradiente crescente de salinidade foi estabelecido da foz em direção as regiões superiores do estuário, com valores de salinidade acima do mar em praticamente todo o período de estudo.

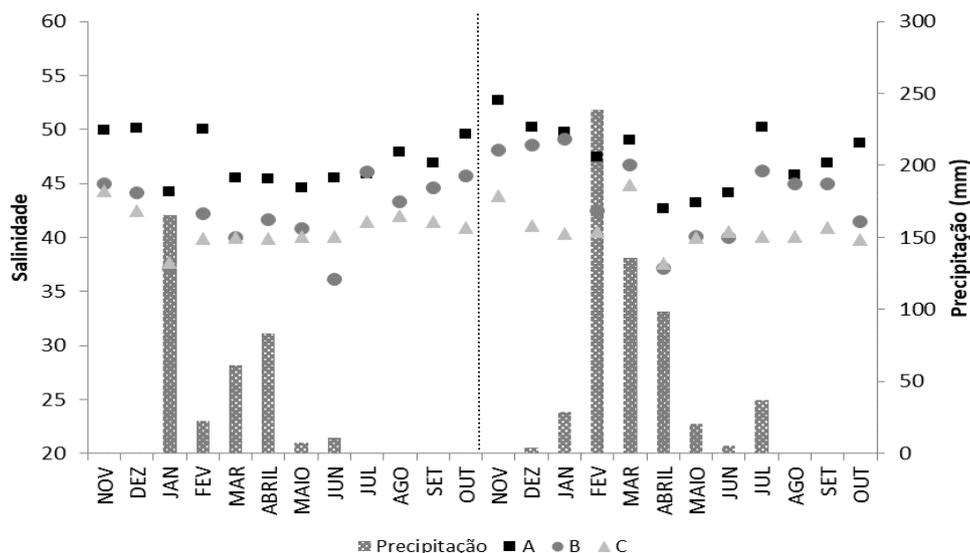


Figura 3 – Médias mensais de salinidade das 3 áreas analisadas e precipitação pluviométrica durante o período de novembro de 2015 à outubro de 2017 para as regiões de influência do estuário Apodi-Mossoró.

A temperatura variou de 27 a 34 °C na área A, 26 a 31 °C na área B e 26 a 36 na área C, diferindo entre áreas ( $p < 0,05$   $H = 23,14$ ) e entre meses (em A  $p = 0,00017$   $H = 39,25$ ; em B  $p = 0,00017$   $H = 39,16$ ; em C  $p = 0,0002$   $H = 38,93$ ) durante todo o período de estudo (Figura 4).

Já entre transectos (zonas em cada área), a salinidade apresentou diferenças significativas nas áreas A e C ( $p = 0,04$   $H = 6,489$ ), na área B as médias de salinidade entre zonas não diferiram significativamente ( $p = 0,90$   $H = 0,20$ ). Para temperatura, apenas a área A apresentou variações significativas nas médias entre transectos ( $p = 0,03$   $H = 7,2$ ).

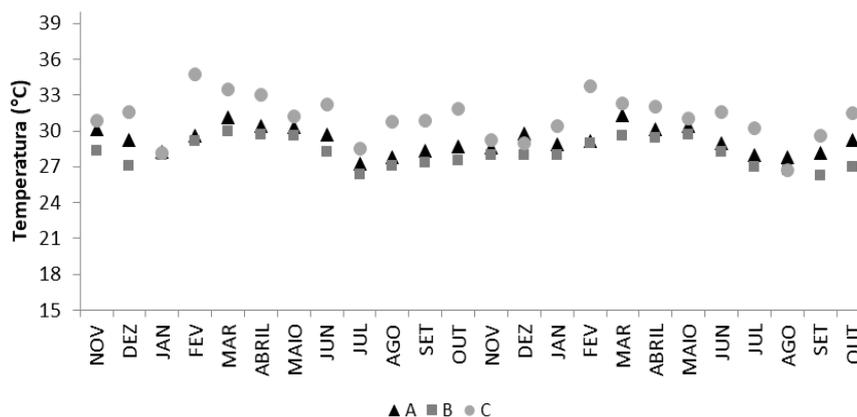


Figura 4 – Valores médios mensais de temperatura da água de percolação no sedimento das 3 áreas analisadas, no estuário Apodi-Mossoró, durante o período de novembro de 2015 à outubro de 2016.

As maiores precipitações na região ocorreram durante os meses de Janeiro e Abril para o primeiro ano de estudo, registrando, respectivamente, 180 e 130 mm, com período chuvoso concentrado durante os meses de Janeiro à Junho de 2016. No segundo ano de estudo, os maiores registros de precipitação foram obtidos durante os meses de Fevereiro a Abril e ultrapassaram os valores obtidos ao primeiro ano de estudo, registrando valores médios de até 239 mm de chuva (Figura 3). Estas precipitações ocorreram após um extenso período de 5 anos de seca.

A caracterização granulométrica do sedimento das 3 áreas analisadas diferiram quanto aos percentuais das frações de areia ( $p < 0,0005$   $H = 22,32$ ) e silte+argila ( $p < 0,0005$   $H = 22,59$ ). As áreas A e B apresentaram predominantemente maiores percentuais de silte e argila (em média 66% e 79%, respectivamente, durante o primeiro ano de estudo, e 69% e 82%, respectivamente, para o segundo ano), enquanto na área C predominou areia (54%), especialmente areia fina e muito fina para o primeiro ano de estudo. No segundo ano de estudo, o percentual de sedimento lamoso (silte e argila) aumentou na área C e se tornou predominante (em média 58%) (Figura 5).

Considerando os transectos, não foram constatadas diferenças significativas quanto as frações granulométricas de cascalho, areia e silte+argila nas áreas B e C ( $\alpha = 0,05$ ), entretanto, na área A, o percentual de cascalho diferiu das demais áreas ( $p = 0,027$   $H = 7,2$ ).

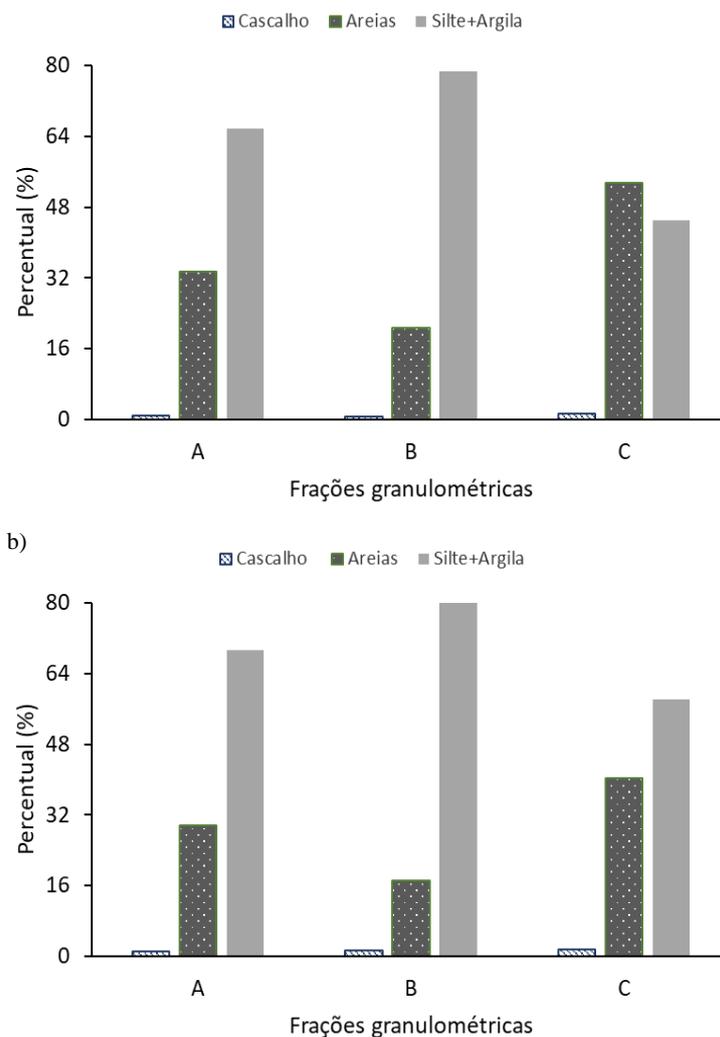


Figura 5 – Caracterização dos percentuais das frações granulométricas dos sedimentos coletados nas 3 áreas de amostragem do estuário Apodi-Mossoró durante o primeiro (a) e o segundo (b) ano de estudo.

### *Bióticos*

Foram amostrados 135.713 indivíduos de *Anomalocardia flexuosa* durante todo o período de estudo, sendo 65.625 na área A, 56.041 na área B e 14.047 indivíduos na área C.

Para todo o conjunto dos dados, a média de densidade diferiu entre áreas ( $p = 0,021$   $H = 7,714$ ), onde C diferiu de A e B ( $p = 0,0004$ ) e A não difere de B ( $p = 0,251$ ). A área A apresentou em média 805 indivíduos/m<sup>2</sup>, a área B 784 indivíduos/m<sup>2</sup> e 370 indivíduos/m<sup>2</sup> em C para o primeiro ano de coleta (Figura 6a) e 2.015 indivíduos/m<sup>2</sup> em

A, 1.523 indivíduos/m<sup>2</sup> em B e 161 indivíduos/m<sup>2</sup> em C para o segundo ano (Figura 6b). Os pontos de maior densidade ocorreram sempre na área A, registrando até 4.728 indivíduos/m<sup>2</sup>.

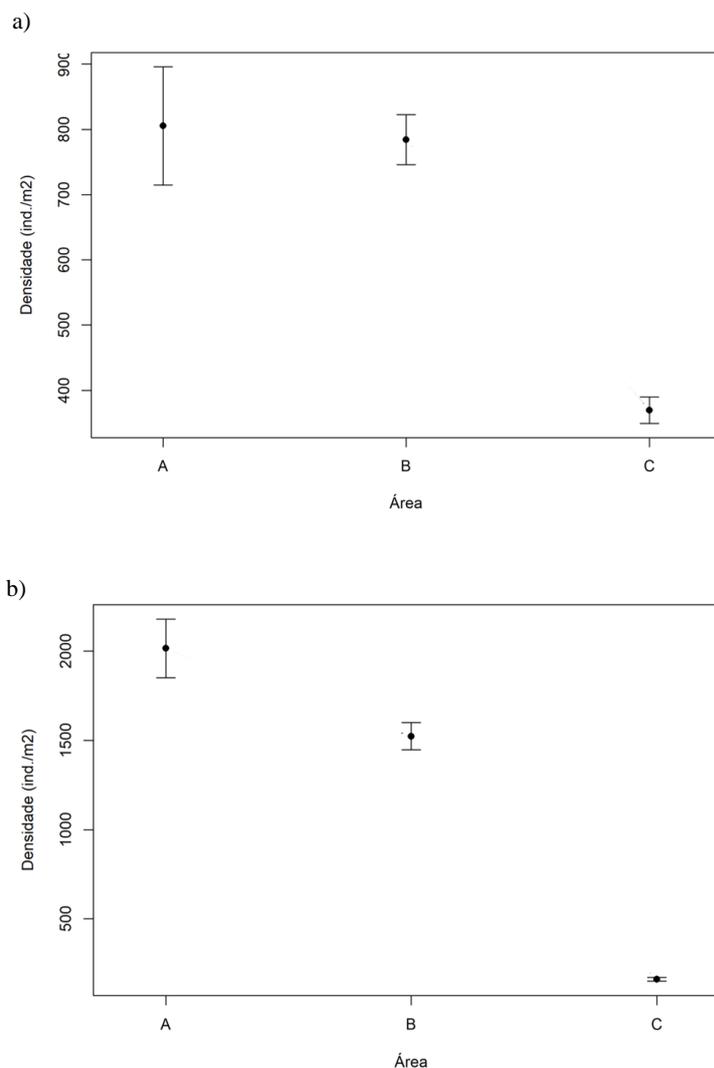
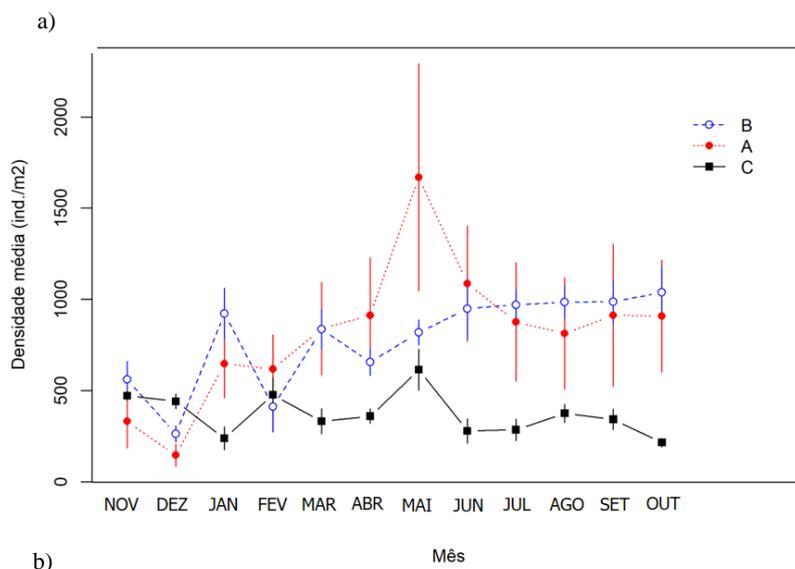


Figura 6 – Densidade populacional média de *Anomalocardia flexuosa* entre as áreas estudadas durante dois anos de amostragem (a = primeiro ano, b = segundo ano). As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.

Variações mensais significativas da densidade de *A. flexuosa* foram constatadas nas 3 áreas analisadas (A:  $p = 0,007$   $H = 24,06$ ; B:  $p = 0,021$   $H = 22,46$  e C:  $p = 0,02$   $H = 22,56$ ). As maiores médias mensais foram observadas em maio e junho de 2016, na

área A, com em média 1484 indivíduos/m<sup>2</sup> e 1086 indivíduos/m<sup>2</sup>, respectivamente durante o primeiro ano. Na área B, outubro de 2016 apresentou a maior densidade média com 1040 indivíduos/m<sup>2</sup> e, na área C, maio de 2016, com 615 indivíduos/m<sup>2</sup>, foi o mais representativo também para o primeiro ano de coleta. As áreas A e C apresentaram variações médias mensais de densidades mais similares, durante o primeiro período de estudo, com diferenças mais expressivas nos primeiros meses de coleta e a partir do segundo semestre do ano 2016 a densidade foi permanecendo estável. Na área B, foi observada uma tendência crescente nos valores de densidade média de *A. flexuosa* a partir de abril de 2016, chegando a ultrapassar as densidades médias da área A durante os meses de julho a outubro de 2016 (Figura 7a).

Para o segundo ano de amostragem, uma tendência crescente da densidade foi observada nas áreas A e B durante o primeiro semestre de 2017, registrando picos de em média 3.305 indivíduos/m<sup>2</sup> em julho de 2017 em A e 2.540 indivíduos/m<sup>2</sup> em abril deste mesmo ano em B. Já para o segundo semestre de 2017, ambas as áreas, apresentaram decaimento nos valores de densidades média de indivíduos de *A. flexuosa*. Durante todo o período de coleta do ano de 2017, a área C permaneceu com o mesmo padrão de densidade, apresentando pequenas oscilações de abundância, alcançando valores médios de até 246 indivíduos/m<sup>2</sup> (em maio de 2017) (Figura 7b) .



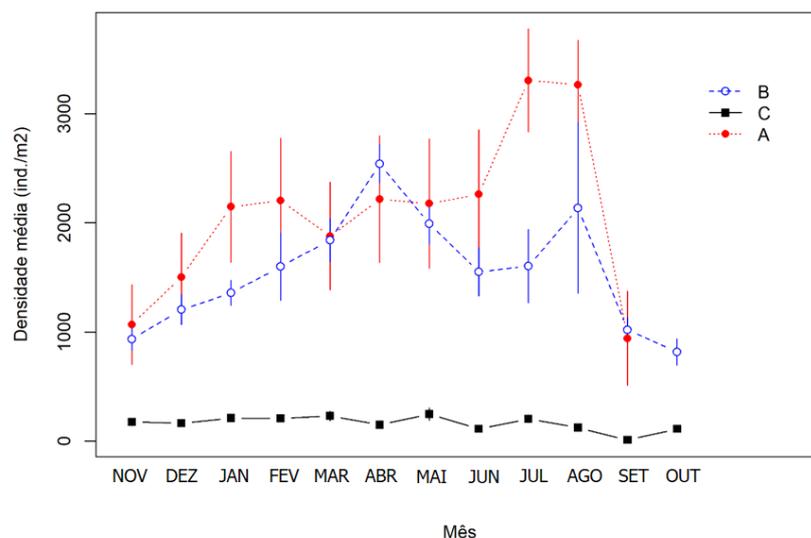


Figura 7 – Variações mensais da densidade populacional média de *Anomalocardia flexuosa* nas 3 áreas estudadas no estuário Apodi-Mossoró durante o período de novembro/2015 à outubro/2016 (a = primeiro ano) e novembro/2016 à outubro/2017 (b = segundo ano). As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.

Considerando as zonas (transectos) dentro de cada área de amostragem, a densidade de *A. flexuosa* apresentou variações entre os dois anos estudados. Foram constatadas diferenças significativas de densidade entre os transectos nas áreas A ( $p = 0,03$   $H = 7,2$ ) e B ( $p = 0,04$   $H = 6,49$ ) para o primeiro ano de coleta (novembro/2015 à outubro/2016). A área A exibiu uma zonação da ocupação do substrato por *A. flexuosa* a partir da linha d'água, onde o primeiro transecto, mais próximo do curso do rio, apresentou a maior densidade média e o terceiro, mais distante, a menor média de densidade. Na área B, a maior densidade foi registrada no transecto intermediário (Figura 8a).

Durante o segundo ano de coleta (novembro/2016 à outubro/2017), as diferenças na densidade média entre zonas não foram significativas em nenhuma das 3 áreas analisadas (A:  $p = 0,051$   $H = 5,956$ ; B:  $p = 0,733$   $H = 0,6222$ ; C:  $p = 0,43$   $H = 1,689$ ) (Figura 8b), reduzindo assim o padrão de zonação estabelecido no primeiro ano para A e B.

a)

b)

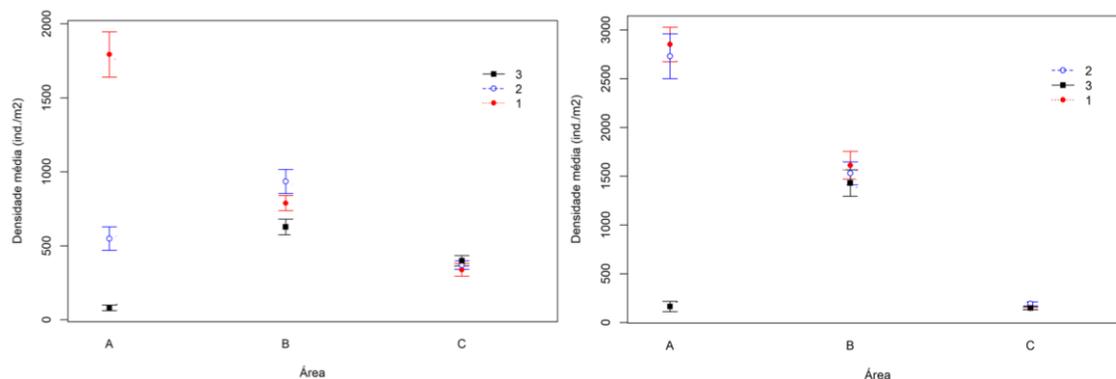


Figura 8 – Densidade populacional média de *A. flexuosa* entre zonas/transectos das 3 áreas analisadas durante dois anos de amostragem (a = primeiro ano, b = segundo ano) no estuário Apodi-Mossoró. As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.

As variáveis abióticas temperatura e percentual de areia no sedimento apresentaram correlações negativas com densidade de *A. flexuosa*, e salinidade, percentual de cascalho, silte+argila e precipitação positivas, sendo esta última, a variável que apresentou valor mais expressivo do coeficiente de correlação de Spearman (Tabela 1).

Os meses que apresentaram menores registros de abundância da espécie estão concentrados dentro do período seco para a região (Figura 9). Podemos observar uma tendência crescente da densidade ao longo dos primeiros meses de amostragem, com estabilização e/ou decaimento no segundo semestre de cada ano avaliado.

Tabela 1 – Correlações entre variáveis abióticas e densidade populacional de *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró.

	p-valor	$r_s$	Correlação
Salinidade	0,0000*	0,31	Correlação positiva e fraca
Temperatura	0,0000*	-0,29	Correlação negativa e fraca
Cascalho	0,0000*	0,23	Correlação positiva e fraca
Areias	0,0000*	-0,28	Correlação negativa e fraca
Silte+Argila	0,0000*	0,26	Correlação positiva e fraca
Pluviosidade	0,04	0,42	Correlação positiva e fraca

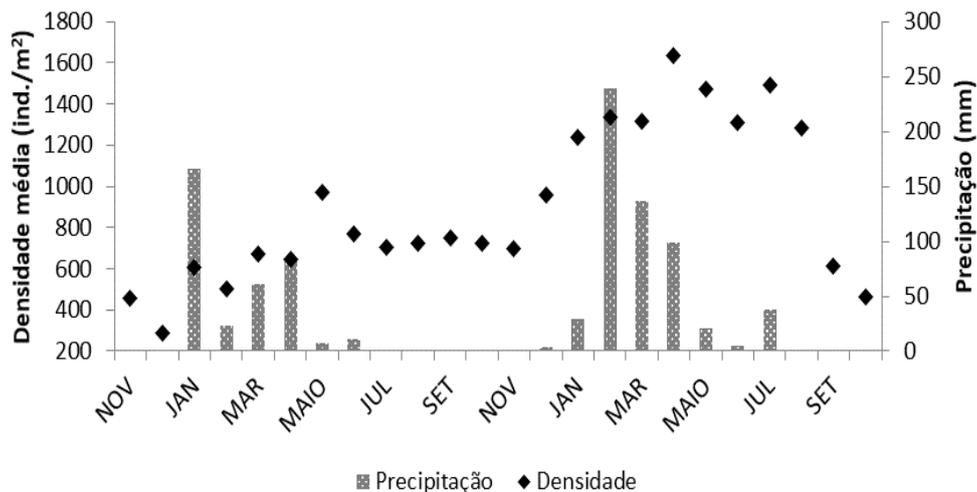


Figura 9 – Relação mensal de precipitação pluviométrica da região estuarina do rio Apodi-Mossoró com densidade populacional média de *A. flexuosa* durante o período de novembro/2015 à outubro /2017. Fonte: Emparn

Para reforçar as análises do coeficiente de correlação entre densidade de *A. flexuosa* e precipitação, foi realizada uma correlação cruzada com o objetivo de melhor investigar as variações temporais da densidade em decorrência da pluviosidade. Conforme mostra a figura 10, os maiores valores de defasagem (lag) que maximizam a correlação cruzada foram obtidos nas proximidades da lag 2, indicando que os valores de densidade sofrem influência direta positiva dois meses após as incidências de chuva.

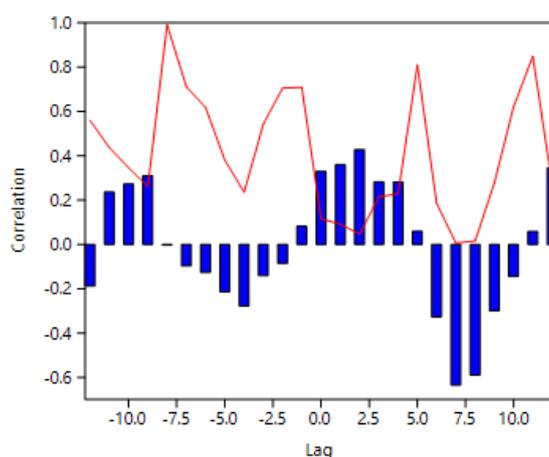


Figura 10 – Correlação cruzada entre densidade populacional média de *A. flexuosa* e precipitação pluviométrica no estuário Apodi-Mossoró durante dois anos de amostragem.

### *Estrutura populacional*

O tamanho dos indivíduos amostrados na área A variou de 0,4 à 28,8 mm, na área B de 0,3 à 29,8 mm e na área C de 0,5 à 28,7 mm. Considerando a variável comprimento da concha, que diferiu entre as áreas ( $p = 0,00$   $H = 22,86$ ), a área C caracterizou-se pela maior predominância de indivíduos adultos, apresentando assim maior comprimento médio (A: 11,8 mm, B: 15,2 mm, C:18,9 mm) (Figura 11).

Quanto às variações dentro das áreas de amostragem, apenas a área A apresentou diferença significativa de comprimento médio por zonas ( $p = 0,027$   $H = 7,2$ ), onde o primeiro transecto concentrou os indivíduos de maior tamanho e o mais afastado da água os indivíduos de menor tamanho (Figura 12).

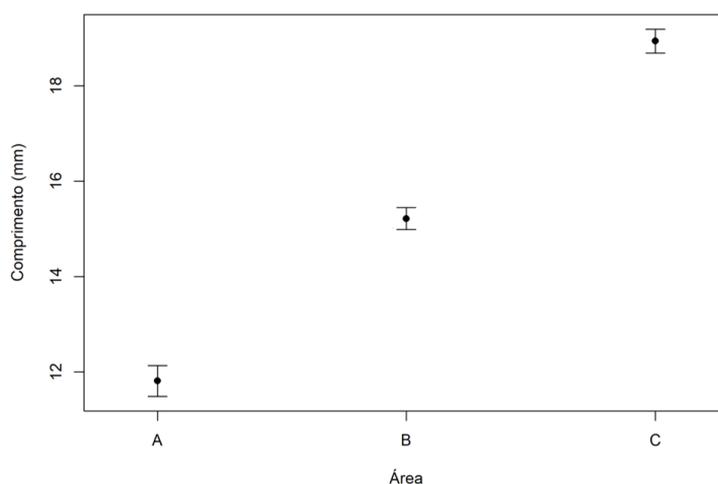


Figura 11 – Comprimento médio da concha de *A. flexuosa* nas 3 áreas analisadas no estuário Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte. As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.

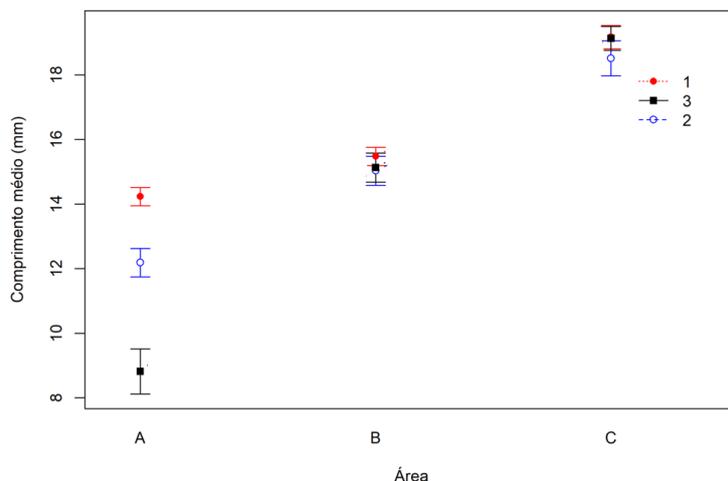


Figura 12 - Comprimento médio da concha de *A. flexuosa* entre zonas/transectos nas 3 áreas de amostragem no estuário Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte. As barras informam o intervalo de confiança obtido pelo erro padrão.

Em relação as diferenciações de abundância de juvenis e adultos, ambas diferiram entre as áreas (adultos:  $p = 0,008$ ,  $H = 9,58$ ; juvenis:  $p = 0,009$   $H = 14$ ). A área A apresentou maior abundância de juvenis e área B de adultos (Figura 13).

A correlação de Spearman indicou ainda uma relação forte e positiva entre precipitação e abundância de juvenis. Para os adultos, as variáveis sedimentológicas percentual de areia e percentual de silte e argila apresentaram relações fortes negativas e positivas, respectivamente. A abundância de adultos também parece interferir na abundância de juvenis (Tabela 2).

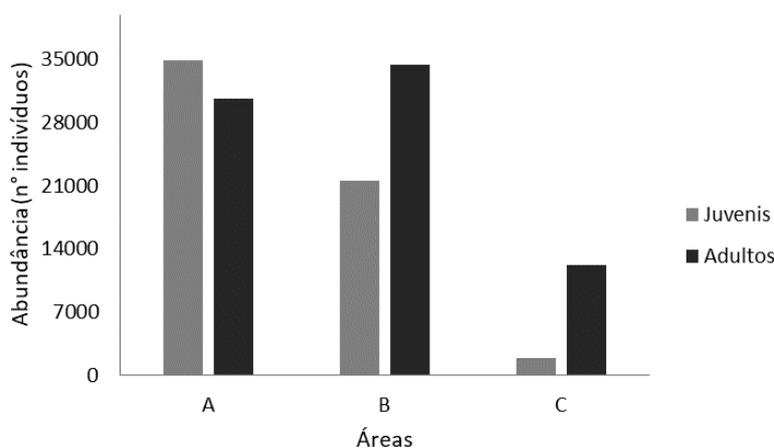


Figura 13 – Abundância de juvenis e adultos de *A. flexuosa* nas três diferentes áreas analisadas no Estuário Apodi-Mossoró durante o período de novembro de 2015 à outubro de 2017.

Tabela 2 - Resultado da correlação de Spearman ( $r_s$ ) entre as variáveis abióticas e abundância de juvenis e adultos de *A. flexuosa* no Estuário Apodi-Mossoró. Os valores em negrito indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

Variáveis	Juvenis	Adultos
Temperatura	0,24	0,16
Salinidade	-0,28	0,03
Pluviosidade	<b>0,71</b>	0,34
Cascalho	0,24	0,30
Areia	-0,33	<b>-0,55</b>
Silte+Argila	0,35	<b>0,57</b>
Adultos	<b>0,72</b>	-
Juvenis	-	<b>0,72</b>

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados demonstram variações dos fatores ambientais entre áreas, especialmente relacionados à salinidade e à granulometria. As áreas mais internas (A e B) apresentaram maiores registros de salinidade e percentuais de sedimento fino. Diniz e Vasconcelos (2017) afirmam que neste estuário o que define os valores elevados de salinidade é o confinamento da água oceânica nas regiões planas mais internas, estabelecendo assim um gradiente crescente de salinidade em direção contrária a foz, que penetra até 20 km de distância. Aliado a isto, a reduzida velocidade das correntes e força da maré, nestas regiões de mangue, favorecem a deposição de sedimentos mais finos (MEDEIROS, 2016). A localização e direção da foz deste estuário não permitem que o transporte de sedimentos mais grosseiros pelo vento possa ocorrer longitudinalmente, favorecendo o transporte dos sedimentos em suspensão (DINIZ e VASCONCELOS, 2017). O maior percentual de silte e argila observados na área B também pode estar associado a localização da área, uma vez que é um local mais abrigado e protegido das ações das correntes, que favorece a deposição de sedimento.

Na área C, na foz do rio Apodi-Mossoró, os percentuais das classes granulométricas mudou durante os dois períodos de amostragem. Durante o segundo período de estudo, quando as precipitações foram mais elevadas, o percentual de sedimento fino aumentou, o que pode estar diretamente relacionado ao aporte de água doce e aumento da vazão do rio, que carrega sedimento finos das zonas mais internas (COSTA, 2010; SANTIAGO, 2004).

Apesar das medições de temperatura terem sido obtidas no momento da coleta e representarem uma condição pontual, as diferenças de temperatura entre áreas ocorreram devido especialmente às diferentes características do habitat de cada uma dessas regiões. A área C está localizada em uma região de entremarés, uma área plana e de maior extensão, com o estabelecimento recente de pradarias marinhas, que permite o acúmulo de água, formando poças que podem sofrer assim maior influência da radiação. Nesta área, portanto, a temperatura registrada, nas poças, foi superior aos registros obtidos para a água de percolação das demais áreas.

As precipitações registradas durante o primeiro período de estudo foram bastante concentradas e atingiram níveis baixos, o que é uma característica comum para a região que apresenta pluviosidade média anual entre 600 a 700 mm, com valores abaixo de 200 mm durante períodos de secas extremas (ROCHA, 2011b). Os anos que antecederam o período do estudo foram marcados por secas intensas. Em 2012 o índice pluviométrico registrado foi menor que 200 mm de chuva para esta região (MEDEIROS *et al.*, 2018b). Após 5 anos de seca, o ano de 2016 registrou chuvas irregulares, que provavelmente não permitiram reverter a deficiência hídrica da região e proporcionar reduções expressivas nos valores de salinidade no estuário caracteristicamente hipersalino. Entretanto, durante o segundo ano de estudo, 2017, as precipitações foram mais elevadas e ocasionaram oscilações mais expressivas na salinidade e inclusive mudanças na constituição granulométrica das áreas de estudo, aumentando o percentual de sedimentos finos nas 3 regiões analisadas.

Com relação as estimativas de densidade de *Anomalocardia flexuosa*, mesmo apresentando diferenciações nas 3 áreas analisadas, elas ainda são superiores às estimativas obtidas para outras regiões do litoral brasileiro. Corte *et al.* (2015), avaliando as populações de *A. flexuosa* de duas praias no litoral de São Paulo, determinaram uma densidade média de aproximadamente 53 indivíduos/m<sup>2</sup> nas praias de Cidade e Araçá. No litoral do Paraná, Boehs *et al.* (2008) registraram valores de densidade média de 95 e 489 indivíduos/m<sup>2</sup> em duas estações de coleta. Santos *et al.*

(2014) registraram no litoral do Maranhão valores máximos de até 646 indivíduos/m<sup>2</sup> e Oliveira (2011) de 415 indivíduos/m<sup>2</sup> para o litoral de Pernambuco. Já para a praia de Mangue Seco, também no estado de Pernambuco, os valores de densidade média de algumas foram semelhantes aos valores médios registrados na presente pesquisa. Lima e Andrade (2018) determinaram pontos de agregações máximas de até 4.058 indivíduos/m<sup>2</sup>, enquanto que o presente estudo registrou áreas onde a densidade de *A. flexuosa* alcança até 4.728 indivíduos/m<sup>2</sup>.

As diferenças de densidade entre as áreas podem ser parcialmente explicadas pelas variações dos fatores abióticos, como composição granulométrica do substrato, mas especialmente salinidade e precipitação, que apresentaram os maiores valores do coeficiente de correlação.

A caracterização da natureza do substrato é um fator preponderante para organismos infaunais (ARAÚJO, 2004). De acordo com os resultados obtidos nas análises de correlação, a densidade de organismos neste estuário aumentou quando o percentual de silte e argila e cascalho também aumentaram e diminuiu quando o percentual de areia foi reduzido. A área C apresentou o maior percentual de areia no sedimento e registrou o menor valor de densidade. *A. flexuosa* habita preferencialmente regiões de sedimento areno-lodoso, áreas com maior disponibilidade de alimento, e de baixa hidrodinâmica, especialmente devido ao seu hábito alimentar filtrador (BOEHS, 2000), substrato observado nas 3 áreas analisadas, sendo então considerado ideal para o estabelecimento da espécie. No entanto, na área C, a espécie não apresentou ampla distribuição como nas demais áreas. A área B concentra percentuais bastante elevados de sedimentos finos, que não são adequados para organismos filtradores, no entanto, esta é uma região de baixa turbulência que não permite revolvimento das partículas que poderiam causar asfixia nos animais, facilitando a ocupação da espécie.

A maioria dos estudos anteriores que abordaram a distribuição da espécie registrou ocorrência em sedimentos que apresentavam no mínimo 50% de areia (BARREIRA e ARAÚJO, 2005; BELÉM *et al.*, 2013; BOEHS, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2013), diferentemente do que ocorreu no presente trabalho. Desta forma, somente a caracterização da composição do substrato não é suficiente para explicar os níveis de tolerância e os fatores que regulam a distribuição da espécie, já que ela é bastante resistente as variações de diferentes fatores ambientais.

Estudos pretéritos realizados na foz do estuário Apodi-Mossoró nos anos de 2007 e 2008 registraram valores de densidade média em torno de 1.215 indivíduos/m<sup>2</sup>

na praia de Barra (RODRIGUES, 2009), valor bem superior ao encontrado no presente estudo para esta área. Durante os anos de 2009 e 2010, as densidades médias deste mesmo local sofreram reduções expressivas registrando um valor máximo de 233 indivíduos/m<sup>2</sup>, que foram associadas aos elevados registros de precipitações, que permitiram o carreamento de sedimentos mais finos para a região da foz e também reduziram a salinidade durante o período de estudo (BELÉM *et al.*, 2013). A densidade média registrada no presente estudo para a área C foi inferior as estimativas feitas para 2007 e 2008 e superior para os anos de 2009 e 2010. O que demonstra que houve uma recuperação da abundância após os eventos de chuva de 2009 e 2010, mas que a espécie ainda não conseguiu retornar aos valores determinados em 2007.

Medeiros (2016) afirma que este ambiente apresenta alta instabilidade morfodinâmica. A região da foz parece ser a área mais dinâmica das 3 regiões analisadas, que sofre constantes modificações dos fatores ambientais no decorrer dos anos, o que pode ter influenciado as variações de abundância de *A. flexuosa* nesta área.

Os valores de correlação encontrados foram significativos porém fracos, o que dificulta a real confirmação das interferências destes fatores abióticos como sendo únicos reguladores dessas variações. Fatores biológicos também podem interferir nesses processos de redução de abundância e controle de densidade, especialmente a competição e/ou predação (WILSON, 1990).

Durante o desenvolvimento deste estudo também foi registrado, nesta área da foz, um prado da angiosperma marinha *Halodule wrightii* em ampla expansão (observação pessoal). As raízes da planta também se estabelecem no sedimento nas áreas que naturalmente *A. flexuosa* ocupa, e isso pode gerar uma competição por espaço. Além disso, a ocorrência da planta modifica as características ambientais locais, como por exemplo a sua hidrodinâmica. Geraldi (2002), estudando a distribuição espacial do bivalve *Erodona mactroides* em áreas com pradarias de *Ruppia maritima*, constatou redução da abundância do bivalve nas áreas vegetadas em comparação com as áreas adjacentes, ocasionadas especialmente devido as modificações que a planta causa na hidrodinâmica do local. O que interferiu na disponibilidade de alimento e consequentemente no estabelecimento e desenvolvimento da espécie. O que também já foi observado em áreas com ocorrência de *Spartina alterniflora* (ADDINO *et al.*, 2015).

No segundo ano de amostragem, o decréscimo da densidade na área C foi bem mais expressivo, o que pode estar diretamente relacionado, mais uma vez, ao crescimento desta pradaria. O aumento da biomassa da planta pode aumentar a

competição por espaço, o que provavelmente dificultou o estabelecimento das conchas de *A. flexuosa* nestes locais.

A ocorrência da pradaria nestas áreas também interfere na abundância de predadores naturais, permitindo que ocorra o melhor estabelecimento de outras espécies, como siris e gastrópodes, que são predadores eficientes de bivalves infaunais e podem ocasionar redução da abundância da presa (GERALDI, 2002). Além da predação natural, os processos de predação antrópicos, como a pesca, podem interferir na abundância deste bivalve (LAGREZE *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2013). No entanto, não é o que parece ocorrer na presente área, já que a espécie é amplamente explorada tanto na área C, como também na área B.

A menor competição interespecífica inclusive pode também ter influenciado positivamente os elevados registros de densidade na área A, já que poucas espécies conseguem se estabelecer e sobreviver em condições hipersalinas.

Neste contexto, a hipersalinidade não foi limitante para o desenvolvimento da espécie, já que a densidade se correlacionou positivamente com salinidade, demonstrando que a espécie é bastante resistente aos valores extremos de salinidade. Em ambientes hipersalinos, este bivalve consegue se estabelecer e formar bancos de densidades elevadas. As reduções expressivas da salinidade podem ocasionar efeitos mais relevantes, como citados por Monti *et al.* (1991) e Belém *et al.* (2013), onde os eventos de intensa pluviosidade reduziram a densidade de *A. flexuosa*, em períodos onde a precipitação foi tão intensa que aumentou o aporte de sedimento fino e reduziu muito a salinidade. As alterações de maior magnitude do fluxo e ressuspensão do sedimento do fundo durante os períodos de intensas chuvas podem ocasionar mortalidades por asfixia (BOEHS, 2000).

As características do sedimento, os fatores hidrodinâmicos, a disponibilidade de espaço e de recurso são fatores que podem exercer grande importância no estabelecimento, sobrevivência e desenvolvimento da espécie e precisam ser avaliados conjuntamente para melhor compreensão dos agentes reguladores de distribuição espacial horizontal de *A. flexuosa*.

As variações mensais de densidade nas áreas A e B apresentaram tendências crescentes durante os primeiros meses deste estudo, com valores mais elevados a partir do mês de maio de 2016, estabilização da densidade em B a partir deste período, e redução em junho e julho de 2016, com consolidação dos valores nos demais meses de estudo em A. Apresentando um padrão geral de valores mais elevados durante o final do

primeiro e início do segundo semestre de 2016, que compreende o final do período chuvoso e início do período de estiagem para a região. Este padrão se torna ainda mais evidente para o segundo ano de amostragem, onde os valores de densidade e pluviosidade sofreram um incremento. Desta forma, a chuva, que apresentou correlação positiva com densidade, parece exercer papel importante nas alterações mensais de densidade de *A. flexuosa*. O padrão de densidades mais elevadas durante o final do primeiro e início do segundo semestre do ano também foi observado para outras regiões do Nordeste como o Ceará (ARAÚJO, 2004), e o Maranhão (SANTOS, 2014).

Silva-Cavalcanti *et al.* (2018) também relatam maiores registros de abundância desta espécie, em um estuário clássico no litoral de Pernambuco, durante o início da estação chuvosa. Essa realidade parece ser comum no litoral do Nordeste brasileiro. No entanto, em condições hipersalinas, a chuva parece ser um regulador ainda mais eficiente.

Na área B, os valores mais elevados foram registrados após o período chuvoso, do primeiro ano de coleta, chegando em alguns meses a ultrapassar a densidade média obtida na área A. A correlação cruzada indicou um período de até dois meses para incremento da densidade após a ocorrência de chuvas, o que pode explicar as variações de abundância da espécie durante este período na área B. O que mais uma vez é reforçado pelo balanço geral de densidade para o estuário durante o segundo ano de amostragem, onde o maior registro de pluviosidade ocorreu em fevereiro de 2017 e o maior valor de densidade em Abril de 2017.

A precipitação parece ainda influenciar, especificamente, a abundância de juvenis (indivíduos de até 13,7 mm), o que pode indicar que o eventos de sucesso de recrutamento em períodos anteriores as estações de chuva podem ter influenciado no incremento da densidade total de *A. flexuosa* durante os períodos de maior pluviosidade. Aspectos estes que serão melhor detalhados no capítulo 3 desta tese.

Desta forma, a precipitação parece ser um importante regulador das variações temporais de abundância de *A. flexuosa* em condições de hipersalinidade. Precipitações que possam ocasionar, mesmo que, pequenas oscilações na salinidade, permitam maior aporte de água doce e alimento para a região, onde tais condições podem ser limitantes, podem ser benéficas ao desenvolvimento e especialmente a sobrevivência dos organismos.

Com relação a distribuição espacial dos organismos dentro de cada área amostrada, a maior diferenciação de densidade entre transectos/zonas verificada na área

A, durante o primeiro ano de coleta, pode estar relacionada a umidade, ao tempo e amplitude de faixa de exposição e alcance da maré, como também ao aporte de alimento. Esta área apresentou declividade aparentemente mais elevada que as demais, o que pode interferir na umidade do sedimento e disponibilidade de recurso no último transecto localizado na porção superior do banco. A localização do primeiro transecto, próximo a linha d'água, permite maior tempo de submersão e assim de oxigenação e disponibilidade de alimento aumentando as chances de sobrevivência (BOEHS, 2000).

A zonação constatada dentro da área A para o primeiro ano de amostragem não foi observada durante o segundo ano. A maior incidência de chuva durante este segundo período também pode ter ocasionado esta modificação. O aumento do aporte de água doce pode originar modificações locais, como interferências nas características do substrato, incremento na disponibilidade de alimento e umidade, além de redução da salinidade, o que permitiu maior ocupação das regiões em A e aumentou a densidade.

Os tamanhos dos indivíduos de *A. flexuosa* coletados ao longo da costa brasileira diferem entre regiões, no entanto, parece haver um padrão de redução do tamanho latitudinalmente à medida que se aproxima das regiões equatoriais. No estado do Paraná, o maior indivíduo coletado apresentou comprimento de 33 mm (BOEHS, 2008), já para o estado de São Paulo, nas praias de Cidade e Araçá, o comprimento máximo registrado para *A. flexuosa* foi de 40,8 e 39,96 mm, respectivamente (CORTE, 2015). Para o Nordeste brasileiro, na Bahia o maior indivíduo coletado apresentou 39,8 mm (LUZ e BOEHS, 2011), para Pernambuco foi de 28,48 mm (SILVA-CAVALCANTI, 2011), no Rio Grande do Norte foi de 28 mm (RODRIGUES *et al.*, 2013), e 28,9 mm no Maranhão (SANTOS *et al.*, 2014). O valor de 29,8 mm da concha de *A. flexuosa* registrado no presente estudo segue o mesmo padrão dos valores estimados para outros estados localizados na região equatorial brasileira.

Da mesma forma, Monti *et al.* (1991) na ilha de Guadalupe, no Caribe, determinou um valor de comprimento máximo de 28,35 mm. Provavelmente, a temperatura exerce influência na regulação deste padrão de redução de tamanho nas áreas equatoriais, já que o tamanho do corpo do animal aumenta com a latitude (OLABARRIA e THURSTON, 2003).

O comprimento médio da concha de *A. flexuosa* observado para as diferentes áreas pode estar relacionado as representatividades das classes de comprimento de cada área. Nas áreas A e B, os juvenis foram mais frequentes que na área C, o que provavelmente, reduziu a média de comprimento nestas áreas. Na área C, as classes de

comprimento mais representativas foram, quase sempre, de indivíduos adultos. Isto pode também ter ocorrido em decorrência do estabelecimento da pradaria marinha, pois nas áreas internas dos bancos de angiospermas a corrente pode ser barrada e não permitir o ideal assentamento das larvas e interferir no recrutamento de indivíduos jovens (BOEHS, 2000; GERALDI, 2002). Os poucos indivíduos que conseguem se estabelecer nestas zonas podem se desenvolver, crescer e ocupar melhor o ambiente, provavelmente devido a qualidade do alimento que as áreas de pradarias podem ofertar (ADDINO, 2015).

A diferenciação do comprimento dos indivíduos por zonas é uma característica já relatada para *A. flexuosa* em outros estudos (ARAÚJO, 2004; BOEHS, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2013). A presença de indivíduos de menor tamanho no transecto superior da área A provavelmente ocorreu devido a reduzida densidade desta zona, que permitiu o sucesso do assentamento. Além do que a ação das ondas e a corrente por apresentarem, nesta região, menor intensidade, podem facilitar a ocupação por juvenis, fato este também observado por Boehs (2000) em baixios da Baía de Paranaguá, na região sul do Brasil. Existe uma competição intraespecífica e uma limitação associada a densidade para esta espécie que regula os processos de abundância de juvenis e adultos (MONTI, 1991), o que pode ser confirmado pela elevada correlação entre abundância de juvenis e adultos.

Para as variáveis que indicam a caracterização do substrato, as correlações foram significativas e informam que o percentual de areia no substrato diminui, silte e argila aumentam e a abundância de adultos também aumenta. Fundos constituídos por sedimentos finos podem proporcionar a ressuspensão de partículas e assim influenciar nas taxas de filtração, alimentação e conseqüentemente na sobrevivência dos organismos (BOEHS *et al.*, 2008; MONTI *et al.*, 1991). Advertindo, entretanto, que em um ambiente não muito seguro ao estabelecimento de juvenis, *A. flexuosa*, por ser uma espécie filtradora e apresentar sifões curtos, pode ter seu assentamento e desenvolvimento dificultado nestas áreas com menor tamanho do grão constituindo o sedimento (BOEHS *et al.*, 2008; NARCHI, 1974).

Um padrão de associação de indivíduos jovens em sedimento fino já foi mencionado para *A. flexuosa*, com os adultos ocupando áreas de sedimento mais grosseiro e de maior turbulência (ARAÚJO, 2004). A influência da composição do substrato não pode ser analisada separadamente das demais características do habitat. As áreas analisadas no presente estudo exibiram, em sua constituição granulométrica,

elevados percentuais de silte e argila, que não são os mais recomendados para a espécie (NARCHI, 1974), no entanto, apresentaram diferentes características relacionadas à hidrodinâmica. A área B registrou os maiores percentuais de silte e argila e elevadas densidades. Provavelmente o fato desta área ser considerada um ambiente mais abrigado, protegido, com pouca ressuspensão do sedimento de fundo facilitou a ocupação de *A. flexuosa*. Ambos fatores, caracterização sedimentológica e hidrodinâmica, em conjunto, podem ter influenciado o estabelecimento dos adultos e juvenis de *A. flexuosa* nas 3 áreas de estudo.

As abundâncias de *A. flexuosa* das áreas A e B foram bastante elevadas durante todo o período de estudo. Na área A, o sedimento apresentou uma constituição arenolamosa e maior abundância de juvenis. Na área B, a predominância foi de adultos e o substrato apresentou, em sua totalidade, elevados percentuais de silte e argila. Com isso, é possível inferir que *A. flexuosa* apresenta ampla tolerância ao estabelecimento em áreas com sedimentos constituídos pela mistura de areia e lama, dependendo das demais características do ambiente.

Além disto, ambas áreas não apresentam elevada hidrodinâmica e, como mencionam Medeiros *et al.* (2018a), a força da maré e a velocidade da corrente tende a diminuir estuário acima. Ambientes de baixa energia não são adequados ao estabelecimento de filtradores devido a menor circulação da água (CORTE *et al.*, 2017), e ambientes que apresentam elevada hidrodinâmica podem interferir no estabelecimento e enterramento de bivalves infaunais (MCLACHLAN, 1996).

Por conseguinte, composição de sedimento misto com condições intermediárias de circulação de água que permitam a filtração das partículas podem indicar habitats mais adequados ao desenvolvimento de *A. flexuosa*. A área A apresentou características ambientais que favoreceram a maior densidade de *A. flexuosa*, além da predominância de juvenis, já a área B promoveu a predominância de adultos, que são mais resistentes às condições de menor hidrodinâmica e composição de sedimento fino. A elevada abundância também registrada na área B e os fatores relatados anteriormente podem indicar que o ambiente apresenta circulação de água que permite a taxa de filtração adequada e o material particulado fino ocorre acumulado sobre o sedimento e não em suspensão.

A pesca também age selecionando os indivíduos, podendo inclusive permitir a redução do comprimento médio em áreas exploradas, devido a preferência de amostragem dos indivíduos maiores, que permitem maior rendimento (PEZZUTO e

SOUZA, 2015). Silva-Cavalcanti *et al.* (2018) informam que, no estuário do Rio Goiana em Pernambuco, a prevalência de juvenis e o registro de um comprimento médio inferior a outras regiões indicam estado de alerta e sobrepesca do estoque de *A. flexuosa* daquela região. Porém, estabelecer estado de exploração real de um recurso pesqueiro avaliando apenas o comprimento médio pode ser impreciso.

A pesca parece ainda não limitar tanto as distribuições de comprimento das áreas do presente estudo, já que as áreas com maiores níveis de exploração apresentaram maiores comprimentos médios (B e C). A área C sofre, continuamente, com a exploração deste recurso e apresentou os maiores comprimentos de concha para *A. flexuosa* registrado neste estudo. Mais uma vez, o estabelecimento das angiospermas além de interferir no desenvolvimento do animal também pode servir de área de exclusão da pesca, já que a presença da planta dificulta a extração por parte do pescador. No entanto, a maior abundância de juvenis indica uma alerta a ser considerado sobre as indicações das influências da pesca sobre a estruturação do estoque de *A. flexuosa*. Aspectos que relacionam tais interferências sobre a distribuição de comprimento e a dinâmica populacional desta espécie serão discutidos no capítulo 3.

A partir do que foi aqui exposto, podemos concluir que *Anomalocardia flexuosa* pode apresentar limites de tolerância e sobrevivência em ambientes com salinidades bem maiores ao valores já relatados anteriormente na literatura. Já que neste ambiente hipersalino, que registrou salinidades de até 59, ela consegue sobreviver e formar bancos de elevadas densidades. Os limites de tolerâncias foram amplos para a maioria dos fatores abióticos aqui analisados, o que demonstra que a espécie parece ser bem resistente às variações de diversos fatores ambientais. Entretanto, fatores bióticos, como competição por espaço e recursos, podem ser limitantes para a distribuição e abundância deste bivalve.

## 6 REFERÊNCIAS

ADDINO, M. S.; MONTEMAYOR, D. I.; ESCAPA, M.; ALVAREZ, M. F.; VALIÑAS, M.; LOMOVASKY, B. J.; IRIBARNE, O. (2015) Effect of *Spartina alterniflora* Loisel, 1807 on growth of the stout razor clam *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) in a SW Atlantic estuary. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.463, 135–142, 2015.

ARAÚJO, M. L. R. **Ciclo reprodutivo e distribuição espacial de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia: Veneriidae) na praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará.** 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

ARRUDA-SOARES, H.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y; MANDELLI JR., J. Berbigão *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1971), bivalve comestível da região da Ilha do Cardoso, estado de São Paulo, Brasil: Aspectos biológicos de interesse para a pesca comercial. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.9, 21-38, 1982.

BARBOSA, J. E. L.; WATANABE, T.; ROCHA, R. M.; SOUTO, F. J. B. Distribuição espaço-temporal da comunidade fitoplânctonica e variáveis hidrológicas em uma salina artesanal do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Nordestina de Biologia**, v.15, n.2, 17-26, 2001.

BARREIRA, C. A. R. e ARAÚJO, M.L.R., 2005. Ciclo reprodutivo de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.31, n.1, 9-20, 2005.

BARROSO, C. X.; MATTHEWS-CASCON, H. Distribuição espacial e temporal da malacofauna no estuário do rio Ceará, Ceará, Brasil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v.4, n.1, 79-86, 2009.

BELÉM, T.; MOURA, R. S. T.; HENRY-SILVA, G. G. Distribuição e densidade do bivalve *Anomalocardia flexuosa* em praias do Rio Grande do Norte durante um período de pluviosidade atípica. **Biotemas**, v.26, n.1, 109-122, 2013.

BOEHS, G. **Ecologia populacional, reprodução e contribuição em biomassa de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil.** 201 f. Tese (Doutorado em Zoologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

BOEHS, G.; ABSHER, T. M.; CRUZ-KALED, A. C. Ecologia populacional de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Bivalvia, Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.34, n.2, 259-270, 2008.

CAMARGO, M. G. Software SYSGRAN 2005: análises e gráficos sedimentológicos. Disponível em: [www.cem.ufpr.br/sysgran](http://www.cem.ufpr.br/sysgran).

CORTE, G. N. **Biologia populacional e reprodutiva de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Veneridae).** 120f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

CORTE, G. N. Reproductive cycle and parasitism in the clam *Anomalocardia flexuosa* (Bivalvia: Veneridae). **Invertebrate Reproduction e Development**, 37-41. 2015.

CORTE, G. N.; COLEMAN, R. A.; AMARAL, A. C. Z. Environmental influence on population dynamics of the bivalve *Anomalocardia flexuosa*. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.187, 241-248, 2017

COSTA, D. F. S. Análise fitoecológica do manguezal e ocupação das margens do estuário hipersalino Apodi/Mossoró (RN/Brasil). Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

DINIZ, M. T. M.; VASCONCELOS, F. P. Natural conditions for the sea salt production in Brazil. **Mercator**, v.16, 2017.

GERALDI, R. M. **Distribuição espacial, recrutamento, crescimento e mortalidade de *Erodona mactroides* Bosc, 1802 (Mollusca, Pelecypoda) na Lagoa dos Patos, RS – Brasil**. Tese (Doutorado Oceanografia Biológica) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2002.

GOSLING, E. **Bivalve Molluscs: biology, ecology and culture**. Fishing News Books Oxford 443p, 2003.

GROTTA, M. e LUNETTA, J.E. Ciclo sexual de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin,1791) do litoral do Estado da Paraíba. **Revista Nordest. Biol**, v.3.n.1, 5-55,1980.

HAMMER, U.T. **Saline lake ecosystem of the world**. Dordrecht: Junk Publishers, 1986.

HAMMER, O. Software past 1999-2019: Paleontological Statistics. Disponível em: <https://folk.uio.no/ohammer/past/>.

LAGREZE, F. J. S.; ALBUQUERQUE, M. C. P.; ARAUJO, J.; SUHNEL, S.; MELO, C. M. R. Sobrevivência e Crescimento de larvas do molusco de areia *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) em laboratório. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.41, n.1, 133-143, 2015.

LARGIER, J. Low-inflow estuaries: hypersaline, inverse, and thermal scenarios. In: VALLE-LEVINSON, A. (Ed.) **Contemporary issues in estuarine physics**. New York: Cambridge University Press, p. 247-272, 2010.

LAVANDER, H. D.; CARDOSO JÚNIOR, L. O.; OLIVEIRA, R. L.; NETO, S. R. S.; GALVEZ, A. O.; PEIXOTO, S. R. M. Biologia reprodutiva da *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) no litoral norte de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.2, 2011.

LEONEL, R. M. V.; MAGALHÃES, A. R. M.; LUNETTA, JE. Sobrevivência de *Anomalocardia flexuosa* (GMELIN, 1971) (Mollusca: Bivalvia) em diferentes salinidades. **Bol. Fisiol. Animal Univ. S. Paulo**, São Paulo, v. 7, p. 63-72, 1983.

LIMA, S. A. O. e ANDRADE, H. A. Zoneamento da área extrativista mais produtiva da *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Mollusca: Bivalvia) no mundo. **Biotemas**, v.31, n.3, 33-41, 2018.

LUZ, J. R.; BOEHS, G. Reproductive cycle of *Anomalocardia flexuosa* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) in the estuary of the Cachoeira River, Ilhéus, Bahia. **Braz. J. Biol.**, v.71, n.3, 679-686, 2011.

MAIA, A. M. L. R.; MEDEIROS, E. L.; SILVA, G. H. G. Efeito da salinidade sobre a sobrevivência do bivalve *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767). **Scientia Agraria Paranaensis**, v.16, n.4, 495-499, 2017

MCLACHLAN, A. Physical factors in benthic ecology: effects of changing sand particle size on beach fauna. **Mar Ecol Prog Ser**, v. 131, 205-217, 1996.

MEDEIROS, A. M. A.; BARBOSA, J. E. L.; MEDEIROS, P. R.; ROCHA, R. M.; SILVA, L. F. Salinity and freshwater discharge determine rotifer distribution at the Mossoró River Estuary (Semiarid Region of Brazil). **Braz. J. Biol.**, v.70, n.3, 551-557, 2010.

MEDEIROS, D. H. **Ambientes hipersalinos no litoral semiárido brasileiro: zona estuarina do rio Apodi-Mossoró (RN)**. 151f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2016.

MEDEIROS, D. H. M.; CAVALCANTE, A. A.; PINHEIRO, L. S. Respostas dos padrões de sedimentação e hipersalinidade na cobertura vegetal de planície estuarina sob influência da semiaridez. **Geosul**, v.33, n.66, 70-84, 2018<sup>a</sup>.

MEDEIROS, D. H. M.; CAVALCANTE, A. A.; PINHEIRO, L. S.; ROCHA, R. M. Variação longitudinal da salinidade do estuário hipersalino do rio Apodi/Mossoró (Rio Grande do Norte/Brasil). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.11, n.03, 2018b.

MIRANDA, L.B.; CASTRO, B. M.; KJERFVE, B. **Princípios de oceanografia física de estuários**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002.

MONTI, D.; FRENKIEL, L.; MOUEZA, M. Demography and growth of *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin) (Bivalvia: Veneridae) in a mangrove, in guadeloupe (French West Indies). **J. Moll. Stud.**, v.57, 249-257, 1991.

NARCHI, W. Aspectos ecológicos e adaptativos de alguns bivalves do litoral paulista. **Papéis Avulsos de Zool.**, v.27, n.19, 235-262, 1974.

OLABARRIA, C.; THURSTON, M. H. Latitudinal and bathymetric trends in body size of the deep-sea gastropod *Troschelia berniciensis* (King). **Marine Biology**, v.143, 723-730, 2003.

OLIVEIRA, I.; AMORIM, A.; LAVANDER, H.; PEIXOTO, S.; GÁLVEZ, A. O. Spatial and temporal distribution of the shellfish *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) on Mangue Seco beach, Pernambuco, Brazil. **International Journal of Aquatic Science**, v.2, n.1, 2011.

OLIVEIRA, L.; LAVANDER, H.; RODRIGUES, S.; BRITO, L. O.; GÁLVEZ, A. O. Crescimento do berbigão, *Anomalocardia flexuosa* (Bivalvia: Veneridae) na praia de Mangue Seco, Pernambuco, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 46, n.1, 22-28, 2013.

PEZZUTO, P.R. & A.M. ECHTERNACHT. Avaliação de impactos da construção da Via Expressa SC-Sul sobre o berbigão *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Pelecypoda) na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé (Florianópolis, SC -Brasil). **Atlântica**, Rio Grande, v.21, 105-119, 1999.

PEZZUTO, P. R. & SOUZA, D. S. A pesca e o manejo do berbigão (*Anomalocardia flexuosa*) (Bivalvia: Veneridae) na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé, SC, Brasil. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v.34, 169-189, 2015.

PINHEIRO, L. S.; MORAIS, J.O. Interferências de barramentos no regime hidrológico do Estuário do Rio Catú-Ceará-Nordeste do Brasil. **Sociedade & Natureza**, v. 22, n. 2, 237-250, 2010.

PINTO, S. L. **Os moluscos *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) e *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) como bioindicadores de poluição orgânica no estuário da Baía do Pina, Recife-PE, Brasil.** 114f. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

RIOS, E. **Compendium of Brazilian Sea Shells.** Rio Grande, RS. 668 p., 2009.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. 2018.

ROCHA, A. B.; BACCARO, C. A. D.; SILVA, P. C. M.; CAMACHO, R. G. V. Mapeamento geomorfológico da baía do Apodi-Mossoró – RN – NE do Brasil. **Mercator – Revista de Geografia da UFC**, v.8, n.16, 2009.

ROCHA, A. B.; CLAUDINO-SALES, V. C.; SALES, M. C. L. Geoambientes, uso e ocupação do espaço no estuário do Rio Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. **REDE – Revista Eletrônica do Prodepa**, v.7, n.2, 60-75, 2011a.

ROCHA, A. B. Análise multitemporal da dinâmica do uso e ocupação do baixo curso do rio Apodi/Mossoró – RN (1989-2009). Dissertação (Mestrado em Geografia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011b.

RODRIGUES, A.M.L. **Ecologia populacional do molusco bivalve *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Bivalvia) (Veneridae) em praias da região estuarina do Rio Apodi-Mossoró/RN.** 93f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Arido, Mossoró, 2009.

RODRIGUES, S.; LAVANDER, H.; OLIVEIRA, L.; BATISTA, A.; OLIVEIRA, I.; GÁLVEZ, A. O. Distribuição e abundância relativa do berbigão, *Anomalocardia flexuosa*, na praia de Mangue Seco, Pernambuco, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v.46, n.2, 70-75, 2013.

SANTOS, J. J. S.; TERCEIRO, A. M.; YAURI, W. L. M. Dinâmica da população de *Anomalocardia flexuosa* (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) no Estuário do Rio Paciência, no município da Raposa, Estado do Maranhão. **Anuário do Instituto de Geociências**, v. 37, n.1, 61-69, 2014.

SAVENIJE, H. H. G.; PAGES, J. Hypersalinity: a dramatic change in the hydrology of Sahelian estuaries. **Journal of Hydrology**, v.135, 157-174, 1992.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Análise populacional de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791), na praia do Saco da Ribeira, Ubatuba, Estado de São Paulo. **Bol. Inst. Oceanogr.**,v.29, n2, 351-355, 1980.

SILVA-CAVALCANTI, J. S. **Biologia e exploração de *Anomalocardia flexuosa* por populações de ribeirinhos no estuário do Rio Goiana (PE-PB) nordeste do Brasil.** 177f. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SILVA-CAVALCANTI, J. S; COSTA, M. F.; ALVES, L. H. B. Seasonal variation in the abundance and distribution of *Anomalocardia flexuosa* (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) in a estuarine intertidal plain. **Peer J**, v.6, 2018.

STANLEY, S. Relation of shell form to life habitats in the bivalve mollusca. **Mem. Geol. Soc. Am.**,v.125, 1970.

WENTWORTH, C. K. A scale of grade and class terms for clastic sediments. **Journal of Geology**, USA, v. 30, 1922. In: SUGUIO K. **Introdução a Sedimentologia**. Edgard Blucher, 317p, 1973.

WILSON W.H. Competition and predation in marine soft-sediment communities. **Annual Review of Ecology and Systematics** 21, 221–241, 1990.

## CAPÍTULO II

### **Morphometric relationships and morphological sexual maturity for the clam *Anomalocardia flexuosa*.**

Ítala Alves de OLIVEIRA; Kcrishna Vilanova de Souza BARROS; Cristina de Almeida ROCHA-BARREIRA

Laboratório de Zoobentos do Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará (Labomar/UFC). Av. da Abolição, 3207. Meireles. Fortaleza-Ceará-Brasil. CEP: 60.165-081. Fone: +55(85)33667008. <sup>1</sup>Email for correspondence: [italaalves@hotmail.com](mailto:italaalves@hotmail.com)

**Abstract:** *The objective of this work was to describe the morphometric relationships among different shell dimensions of the bivalve *Anomalocardia flexuosa*, to verify possible changes in the growth pattern, to determine the adult and juvenile phases, and the size of sexual maturity of the species. Considering the 52873 specimens measured in the present study, all the allometric relationships established for *A. flexuosa* were significant, and both the relations between Length x Height and Length x Width presented positive allometry. The K means clustering separated the dataset between juveniles and adults defining from 13.20 mm to 14.60 mm as the interval of length for the transitional phase. The pattern of growth between juveniles and adults was significantly different, with juveniles exhibiting isometric growth, while adults exhibited a negative allometric growth. The adjustment of the logistic model indicated that the shell length of sexual maturity was 13.80 mm. The juvenile shell of *A. flexuosa* had a more rounded shape than the adult. Processes related to animal development and environmental characteristics may influence the shape of the shell. The maturity size obtained in the present study is within the range of maturation proposed in the literature.*

**Keywords:** Allometry, L50, Shell Morphometry

#### 7 INTRODUCTION

The species *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (BIVALVIA: VENERIDAE) has a wide geographic distribution, occurring from Antilles to Uruguay, inhabiting calm, sheltered waters, such as bays and coves (Rios, 2009; Narchi, 1974). This bivalve can be found in practically all the Brazilian coast, being exploited and serving as a source of subsistence and income, thus presenting social and economic importance for many coastal communities (Barletta & Costa, 2009; Boehs *et al.*, 2010).

This cockle is an eurythermal and eurythermic species, quite resistant to salinity and temperature variations, as well as to the oscillations of dissolved oxygen in the

water (Schaeffer-Novelli, 1976). However, hypersaline conditions could be a limiting factor for the development of marine cockles, since salinity may affect their growth and survival (Brown & Hartwick, 1988). There are some studies on *A. flexuosa* focusing on the biology and ecology, which help us to a better understanding of the life history of the species (Barreira & Araújo, 2005; Boehs *et al.*, 2008; Corte *et al.*, 2015; Grotta & Lunetta, 1980; Pezzuto & Echternacht, 1999; Luz & Boehs, 2011). However, growth-related aspects are poorly addressed, especially the allometric studies, which inform the descriptions of the morphological patterns of growth.

The concept of allometry has been applied in ecological studies on growth of marine animals since the 19<sup>th</sup> century, and it has provided information on the shape and the growth pattern of the animals (Broad, 1997). The relationships between measures of the shell can inform about animal's relationships with the environment, especially with the substrate (Estrada, 2004).

Studies focusing on population dynamics, particularly growth and reproduction, are essential to evaluate how environmental and anthropogenic factors, such as shellfish harvesting may affect the population structure of exploited species, supporting plans for management of fishery resources (Araújo, 2001). The determination of the size at which the individuals reach their sexual maturity is also essential, especially when the populations are commercially exploited. Other reproduction studies for *Anomalocardia flexuosa* have not established the maturation size of the individuals (Grotta & Lunetta, 1980; Lavander *et al.*, 2011; Boehs *et al.*, 2010), difficulting to compare estimations of distinct sizes in different environmental conditions, and do not allow greater considerations on the influence of environmental variables on gonadal development.

The aim of this study was to define the morphometric relationships between the different shell dimensions of the cockle *Anomalocardia flexuosa*, to verify possible modifications in the pattern of growth between adults and juveniles, and to determine the size of sexual maturity of the species.

## 8 MATERIAL AND METHODS

### **Study area and sampling work**

At the easternmost region of the Brazilian semiarid coast, the coast of Rio Grande do Norte state, located in the northeastern region of Brazil, has a semiarid hot climate, with high temperatures along the year. The water bodies exhibit peculiar abiotic characteristics, as natural evapotranspiration rates exceeding precipitation and reduced

runoff, favouring the formation of hypersaline plains, as in Apodi-Mossoró basin (Medeiros, 2016). Thus, the Apodi-Mossoró outfall is classified as a negative or inverted estuary (Medeiros, 2016), in which an increasing salinity gradient occurs from the outfall to the upper areas, promoting hypersalination of water and sediment, which represents its main abiotic characteristic.

Specimens of *Anomalocardia flexuosa* were collected in the estuarine zone of Apodi-Mossoró outfall (4° 56 '51 "S and 37° 08' 55" W), where the harvesting of *A. flexuosa* is a common historical activity, fully diffused among coastal communities of this region. In Costa Branca region, this bivalve provides livelihood for many families (Silva *et al.*, 2014). Nevertheless, overexploitation of resources, especially associated with free access to stocks and the simplicity of capture techniques, may interfere with the self-regulation of this resource, since it acts on population renewal and does not guarantee that losses, caused by the removal of individuals, will be compensated by population growth and reproduction processes (Sparre & Venema, 1997).

Twenty-seven monthly samples were obtained from November 2015 to October 2016 in three different: A (a sand-mud bank); B (a muddy bank); and C (covered by sparse patches of the seagrass *Halodule wrightii* Asch.), where the *A. flexuosa* is distributed, at the mouth and in the upper sites of the estuarine region (Figure 1).

During the low spring tides, the individuals were captured with a fixed-quadrat sampler (50x50 m) and a shovel, removing a sediment layer of approximately 10 cm. In the laboratory, the following variables were measured of each specimen, using a digital caliper (0.05 mm precision): shell length (maximum distance on the antero-posterior axis); shell height (maximum distance ventral-dorsal axis); and shell width (maximum distance on the left-right axis, with closed valves) (Gosling, 2003; Stanley, 1970) (Figure 2).

### ***Morphometric Analysis***

Morphometric relationships between length-height and length-width were established through the equation:  $Y = a + bX$ , where  $X$  = length,  $Y$  = width/height,  $a$  = y-axis intercept and  $b$  = slope coefficient of straight or constant allometric growth, as proposed by Sigh (2016). A logarithmic transformation of the data was conducted to normalize the data and reduce the heterogeneity of variance, then, equational parameters were estimated through linear regressions. The  $t$ -test ( $\alpha = 0.05$ ) was used to verify the

allometry, analyzing the value of 'b', using as null hypothesis  $(b) = 1$ , which indicates the differences between the growth rates of the two body dimensions, thus setting allometry positive ( $b > 1$ ), negative ( $b < 1$ ) or isometry ( $b = 1$ ).

*K means* clustering technique was used to separate the data set (Length, Height and Width) of juvenile and adult categories, a methodology widely used in marine invertebrate studies (Castaglioni & Coelho, 2011; Hirose *et al.*, 2017). Morphometric relationships between length and height were evaluated for juveniles and adults, subsequently; the respective estimated linear and angular coefficients were compared using analysis of covariance (ANCOVA).

### ***Determination of morphological sexual maturity***

The size of morphological sexual maturity was determined by fitting a logistic model [ $y = a/(1 + be^{-cx})$ ] between immature and mature individuals (juveniles and adults separated by *K means*), relating the probability of maturation (probability of occurrence of adults) and length. The length class in which 50% of individuals matured (L50) is defined as the average length of sexual maturity, or maturation size (Fonteles Filho, 2011; Hirose *et al.*, 2017; Severino-Rodrigues *et al.*, 2016). The definition of the L50 allows the determination of the transitional moment from juvenile to adult phase, thus defining an average length in which the stock separation occurs (Fonteles-Filho, 2011), considering a representative portion of the population, and it can be established from studies of allometry.

All analyzes performed in the present study were developed in software R 3.5.0 (R Core Team, 2018).

## **9 RESULTS**

A total of 52872 were captured and measured, with length, height and width means of 15.30 mm, 12.87 mm and 8.90 mm, respectively (Table 1).

All the allometric relationships established for *A. flexuosa* were significant ( $\alpha = 0.05$ ), and the linear models fitted well to the data (Table 2, Figure 3). Both relationships between L x H and L x W had a positive allometry ( $b > 1$ ). The coefficient of determination ( $r^2$ ) for L x H was higher than for L x W, justifying the choice of these variables to investigate possible differences in the morphometric relationships between juveniles and adults (Table 2).

The cluster analysis (*K means*) split the data set into two categories. The test identified as juveniles and adults, being the interval of length between 13.20 and 14.60 mm the transition between these categories (Figure 4). The results provided by *K means* were used as a reference for the growth analysis between length and height of juveniles and adult shells.

The covariance analysis showed that the growth pattern between juveniles and adults differed significantly ( $\alpha = 0.05$ ), with juveniles exhibiting an isometric growth ( $b = 1$ ,  $p > 0.05$ ) and adults, negative allometric ( $b < 1$ ,  $p < 0.05$ ) (Table 3). The same occurs when we observe the results between the different areas analyzed. In the area A, which represents an area with sandy-muddy sediment, the juveniles presented isometric growth ( $b = 1$ ,  $p > 0.05$ ), while the adults presented positive allometric growth ( $b > 1$ ,  $p < 0.05$ ). For area B, where the substrate consists of a muddy sediment with finer aggregates, both juveniles and adults presented allometric growth. And for area C, where there is a sparse patches of seagrass, juveniles and adults grow following a negative allometric standard (Tabela 4).

The adjustment of the logistic model indicated that 50% of individuals (L50) reached sexual maturity from 13.80 mm in length (Figure 5).

## 10 DISCUSSION

Relationships between height, width and length of *Anomalocardia flexuosa* exhibited a positive allometry. When 'b' is higher than 1, prevailing positive allometry, the variable 'y' increases at a faster rate than 'x' (Hickman, 1979). Thus, the increase in height/width was greater than in length, leading to a taller and thicker shell as the individual grows. This pattern also seems common in different bivalve species of the Algarve coast (Gaspar *et al.*, 2002). These authors reported the sediment characteristics (composition and depth) and the digging capacity of the animals as the main regulators of the growth. *A. flexuosa* is a shallow digger, inhabiting shallow sandy-muddy sediment areas (Narchi, 1974; Rios, 2009), which are more resistant to penetration and may reduce their potential of excavation, interfering with the increase in length. For the genus *Acanthocardia*, also a superficial excavator, the more inflated shape and its larger volume difficult to penetrate the sediment (Gaspar *et al.*, 2002).

Gosling (2003) states that the allometric adaptations maintain the physiological condition of the area/volume rate of the animal favorable to live in a certain

environmental condition. Clam diggers shallow have thicker shells precisely to keep itself stable in the sediment and closer to the surface. In addition, more rounded shells favor the lodging of short siphons (Newel & Hidu, 1982), such as those of *A. flexuosa*.

Different microhabitats found in certain environments may interfere with the external morphology of the shell, and sediment appears to be a major factor controlling these alterations. Evaluating the shape of the *Anomalocardia* shells in different regions of Thailand, Roopnarine *et al.* (2008) found differences in the format among different areas analyzed. Areas of sandy, muddy sediments and well-established seagrass meadows exhibited significant differences in shell size and special attention was given to individuals who settled in areas with seagrass, as they had a more rounded posterior margin (Roopnarine *et al.*, 2008). Addino *et al.* (2015) also observed changes related to the growth, especially size, of *Tagelus plebeius* in areas where *Spartina alterniflora* occurred.

Some studies indicated that the growth is not continuous throughout the development of *A. flexuosa*, with a non constant growth rate (Katsanevakis *et al.*, 2007), and report that morphometric relationships need to be analyzed separately between juveniles and adults (Gil *et al.*, 2007). Animal size and age also affect the process of animal-sediment relationships and in the excavation capacity (Stanley, 1970), which consequently is influenced by changes in shell morphology, and perhaps on the type of substrate where the animal grows. The interaction of the individual with the environment is more informative and conclusive in adult ones, who already achieved growth pattern stability. Thus, the age of the animal influences in the growth patterns and may interfere on regression estimations (Estrada, 2004). A simple regression test can incorporate effects related to the animal development, but it may not be easily perceived when analyzing the entire dataset. The growth pattern found between different groups (biphasic model for juveniles and adults) differed from the simple allometric model (no clusters). Using only a simple model can mask the relationships between the different categories, so the growth pattern may be inadequately evaluated. Therefore, simple allometric analyzes are now considered inadequate for the description of general growth patterns in bivalves, since the growth rate does not remain constant throughout animal development (Gil *et al.*, 2007).

In the present study, the biphasic model (young and adult) indicated that juveniles' growth was isometricall ( $b = 1$ ), i.e. length and height grow at the same velocity; after the transitional point between phases is reached, the rate of growth

velocity of the length and height becomes slower ( $b < 1$ ), characterizing a negative allometry, in which length grows faster than height. Thus, adults grow at a slower rate than juveniles, differing not only in shell size but also in shape. Therefore, the *Anomalocardia flexuosa* shells exhibit a different morphological pattern of growth for juveniles and adults. The juveniles grow proportionally, obtaining a more rounded and geometrically similar shell. The triangular or trigonal shape, typical of the genus, is less perceptible in juveniles and gets more evident in adults. In adults, the increase in length is more expressive and the elongation of the shell becomes more noticeable, which may justify the fact that it makes the posterior portion of *A. flexuosa* more prominent. Bivalve individuals, when juveniles, presents a major variation in shell dimensions and alterations in length, height and width growth rates (Gil *et al.*, 2007). Therefore, the general pattern of shells is established only in the adult stages.

Together, the patterns of growth between juveniles and adults between different substrate types found in the A, B and C areas, we can conclude that the juveniles presented really larger variations in the shell dimensions between their type of substrates. In the sandy-muddy substrate (A), the adults had a growth in a greater proportion in height than in length, and it may be related to the high density in which the individuals are distributed in this area. *Anomalocardia flexuosa* is buried with the antero-posterior axis vertically in the substrate and therefore the lack of space may hinder the burial of individuals, not compensate for the growth in length. As for the adults in the other areas (B and C), as well as juveniles from area A, the standards also followed the results obtained for the biphasic models, previously discussed (negative allometry). For the juveniles of muddy substrate (B) the growth was defined as allometric positive, since these individuals present conditions for surface burial, by the condition area / volume and the contribution of a short siphon, as previously mentioned, the burial capacity is difficult, which does not contribute to growth in length. While for the seagrass-associated substrate (C), the growth of juveniles was defined as negative allometric, probably associated with space competition with the roots and rhizomes of the plants, generating modifications in the growth of the juvenile shell. Besides the presence of the plant is already known to modify hydrodynamics and sedimentary processes (Addino *et al.*, 2015), which can interfere in the occupation and development of the bivalve. Thus, a direct influence of the seagrass meadows development on the animal growth was not clearly observed in the present study. Probably due to the recent establishment of this seagrass in the region of study.

In addition to the sediment type (Newell & Hidu, 1982), other environmental factors as temperature, salinity, food availability (BROWN & HARTWICK, 1988) and pollution (Hedouin, 2006) are factors that could also affect allometric ratios of bivalve shells inducing growth changes, and they are aspects that should be evaluated for *A. flexuosa* in the future, face the economical importance of the species, management, climate changes and anthropogenic pressures.

Regarding to the morphological sexual maturity, the size of the sexual maturity established for *A. flexuosa* in the present study (13.8 mm) is within the maturity range (12.9 - 17.9 mm) proposed by Barreira and Araújo (2005), defined through histological routines with samplings in an estuary of the Ceará coast, without annual hypersalinity characteristics, but also inserted in the Brazilian semiarid.

This methodology for the determination of morphological maturity, quite applied in dynamics studies of marine invertebrates' population (Hirose *et al.*, 2017; Severino-Rodrigues *et al.*, 2016), seems to be efficient for bivalves and it may assist in studies of growth and reproduction, especially of exploited species that require regulation of catch sizes, which is essential for the sustainability and management of fisheries activities.

Like hypersalinity, the harvesting also does not seem to conduct changes in the growth or reproduction of this bivalve in the study area. Under overexploitation conditions, the progressive and severe removal of older and larger individuals, which are important in reproductive stock, can lead to a premature sexual maturity, as strategy to ensure reproductive success and compensate the losses caused by fisheries (Fonteles-Filho, 2011). Yet which seems not to occur in the population studied, probably because the level of exploitation can still be considered sustainable to maintain a renovação da população, and with the growth of the seagrass meadows at the point studied, the fishermen moved to other areas without seagrass, reducing their fishing effort. However, studies on stock assessment can offer a well-defined approach on these aspects.

Comparisons between the size of morphological maturity and physiological maturity may reinforce the present finds. Histological analysis of the gonads may also reinforce these results and studies focusing on population dynamics can help to a better understanding of the population structure of the *A. flexuosa*.

**Addino, M.S.; Montemayor, D.I.; Escapa, M.; Alvarez, M.F.; Valiñas, M.; Lomovasky, B.J. and Iribarne, O.** (2015) Effect of *Spartina alterniflora* Loisel, 1807 on growth of the stout razor clam *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) in a SW Atlantic estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 463,135–142.

**Araújo, C.M.**, 2001. *Biologia Reprodutiva do berbigão Anomalocardia flexuosa (Linnaeus, 1767) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na Reserva Extrativista Marinha de Pirajubaé*. Msc thesis, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

**Barletta, M. and Costa, M.F.** (2009) Living and non-living resources exploitation in a tropical semi-arid estuary. *Journal of Coastal Research* 56,371-375.

**Barreira, C.A.R. and Araújo, M.L.R.** (2005) Ciclo reprodutivo de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca* 31,1,9-20.

**Boehs, G.; Absher, T.M. and Cruz-Kaled, A.C.** (2008) Ecologia populacional de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Bivalvia, Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil. *Boletim Instituto de Pesca* 34,2,259-270.

**Boehs, G.; Villalba, A.; Ceuta, L.O. and Luz, J.R.** (2010) Parasites of three commercially exploited bivalve mollusc species of the estuarine region of the Cachoeira river (Ilhéus, Bahia, Brazil). *Journal of Invertebrate Pathology* 103,43–47.

**Broad, L.R.** (1998) Allometry and Growth. *Forest Science* 44,3, 458-464.

**Brown, J.R. and Hartwick, E.B.** (1988) Influences of temperature, salinity and available food upon suspended culture of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. I. Absolute and allometric growth. *Aquaculture* 70,231-251.

**Castiglioni, D.S. and Coelho, P.A** (2011) Determinação da maturidade sexual de *Ucides cordatus* (Crustacea, Brachyura, Ucididae) em duas áreas de manguezal do litoral sul de Pernambuco, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia* 101,138-144.

**Corte, G.N.; Yokoyama, L.Q.; Coleman, R.A. and Amaral, C.Z.** (2015) Population dynamics of the harvested clam *Anomalocardia flexuosa* (Bivalvia: Veneridae) in Cidade beach, south-east Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 95,6,1183-1191.

**Estrada, T.D.** (2004) *Variação morfológica de conchas de Anomalocardia flexuosa (Linnaeus, 1767) em praias de diferentes condições ambientais no sudeste do Brasil*. Msc thesis, University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

**Fonteles-Filho, A.A.** (2011) *Oceanografia, biologia e dinâmica populacional de recursos pesqueiros*. Fortaleza: Expressão Gráfica Editora.

- Gaspar, M.B.; Santos, M.N.; Vasconcelos, P.; Monteiro, C.C.** (2002) Shell morphometric relationships of the most common bivalve species (Mollusca: Bivalvia) of the Algarve coast (southern Portugal). *Hydrobiologia* 477,73–80.
- Gil, G.M.; Troncoso, J.S.; Thomé, J.W.** (2007) *Shell shape stabilization indicator (IEF) Handling and optimization of bivalve mollusks exploitation*. Porto Alegre: Author's Editon.
- Gosling, E.** (2003) *Bivalve Molluscs: biology, ecology and culture*. Oxford: Fishing New Books Oxford.
- Grotta, M. and Lunetta, J.E.** (1980) Ciclo sexual de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) do litoral do Estado da Paraíba. *Revista Nordestina de Biologia* 3,1,5-55.
- Hédouin, L.; Metian, M.; Teyssié, J.L.; Fowler, S.W.; Fichez, R. and Warnau, M.** (2006) Allometric relationships in the bioconcentration of heavy metals by the edible tropical clam *Gafrarium tumidum*. *Science of the Total Environment* 366,154–163.
- Hickman, R.W.** (1979) Allometry and Growth of the Green-Lipped mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. *Marine Biology* 51,311-327.
- Hirose, G.L.; Fransozo, V.; Bolaños, J.; Shimizu, R.M.; Hernández, J.; Santos, R.C.; Lira, C. and Negreiros-Fransozo, M.L.** (2017) Allometric growth and morphological sexual maturity of the atlantic ghost crab *Ocypode quadrata* (Fabricius, 1887) (Crustacea: Decapoda: Ocypodidae) from three different geographic regions. *Boletim Instituto Oceanográfico de Venezuela*, 141-153.
- Katsanevakis, S.; Thessalou-Legaki, M.; Karlou-Riga, C.; Lefkadiou, E.; Dimitriou, E. and Verriopoulos, G.** (2007) Information-theory approach to allometric growth of marine organisms. *Marine Biology* 151,949–959.
- Lavander, H.D.; Júnior, L.O.C.; Oliveira, R.L.; Neto, S.R.S.; Galvez, A.O. and Peixoto, S.R.M.** (2011) Biologia reprodutiva da *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) no litoral norte de Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 6,2,344-350.
- Luz, J.R.; Boehs, G.** (2011) Reproductive cycle of *Anomalocardia flexuosa* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) in the estuary of the Cachoeira River, Ilhéus, Bahia. *Brazilian Journal of Biology*. 71,3,679-686.
- Medeiros, A.M.A.; Barbosa, J.E.L.; Medeiros, P.R.; Rocha, R.M. and Silva, L. F.** (2010) Salinity and freshwater discharge determine rotifer distribution at the Mossoró River Estuary (Semi-arid Region of Brazil). *Brazilian Journal of Biology* 70,3,551-557.
- Narchi, W.** (1974) Aspectos ecológicos e adaptativos de alguns bivalves do litoral paulista. *Papéis Avulsos de Zoologia* 27,19,235-262.

**Newell, C.R. and Hidu, H.** (1982) The effects of sediment type on growth rate and shell allometry in the soft shelled clam *Mya arenaria*. *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* 65,285-295.

**Pezzuto, P.R. and Echternacht, A.M.** (1999) Avaliação de impactos da construção da Via Expressa SC-Sul sobre o berbigão *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Mollusca: Pelecypoda) na Reserva Extrativista Marinha do Pirajubaé (Florianópolis, SC -Brasil). *Atlântica* 21,105-119.

**R Core Team** (2018). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

**Rios, E.C.** (2009) *Compendium of Brazilian Seashells.*, Rio Grande: Evangraf.

**Roopnarine, P.D. and Laumer, J.S.C.** (2008) Systematic, biogeographic and micro-habitat based morphometric variation of the bivalve *Anomalocardia squamosa* (Bivalvia: Veneridae: Chioninae) in Thailand. *The Raffles Bulletin Of Zoology* 18,95–102.

**Schaeffer-Novelli, Y.** (1980) Análise populacional de *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767), na Praia do Saco da Ribeira, Ubatuba, Estado de São Paulo. *Boletim Instituto Oceanográfico de São Paulo* 29,2,351-355.

**Severino-Rodrigues, E.; Furquim, L.G.; Graça-Lopes, R. and Alves, P.M.F.** (2016) Crescimento relativo e tamanho na maturidade sexual do lagostim *Metanephrops rubellus* (Moreira, 1903) desembarcado no litoral do estado de São Paulo, Brasil. *Boletim Instituto de Pesca* 42,2,431-442.

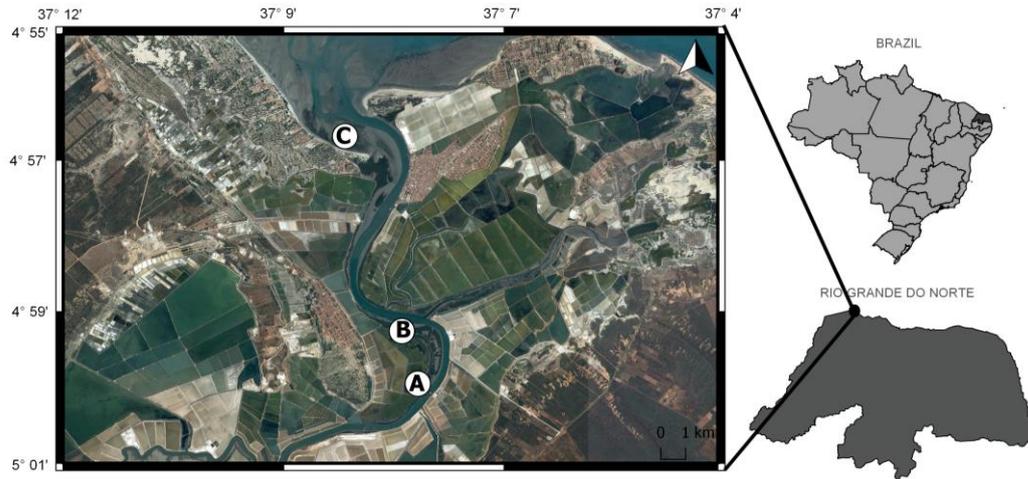
**Silva, G.H.G.; Carolsfeld, J. and Gálvez, A.O.** (2014) *Gente da maré: aspectos ecológicos e socioeconômicos da mariscagem no Nordeste Brasileiro.* Mossoró: EdUFERSA.

**Singh, Y.T.** (2016) Relationships between environmental factors and biological parameters of Asian wedge clam, *Donax scortum*, morphometric analysis, length-weight relationship and condition index: a first report in Asia. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 1-17.

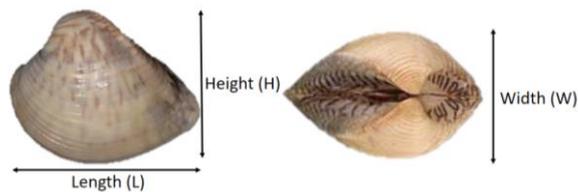
**Sparre, P. and Venema, SC.** (1997) *Introdução à avaliação de mananciais de peixes tropicais.* Roma: FAO.

**Stanley, S.** (1970) Relation of shell form to life habitats in the bivalve mollusca. *Memoirs - Geological Society of America*, 125.

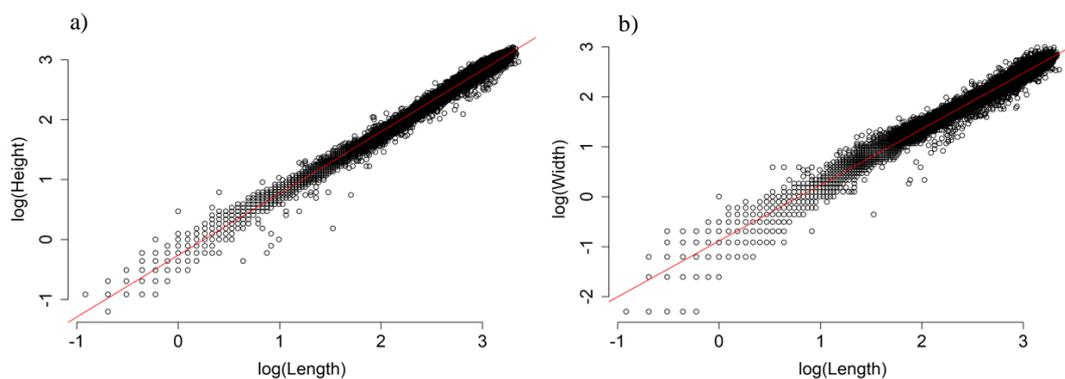
FIGURE



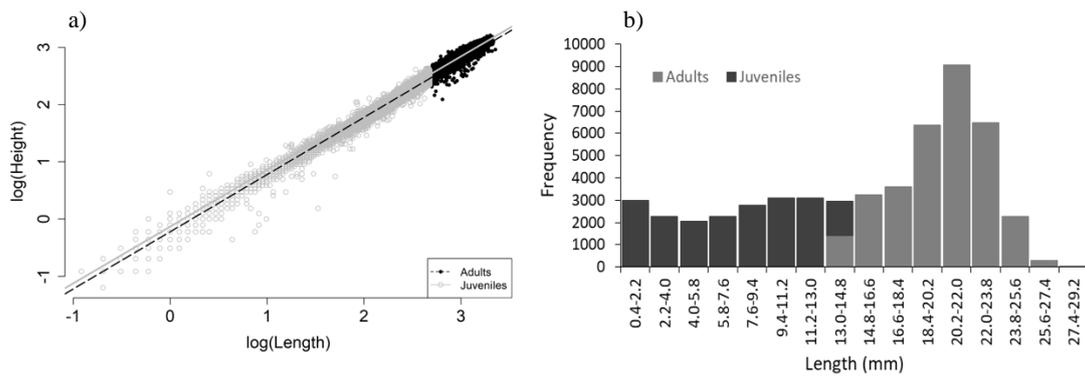
**Fig. 1.** Location of the Apodi-Mossoró estuary, semiarid coast of Brazil. Legend: A, B, C – points of *Anomalocardia flexuosa* collection. Adapted from Wikipedia and Google Earth.



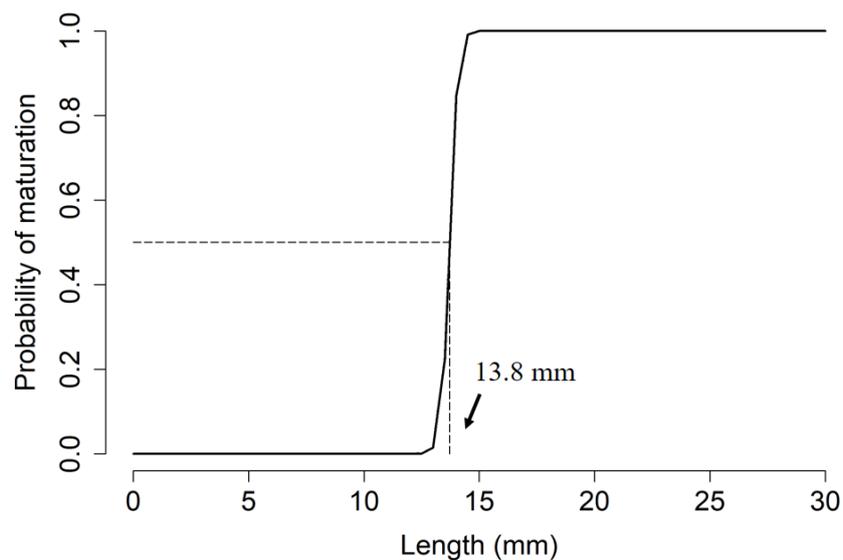
**Fig. 2.** Shell dimensions and morphometric variables measured in *Anomalocardia flexuosa* specimens obtained in Apodi-Mossoró estuary, semiarid coast of Brazil.



**Fig. 3.** Morphometric relationships between Length and Height (a) and Length and Width (b) of *Anomalocardia flexuosa* shells, collected in Apodi-Mossoró estuary, semiarid coast of Brazil.



**Fig. 4.** Linear regression between length and width of the *Anomalocardia flexuosa* shells (a) and length frequency histogram (b) for juveniles and adults, collected in Apodi-Mossoró estuary, semiarid coast of Brazil. The dotted line indicates interval length between juvenile and adult categories.



**Fig. 5.** Maturation probability of cockle *Anomalocardia flexuosa* considering the length class. The dotted line indicates the length at which 50% of individuals reached morphological sexual maturity (L50).

## TABLES

**Table 1.** Minimum, maximum, mean and standard deviation of Length, Height and Width of the *Anomalocardia flexuosa* shells, collected in Apodi-Mossoró estuary, semiarid coast of Brazil.

Morphometric variables	Values		
	Min	Max	Mean± S.D.
Length (mm)	0.40	28.70	15.30 ± 6.99
Height (mm)	0.30	24.80	12.87 ± 6.11
Width (mm)	0.10	20.00	8.90 ± 4.38

SD, standard deviation

**Table 2.** Results of regression analysis and definition of the allometric relationships between length/height, and length/width of *Anomalocardia flexuosa* shells, collected in Apodi-Mossoró estuary, semiarid coast of Brazil.

Variables	A	b	r <sup>2</sup>	Test t (b=1) <i>p</i>	Allometric relation
L x H	-0.27	1.03	0.995	0.00	Positive
L x W	-0.89	1.12	0.991	0.00	Positive

a,b, regression coefficients; r<sup>2</sup>, determination coefficient

**Table 3.** Comparison of morphometric relationships (length/height) for *Anomalocardia flexuosa* shells between juveniles and adults, collected in Apodi-Mossoró estuary, semiarid coast of Brazil.

Variables	Category	a	B	r <sup>2</sup>	Teste t (b=1) <i>P</i>	Allometric relation	ANCOVA	
							<i>p</i>	
							A	b
L x H	Adults	-0.13	0.99	0.89	0.00	Negative		
	Juveniles	-0.22	1.00	0.99	0.07	Isometrie	0.00	0.00

a,b, regression coefficients; r<sup>2</sup>, determination coefficient

**Table 4.** Comparison of morphometric relationships (length/height) for *Anomalocardia flexuosa* shells between juveniles and adults, collected in three different regions of the Apodi-Mossoró estuary, semiarid coast of Brazil.

Variables	Category	Area	a	b	r <sup>2</sup>	Teste t (b=1) <i>P</i>	Allometric relation	ANCOVA	
								<i>p</i>	
L x H	Adults	A	-0.199	1.015	0.92	0,000	Positive		
		B	-0.137	0.994	0.90	0,024	Negative		
		C	-0.063	0.962	0.84	0,000	Negative	<	<0.00
	Juveniles	A	-0,218	1.001	0.99	0,460	Isometrie	0.	
		B	-0,244	1.002	0.99	0,012	Positive	00	
		C	-0,189	0.971	0.99	0,000	Negative		

a,b, regression coefficients; r<sup>2</sup>, determination coefficient

## **CAPÍTULO III - Dinâmica populacional e pesca de *Anomalocardia flexuosa* em um estuário hipersalino**

### **12 INTRODUÇÃO**

*Anomalocardia flexuosa* é um bivalve venerídeo, bastante abundante ao longo de toda costa brasileira (BOEHS, 2008); apresenta resistência as oscilações de diversos fatores ambientais, como redução de oxigênio (SCHAEFFER e NOVELI, 1980), e variações de salinidade (10 a 49 em uma praia estuarina no Rio Grande do Norte) (RODRIGUES *et al.*, 2013). A nível ecossistêmico, participa da ciclagem de nutrientes, fontes de carbonato de cálcio e na produção de biomassa (SILVA-CAVALCANTI e COSTA, 2011), sendo, portanto, considerado um recurso de extrema relevância na geração de alimento e renda para muitas famílias (BARLETTA e COSTA, 2009; BOEHS, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2013; SILVA-CAVALCANTI e COSTA, 2009). Em muitos locais, apresenta destaque na produção de pescado regional, como em Pernambuco, em que cerca de 20% da produção total de mariscos corresponde a *A. flexuosa* (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Turra *et al.* (2013) enfatizam as diversas pressões atuais as quais os diversos recursos marinhos estão sujeitos, em especial a degradação dos ambientes e a intensa exploração pesqueira. Registros atuais de informações provenientes dos praticantes da atividade de mariscagem deste bivalve, especialmente no litoral de Pernambuco, indicam que as populações vêm apresentando reduzidos valores de comprimento da concha (OLIVEIRA *et al.*, 2013; SILVA-CAVALCANTI e COSTA, 2011).

Por ser reconhecidamente um recurso de importância ecológica e socioeconômica, estudos que enfoquem a biologia populacional, buscando avaliar a influência de fatores ambientes e antrópicos, necessitam ser desenvolvidos.

Alguns trabalhos já foram realizados em praias do litoral de São Paulo e Rio de Janeiro (CORTE *et al.*, 2015, 2017; MATTOS E CARDOSO, 2011) e no litoral do Rio Grande do Norte (RODRIGUES *et al.*, 2013), no entanto, poucos deles enfatizam especialmente as interferências da pesca sobre dos atributos populacionais, além das oscilações de fatores ambientais estuarinos. Rodrigues *et al.* (2013) reconheceram a influência da pluviosidade sobre os processos de regulação da densidade e do

crescimento. Corte *et al.* (2017) investigaram aspectos populacionais mais abrangentes, no entanto, levando em consideração as diferenças entre ambientes de alta e baixa energia.

Buscando aprofundar um pouco mais estas informações e tentando entender quais aspectos e variáveis regulam as populações de *A. flexuosa* em diferentes condições de habitats e de níveis de exploração pesqueira é que este estudo foi desenvolvido.

A área de estudo do presente trabalho é uma planície flúvio-marinha, considerada um ambiente hipersalino onde o estoque deste bivalve vem sendo explorado continuamente (SILVA *et al.*, 2011). Entretanto, as influências que a pesca e a condição de hipersalinidade acarretam nos parâmetros de crescimento, mortalidade, recrutamento são pouco conhecidas.

Desta forma, este estudo foi aplicado a fim de estimar os atributos populacionais com vistas à compreensão da dinâmica populacional e pesqueira de *A. flexuosa*. A partir da investigação das frequências de comprimento dos indivíduos é possível determinar idades (ROCHA-BARREIRA *et al.*, 2002) e assim analisar a taxa de crescimento do animal, um dos principais pilares para aplicação dos estudos de dinâmica (HERMANN *et al.*, 2009). Além disso, o potencial sustentável e estado de exploração dos estoques necessitam de conhecimentos prévios obtidos pelos estudos populacionais (DEFFEO e CASTILLA, 2005). Estes podem garantir a utilização sustentável do recurso (CORTE *et al.*, 2015) e assim a aplicação de estratégias de manejo e conservação.

## 12.1 HIPÓTESE

A condição de hipersalinidade e a pesca interferem nos parâmetros populacionais e assim na estrutura da população de *Anomalocardia flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte.

## 12.2 OBJETIVOS

### *Objetivo Geral*

Avaliar a dinâmica populacional de *Anomalocardia flexuosa*, enfocando aspectos relacionados ao crescimento, mortalidade e recrutamento, assim como também verificar o nível de exploração pesqueira deste estoque em um estuário hipersalino.

### *Objetivos específicos*

- Determinar os parâmetros de crescimento de *Anomalocardia flexuosa* para o estuário Apodi-Mossoró e assim analisar a curva de crescimento desta espécie;
- Estimar taxa de mortalidade natural e por pesca, e a taxa de exploração de *Anomalocardia flexuosa* na condição de hipersalinidade;
- Identificar períodos de recrutamento da espécie na área de estudo;
- Avaliar a influência de fatores ambientais, como salinidade e precipitação, sobre as taxas de mortalidade e recrutamento desta espécie;
- Determinar o rendimento máximo sustentável e a taxa de exploração máxima suportada pelo estoque de *Anomalocardia flexuosa*, e assim avaliar o estado de exploração deste recurso pesqueiro.

## **13 MATERIAL E MÉTODOS**

### *Caracterização da área de estudo, procedimentos de campo e laboratório*

A definição da área de estudo, assim como os aspectos relacionados aos procedimentos de campo e laboratório foram descritos no capítulo I desta tese. O presente capítulo segue o mesmo procedimento relatado anteriormente.

### *Análise dos dados*

Histogramas mensais e tabelas de frequência de comprimento, considerando apenas a variável comprimento da concha, com diferentes intervalos de classe, foram construídos a fim de definir qual deles ofertou a melhor estimativa dos parâmetros de crescimento.

Todas as análises referentes a dinâmica populacional foram desenvolvidas no programa R 3.5.0 (R CORE TEAM, 2018), utilizando-se a rotina ELEFAN, desenvolvida no software FISAT (GAYANILO *et al.*, 2005) e adaptada pelo software R através dos pacotes TropFishR (MILDENBERGER *et al.*, 2019) e qpcr (ANDREJ-NIKOLAI, 2018).

Dentro da rotina ELEFAN, foi possível determinar os parâmetros relacionados ao crescimento do animal, com base na equação de crescimento de Von Bertalanffy - VBGF (1938):  $L_t = L_{\infty} (1 - \exp^{-k(t-t_0)})$  - em que,  $L_t$  = o comprimento do indivíduo na idade “t”, o parâmetro  $L_{\infty}$  define o comprimento assintótico, ou comprimento máximo que a espécie pode alcançar, o  $k$  = constante de crescimento, e  $t_0$  = idade teórica em que o comprimento é zero.

O modelo de curva de crescimento de Von Bertalanffy (VBGF) é mais indicado para descrever o crescimento de organismos em plena fase de exploração (DIAS, 2008). As melhores estimativas foram escolhidas, levando em consideração os aspectos biológicos já conhecidos para a espécie, como também a partir da definição do score do programa que determina o ajuste da curva aos dados observados, definido como  $R_n$ . O  $R_n$  assume valores que oscilam de 0 a 1, quanto mais próximo de 1 melhor o ajuste da curva e a estimativa dos parâmetros populacionais.

A partir da definição de todos os parâmetros de crescimento, utilizando a equação de Von Bertalanffy para determinação das idades, uma curva de idade por comprimento médio dos intervalos de classes ( $L_t$ ) foi confeccionada. O índice de desempenho de crescimento ( $\phi$ ) foi calculado, a partir da relação entre  $L_\infty$  e  $k$ , para a comparação das equações de crescimento da espécie, no presente estudo e em diferentes locais e períodos citados na literatura, como indica Fonteles-Filho (2011). A idade máxima ( $t_{max}$ ) foi calculada a partir da equação inversa de VBGF, definida para idade, levando em consideração o valor de  $L$  como sendo  $L_{99\%}$ , em que o comprimento da concha corresponde a 99% do comprimento assintótico como proposto por Sparre *et al.* (1989).

Para as estimativas das taxas de mortalidade, foram utilizadas diferentes metodologias. A taxa instantânea de mortalidade natural ( $M$ ) foi determinada a partir de uma fórmula empírica, proposta por Then *et al.* (2015) aplicada ao *software* R, que utiliza os dados referentes aos parâmetros de crescimento ( $k$  e  $L_\infty$ ) como pressupostos para definir a taxa de mortalidade natural. Já a taxa instantânea de mortalidade total ( $Z$ ) foi calculada com base na curva de captura linearizada da espécie, que leva em consideração as frequências de comprimento dos indivíduos e a captura referente a cada grupo. A curva de captura informa a sobrevivência dos indivíduos por classe etária. Portanto, a mortalidade total foi obtida a partir do ajuste de uma regressão linear, do tipo  $y = a - bx$ , aos dados com tendência decrescente na curva, onde o coeficiente  $b = -Z$ .

A mortalidade por pesca ( $F$ ) foi obtida a partir da subtração da mortalidade natural ( $M$ ) e da taxa de mortalidade instantânea total ( $Z$ ), onde  $Z = M + F$ , gerando assim  $F = M - Z$ .

A taxa de exploração pesqueira ( $E$ ) foi obtida através da razão entre a mortalidade por pesca e a mortalidade total ( $E = F/Z$ ).

Os períodos de recrutamento dos dois anos de amostragem deste estudo foram avaliados a partir da análise de progressão modal, onde os diferentes grupos etários

foram investigados através das distribuições de frequência de comprimento. O intervalo de classe para este tipo de análise foi determinado a partir da fórmula proposta por Sturges 1926 ( $k = 1 + 3,322(\log_{10} n)$ ), onde “k” representa o número de classes e “n” o número de observações, estimando assim um intervalo de classe de 1,6 mm no presente estudo. Os percentuais mensais do número de recrutas foram calculados com o objetivo de verificar as variações mensais e anuais do recrutamento desta espécie.

O coeficiente de correlação de Spearman foi calculado, no software Past 3.23 (HAMMER, 1999), para verificar as relações entre as taxas mensais de Mortalidade e Recrutamento e os fatores abióticos (Salinidade e Pluviosidade).

O modelo analítico de avaliação de estoque pesqueiro de Beverton e Holt (1956), que verifica o rendimento relativo por recruta (Y/R), foi escolhido, devido sua versatilidade, para a definição do rendimento máximo sustentável e taxa de exploração pesqueira máxima registrada para *Anomalocardia flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró. Esta análise foi desenvolvida no software FISAT II (GAYANILO *et al.*, 2005), devido a facilidade de aplicação do modelo e maiores riqueza dos detalhes das informações.

O modelo de rendimento por recruta exige, como dados de entrada, os valores dos parâmetros populacionais calculados para a espécie, além de uma estimativa de tamanho de captura ( $L_c$ ). A pesca de *Anomalocardia flexuosa* nesta região estuarina ocorre, preferencialmente, através da coleta manual dos indivíduos, o que dificulta a determinação do  $L_c$ . Silva *et al.* (2011), através da coleta de conchas após a mariscagem, verificaram que indivíduos abaixo de 20 mm são poucos frequentes, no entanto ainda são selecionados. A classe de comprimento mais explorada pela pesca desta espécie nesta região compreende os indivíduos de 22 a 26 mm de concha.

Portanto, neste estudo, os modelos de rendimento por recruta serão aplicados sob dois cenários de pesca. O primeiro com valor definido para  $L_c$  de 16 mm, que corresponde ao comprimento médio do menor indivíduo capturado pelos marisqueiros desta região. Já para o segundo cenário, o valor de  $L_c$  atribuído será de 24 mm, que foi o valor central de comprimento da classe que apresentou maior frequência na captura.

Razões entre  $L_c/L_\infty$  e  $M/k$  foram obtidas como pressupostos básicos para plotagem da curva de rendimento relativo por recruta. Pela curva, foi possível determinar a captura e a taxa de exploração máxima, além da definição de 3 pontos de referências biológicos, que servem como indicativos de projeções a longo prazo das captura. Estes pontos são:  $E_{10}$ ,  $E_{50}$ ,  $E_{max}$ . O  $E_{10}$  indica o local na curva de rendimento que representa 10% da inclinação e simula a taxa de exploração deste rendimento.  $E_{50}$

representa 50% da biomassa desovante (Biomassa por recruta –  $B'/R$ ) em relação a biomassa virgem. Enquanto  $E_{\max}$  sugere a taxa máxima de exploração que corresponde ao rendimento máximo do estoque, ou seja, o limite onde o rendimento do estoque não apresenta perdas significativas em sua estruturação, após este valor os riscos de sobrepesca são bem elevados.

Portanto, para verificação do estado de exploração atual da espécie, a taxa de exploração obtida para *Anomalocardia flexuosa* foi comparada com as indicações das projeções do modelo.

## 14 RESULTADOS

### 14.1 Dinâmica populacional de *Anomalocardia flexuosa*

Devido, a amplitude de variação do comprimento da concha, os agrupamentos com maiores intervalos de classe foram os que apresentaram melhores resultados dos parâmetros e melhores ajustes do método computacional.

Durante os dois anos de amostragem, foram coletados 135.713 indivíduos, com comprimento da concha entre 0,3 mm e 29,8 mm. O intervalo de classe que apresentou o melhor valor do ajuste  $R_n$  e melhor estimativa dos parâmetros de crescimento foi de 5,2 mm. Todas as demais análises foram executadas utilizando-se este intervalo de classe para montagem das tabelas de frequência de comprimento. Com exceção dos histogramas de frequência de comprimento para análise de progressão modal, onde o intervalo de classe segue a recomendação da fórmula de Sturges.

Na tabela 1, estão listados todos os valores dos parâmetros populacionais definidos pelas análises no software R e na rotina ELEFAN. Várias estimativas dos parâmetros de crescimento, com excelentes valores do score  $R_n$ , foram obtidas, no entanto, os valores definitivos utilizados como referência para os parâmetros foram escolhidos também com base nos conhecimentos prévios sobre a biologia de *Anomalocardia flexuosa*. A melhor curva de crescimento ajustada aos dados determinou um score  $R_n$  de 0,90, indicando um  $L_{\infty}$  de 34 mm e K igual a 0,7 (Tabela 3).

A partir da definição destes parâmetros, foi possível definir uma curva de crescimento, onde podemos observar os comprimentos médios de cada classe e as referidas idades correspondentes (Figura 14). Assim, a idade máxima registrada para a *A. flexuosa* foi de 2,31 anos, que representa 99% do comprimento assintótico.

Tabela 3 – Parâmetros da população de *Anomalocardia flexuosa* do estuário Apodi-Mossoró, Rio Grande do Norte.  $L_{\infty}$  indica o comprimento assintótico,  $K$  o parâmetro de curvatura do crescimento,  $R_n$  indica o ajuste do método computacional,  $\phi$  índice de performance de crescimento,  $Z$  taxa instantânea de mortalidade total,  $F$  taxa instantânea de mortalidade por pesca,  $M$  taxa instantânea de mortalidade natural,  $E$  taxa de exploração,  $t_{\max}$  idade máxima.

Atributos populacionais	
$L_{\infty}$ (mm)	34,0
$K$ (ano <sup>-1</sup> )	0,70
$R_n$	0,90
$\Phi$	2,91
$Z$	1,79
$F$	0,80
$M$	0,99
$E$	0,45
$t_{\max}$ (ano)	2,31
Comprimento médio (mm)	14,46
Menor tamanho (mm)	0,30
Maior tamanho (mm)	29,80

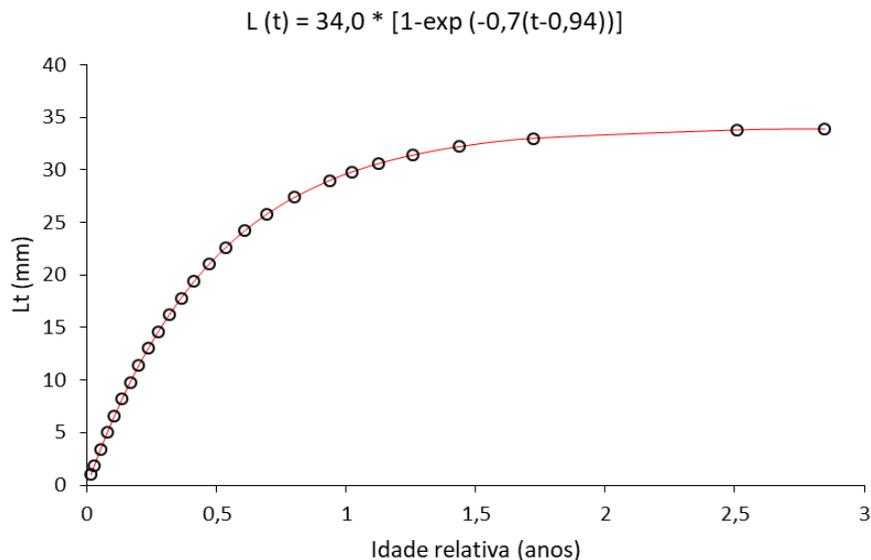


Figura 14 – Curva de crescimento estimada, com as respectivas relações de idade x comprimento, para *Anomalocardia flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró, predita a partir da equação de crescimento de Von Bertalanffy.

Em relação a mortalidade, o valor obtido para a taxa instantânea de mortalidade natural (M) foi de 0,99 e para a mortalidade total  $Z = 1,79$  (Tabela 3). A curva de captura linearizada informou apenas um período de mortalidade, concentrado nos indivíduos adultos (Figura 15). Com a subtração das duas referidas taxas temos o valor da mortalidade por pesca, que corresponde a 0,80. A taxa de exploração pesqueira para *A. flexuosa* foi de 0,45 (Tabela 3).

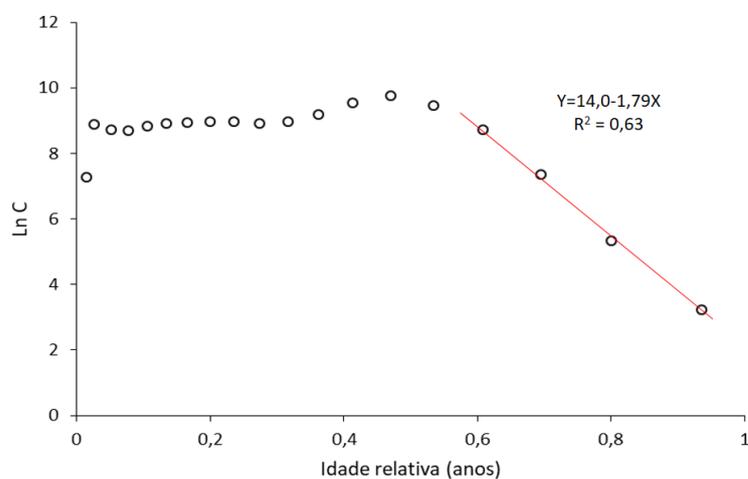


Figura 15 – Curva de Captura Linearizada ajustada para *Anomalocardia flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró.

A taxa de mortalidade mensal variou bastante durante os dois anos de amostragem, registrando os maiores valores nos meses de Janeiro de 2016 para o primeiro período de estudo ( $Z = 1,61$ ) e Abril de 2017 ( $Z = 1,69$ ), durante o segundo período. Os menores valores ocorreram nos meses de Junho de 2016 e Junho, Setembro e Outubro de 2017. No geral, apresentando tendência decrescente, com exceção dos meses de março e abril, acompanhando o aumento do índice de pluviosidade (Figura 16).

Indivíduos recrutados estavam presentes em praticamente todo o período de estudo. Para o primeiro ano de amostragem (novembro/2015 à outubro/2016), os recrutados foram mais frequentes especialmente durante os meses de novembro e dezembro de 2015 e janeiro, julho, agosto e setembro de 2016.

Durante os meses de novembro e dezembro de 2015 foram identificadas 3 coortes para *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró. Uma coorte de juvenis com comprimento de até 2,5 mm e duas de adultos com em média 18,5 mm e 22 mm, provavelmente em decorrência de eventos pós desova dos meses anteriores e de recrutamento para o período analisado. A partir de Janeiro até junho de 2016 duas coortes bem nítidas passaram a ser acompanhadas. Isto aconteceu devido principalmente à progressão de uma coorte de adultos que foi sendo progressivamente substituída e deixou de ser observada em Janeiro. Desta forma, passando assim de um período anterior de 3 para 2 coortes, o que permitiu que o percentual de recrutados no mês de Janeiro fosse maior ao observado nos meses anteriores.

Em julho de 2016, ocorreu o surgimento de uma nova terceira coorte, sendo essas três últimas coortes observadas durante todos os 4 meses finais do primeiro período de estudo. A coorte que surgiu durante os primeiros meses de amostragem foi acompanhada durante praticamente todo o primeiro ano de amostragem (Figura 17).

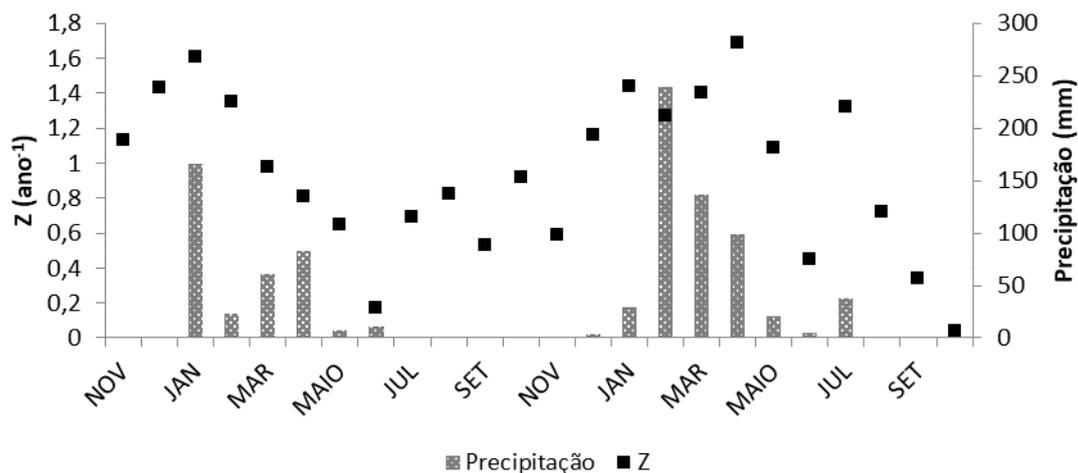


Figura 16 – Variações mensais da taxa instantânea de mortalidade total (Z) de *Anomalocardia flexuosa* e precipitação pluviométrica no estuário Apodi-Mossoró durante o período de novembro/2015 a outubro/2017.

O segundo período de avaliação das progressões modais compreendeu os meses de Novembro de 2016 à Julho de 2017. A coorte que surgiu em julho/2016 continuou a ser observada nos meses seguintes, incluindo novembro e dezembro de 2016 e nos meses referentes à 2017. Assim como também novas coortes surgiram entre dezembro de 2016 e Janeiro de 2017, que foram acompanhadas ao longo do período de estudo e apresentaram provavelmente elevada sobrevivência já que participaram expressivamente das classes de comprimento superiores, especialmente entre Fevereiro e Abril de 2017 (Figura 18).

A alta incidência de indivíduos adultos entre os meses de dezembro de 2016 a março de 2017 se deve a eventos pós desova do ano de 2016, com desovas contínuas durante todo o período.

Coortes também foram sendo substituídas durante este segundo período entre os meses de maio a junho de 2017, passando mais uma vez de momentos com 3 coortes para 2 coortes.

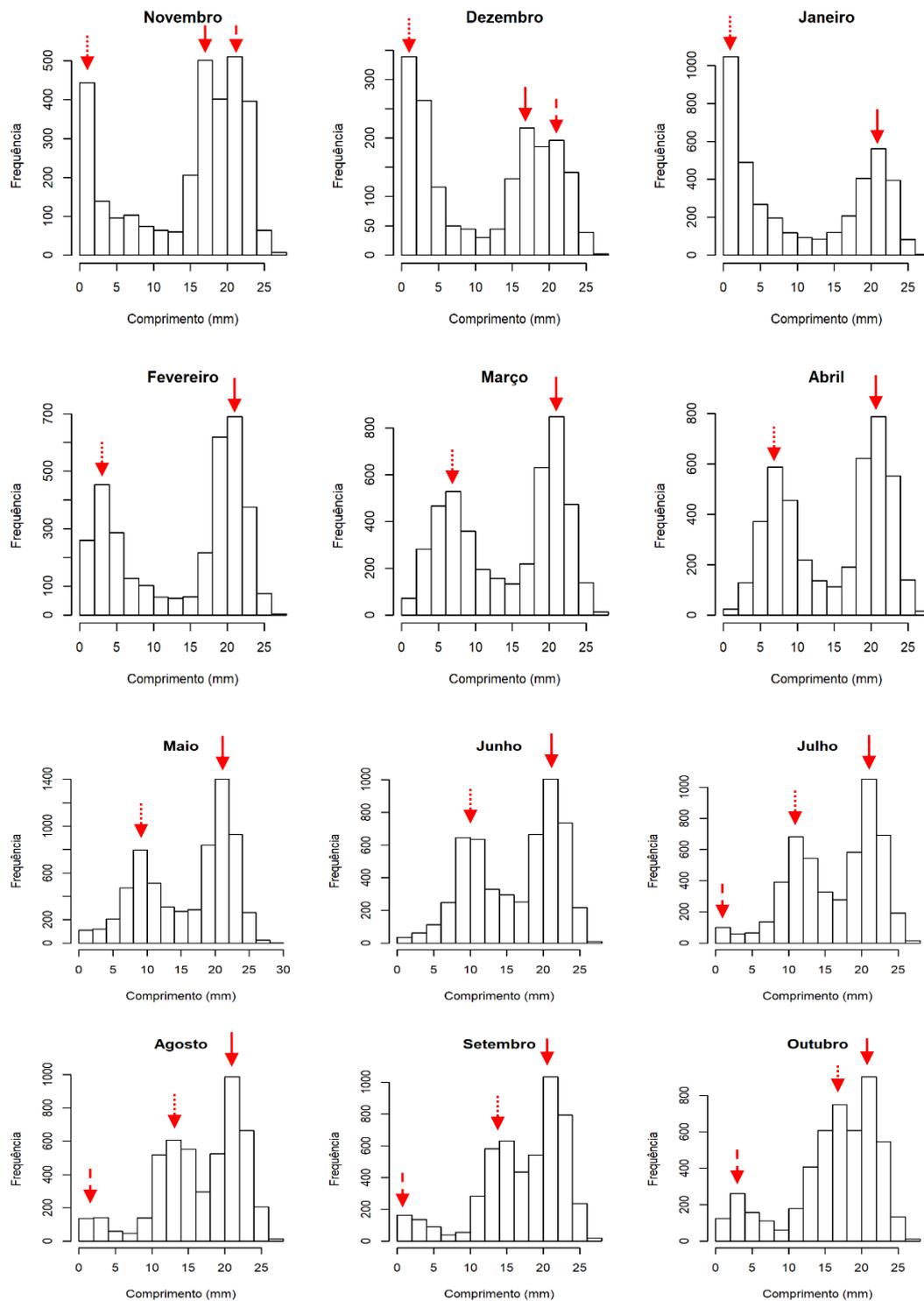


Figura 17 – Histogramas mensais de frequência de comprimento da concha de *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró durante o período de Novembro de 2015 à Outubro de 2016. As setas indicam as diferentes coortes observadas em cada mês.

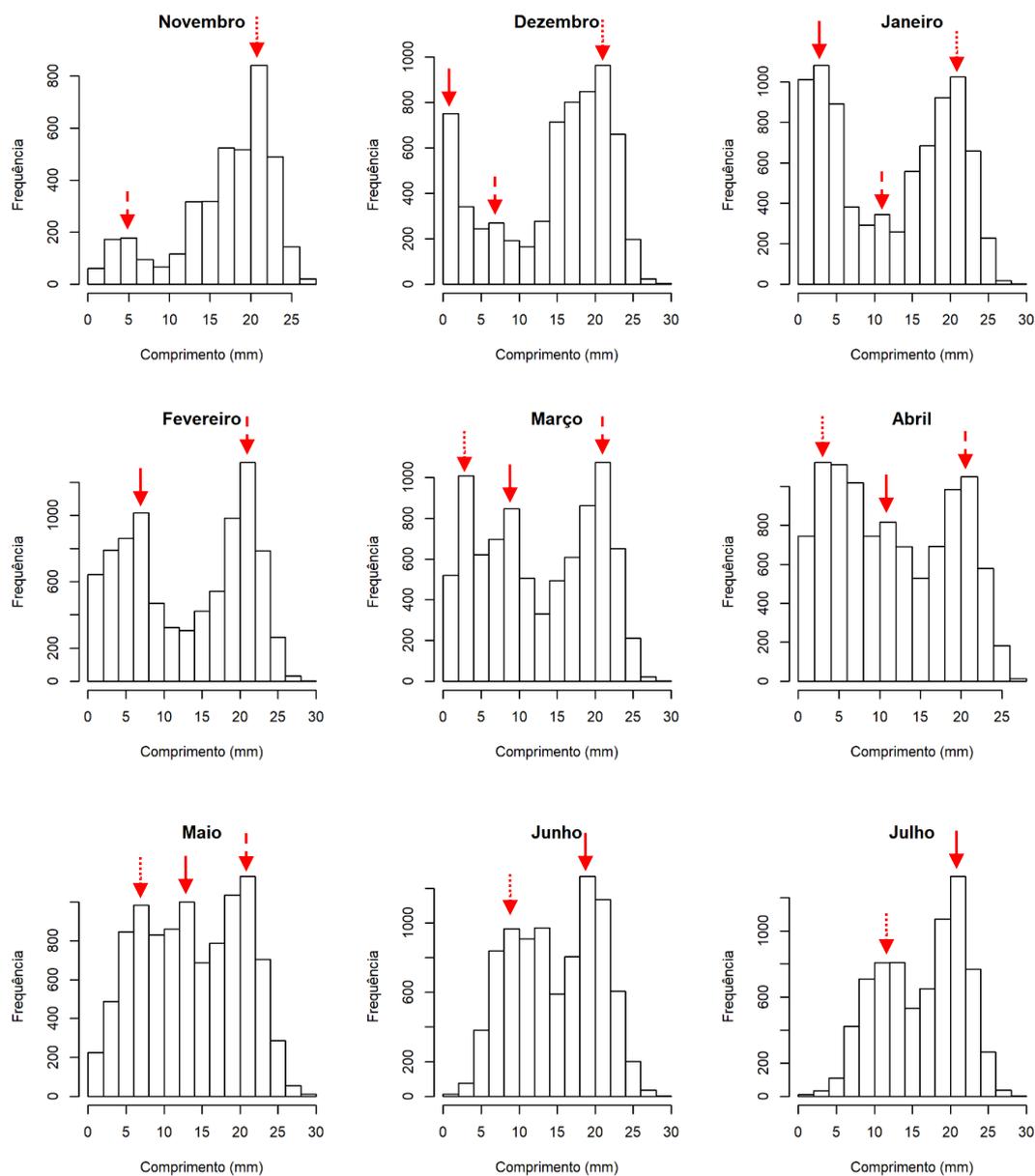


Figura 18 – Histogramas mensais de frequência de comprimento da concha de *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró durante o período de Novembro de 2016 à Julho de 2017. As setas indicam as diferentes coortes observadas em cada mês.

Na figura 19, é possível observar que as variações mensais do percentual de recrutas seguem padrões similares às taxas de mortalidade, nas quais, os períodos onde ocorrem incremento no percentual de recrutas coincidem com o aumento da taxa de mortalidade. Os maiores percentuais de recrutas foram registrados durante os meses de Novembro de 2015 e Janeiro de 2016 para o primeiro ano de amostragem, após este período tanto o número de recrutas quanto a taxa de mortalidade decrescem. Para o

segundo ano, novamente, os meses entre Novembro de 2016 e Janeiro de 2017 apresentaram os maiores registros nos percentuais de recrutas, com redução logo após este período. A taxa de mortalidade segue o mesmo padrão para este segundo período também, com reduções mais expressivas após os eventos de recrutamento (com exceção de abril de 2017) (Figura 19).

Uma relação direta, positiva e forte ( $r_s = 0,71$ ) foi obtida, através do coeficiente de correlação de Spermán, entre taxa de mortalidade total e porcentagem de recrutas, o que mais uma vez confirma a relação entre mortalidade e recrutamento. As variáveis abióticas, salinidade e precipitação, não apresentaram correlações significativas com recrutamento ( $p > 0,05$ , Salinidade  $r_s = 0,38$ , Precipitação  $r_s = 0,40$ ).

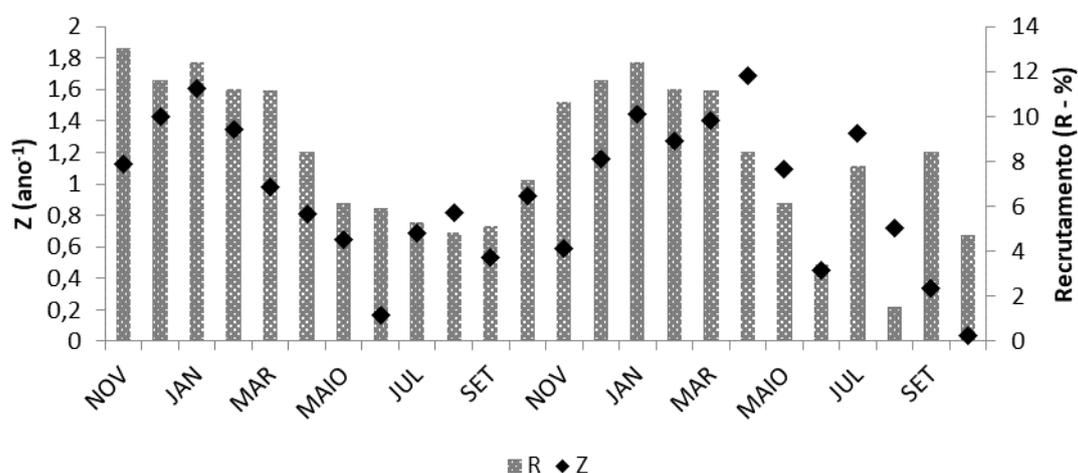


Figura 19 – Variações mensais das taxas de recrutamento (R) e mortalidade total (Z) para *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró durante o período de novembro/2015 à outubro/2017.

## 14.2 Avaliação do estoque e determinação do rendimento por recruta máximo sustentável para o estoque de *Anomalocardia flexuosa*

As modelagens de avaliação de estoque para *A. flexuosa* incluíram os dois cenários de pesca definidos anteriormente. Os resultados obtidos, para o primeiro cenário (a), indicam um  $E_{max} = 0,67$ ,  $E_{10} = 0,56$  e  $E_{50} = 0,35$  (Figura 20a). A taxa de exploração atual definida para este estoque, com base nos parâmetros de mortalidade calculados no presente estudo, foi de 0,45, valor abaixo do máximo registrado para esta espécie pelo modelo de avaliação de rendimento por recruta ( $E_{max} = 0,67$ ).

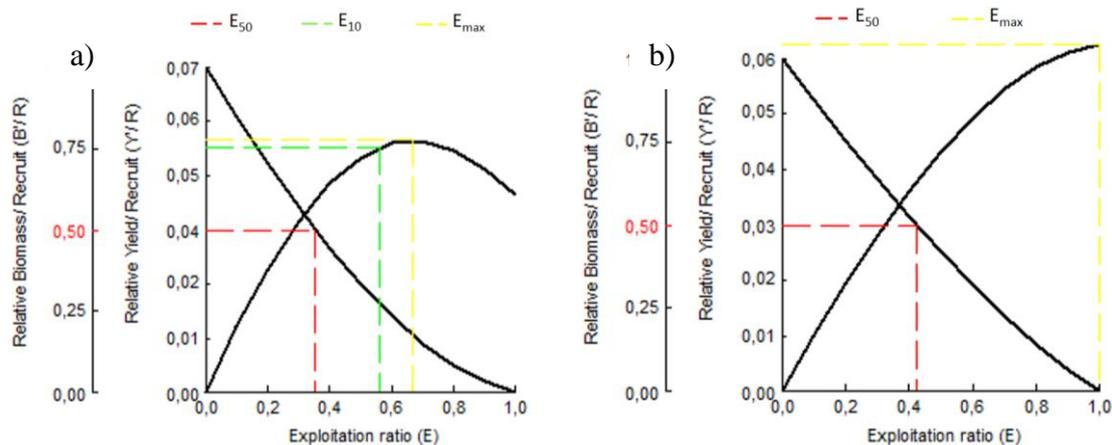


Figura 20 – Curvas de taxa de exploração (E) por Rendimento por Recruta (Y/R) e Biomassa por recruta (B'/R) em dois diferentes cenários de pesca (a e b) com diferentes tamanhos de captura (Lc). a) cenário de pesca indicando Lc = 16 mm de concha, b) cenário de pesca indicando Lc = 24 mm de concha. E<sub>50</sub> indica a taxa de exploração para 50% da biomassa virgem, E<sub>10</sub> exploração em 10% da inclinação da curva e E<sub>max</sub> taxa máxima de exploração sustentável.

De acordo com as projeções obtidas pelo modelo do cenário a, levando em consideração o E atual de 0,45, se ocorrer um aumento na taxa de exploração de 0,15 registrando um E = 0,60, próximo do rendimento máximo, o rendimento por recruta será aproximadamente 4,2% maior que o anterior. No entanto, a redução na biomassa por recruta seria de 68,3%. Já se ocorre uma redução da taxa de exploração atual para um E = 0,40, a redução no rendimento por recruta seria de apenas 8,3%, contudo o incremento na biomassa por recruta seria de 36,6%, o que, possivelmente, garantiria uma maior estabilidade ao estoque pesqueiro (Tabela 4).

O segundo cenário (b) definiu E<sub>max</sub> = E<sub>10</sub> = 1,00 e E<sub>50</sub> = 0,43 (Figura 20b). As projeções do cenário b para o rendimento por recruta, aumentando-se o valor de E atual de 0,45 para E = 0,60, como foi realizado anteriormente, indicam que o rendimento sofreria um incremento de 12%, enquanto a biomassa reduziria 25,9% (Tabela 4). No caso de um redução da taxa de exploração para E = 0,4, verifica-se que o rendimento reduziria 16,3%, mas a biomassa aumentaria 22,2% do valor registrado atualmente.

O valor da taxa de exploração corrente (E = 0,45) ultrapassou a taxa que proporciona 50% da biomassa do estoque virgem (E<sub>50</sub> < E) nos dois cenários. Ambos cenários apresentam oscilações bastante expressivas, especialmente, para a Biomassa por recruta, caso ocorra aumento na taxa atual de exploração pesqueira.

Tabela 4 – Taxas de exploração (E) e estimativas dos Rendimentos por Recruta (Y/R) e Biomassa por Recruta (B'/R) em diferentes cenários de pesca (a e b) obtidos para *A. flexuosa* no estuário Apodi-Mossoró. Os valores em negrito representam as taxas definidas para as projeções de aumento e redução da taxa de exploração.

E	Y/R (a)	B'/R (a)	Y/R (b)	B'/R (b)
0,2	0,027	0,684	0,024	0,732
0,3	0,037	0,544	0,034	0,608
<b>0,4</b>	<b>0,044</b>	<b>0,418</b>	<b>0,043</b>	<b>0,491</b>
<b>0,5</b>	<b>0,048</b>	<b>0,306</b>	<b>0,050</b>	<b>0,382</b>
<b>0,6</b>	<b>0,050</b>	<b>0,210</b>	<b>0,056</b>	<b>0,283</b>
0,7	0,048	0,131	0,059	0,194
0,8	0,044	0,070	0,061	0,117
0,9	0,038	0,027	0,061	0,052
1,0	0,031	0,000	0,059	0,000

Tabela 5 – Resumo das estimativas dos parâmetros populacionais de crescimento para *A. flexuosa* em diferentes regiões do Brasil, publicados durante os últimos 10 anos.

Latitude	Salinidade	k	$L_{\infty}$	$t_{\max}$	$\phi$	Autores
22° 56' S	-	0,71	37,62	2,64	3,00	Mattos e Cardoso (2012)
23° 37' S	24-30	0,53	42,47	3,34	2,98	Corte et al. (2015)
04° 55' S	15-47	0,61	28,68	-	2,70	Rodrigues et al. (2013)
04° 55' S	10-49	0,48	29,87	-	2,63	Rodrigues et al. (2013)
23° 49' S	32-35	0,37	46,03	3,41	2,89	Corte et al. (2017)
04° 56' S	24-59	0,71	34,00	2,31	2,90	Presente estudo

## 15 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que, para o estuário Apodi-Mossoró, *Anomalocardia flexuosa* apresenta crescimento e recrutamento contínuos, com menores índices de mortalidade durante o período chuvoso.

Os parâmetros de crescimento, definidos no presente estudo, exibiram valores diferentes aos registrados para outras regiões do país. Contudo, os valores de  $\phi$  foram bem similares, o que demonstra que mesmo com as diferenciações entre os parâmetros, o crescimento ainda é eficaz e os valores podem refletir bastante as relações destes parâmetros nas diferentes áreas (Tabela 5).

Rodrigues *et al.* (2013), coletando em praias adjacentes a região estuarina do presente estudo nos anos de 2007 a 2008, registraram valores de  $k$  e  $L_{\infty}$  abaixo aos definidos no presente estudo. Estes mesmos autores relatam que, durante o período de estudo, as pluviosidades foram consideradas atípicas para a região, onde o excesso de chuva ocasionou redução expressiva na abundância de *A. flexuosa*.

Como já foi verificado no capítulo 1 desta tese, a precipitação apresenta correlação, mesmo que fraca, positiva com abundância desta espécie, neste estuário, o que indica incidências de efeitos positivos sobre a densidade desta população. Contudo, precipitações elevadas não são comuns para esta região, o que interferiu na regulação da abundância de *A. flexuosa*. Conseqüentemente, a chuva, também, age sob os processos de regulação de sobrevivência, que serão descritos logo em seguida. Este fato pode ter afetado a representatividade das frequências de comprimento e com isso os ajustes dos métodos computacionais e nas estimativas dos parâmetros. Além disso, um período de tempo de 8 anos entre as amostragens pode indicar também mudanças na estruturação desta população.

Os demais trabalhos que, em sua maioria, definiram estimativas dos parâmetros de crescimento para *A. flexuosa*, registraram valores de  $L_{\infty}$  maiores e  $k$  menores que os valores calculados no presente estudo (Tabela 5). Estudos estes, desenvolvidos na região sudeste do Brasil.

Organismos que habitam regiões de maior latitude podem apresentar variações em seu crescimento, apresentando maiores tamanhos e menores taxas de crescimento, seguindo a lei de Bergmann (BLANCKENHORN e DEMONT, 2004). Menores temperaturas podem ocasionar modificações no metabolismo, permitindo um crescimento mais lento, além de afetar outros processos como respiração e alimentação

(ATKINSON e SIBLY, 1997; ANGILLETA *et al.*, 2004). Em regiões frias, o prolongamento do crescimento pode retardar inclusive processos reprodutivos (ANGILLETA *et al.*, 2004) e assim diferenciar os aspectos da história de vida das espécie. Isto, provavelmente, ajuda a explicar as diferenças entre os valores obtidos para a região sudeste (CORTE *et al.*, 2015, 2017 e demais estudos – tabela 5) e nordeste do Brasil (presente estudo) dos parâmetros de crescimento para *A. flexuosa*.

Comparando os valores do coeficiente de crescimento  $k$  nas diferentes localidades onde *A. flexuosa* foi estudada (Tabela 5), podemos observar que o presente estudo obteve uma das maiores taxas de crescimento para a espécie. Os organismos podem estar direcionando energias em crescer mais rapidamente para atingir maiores tamanhos. Maiores velocidades de crescimento fazem com que os indivíduos atinjam o tamanho de maturação mais rapidamente (ANGILLETA *et al.*, 2004) e participem do estoque adulto, garantindo a renovação da população com mais sucesso.

Oscilações sobre os aspectos de história de vida entre regiões tropicais e subtropicais também já foram descritas para outras espécies de bivalves, como *Tivela mactroides* (TURRA *et al.*, 2014) e *Donax hanleyanus* (HERRMANN *et al.*, 2009).

Os processos densidade-dependentes também podem agir regulando as estimativas dos parâmetros de crescimento, já que a abundância pode atuar sobre a competição por espaço e por recurso (TURRA *et al.*, 2013). Como relatado no capítulo 1, os bancos de *A. flexuosa*, registrados no presente estudo, apresentaram elevadas densidades. Crescer rapidamente pode ser vantajoso em condições de elevada abundância, para garantir renovação da população, permitindo espaço e recurso para as novas coortes. As conchas coletadas no presente estudo, por muitas vezes, apresentaram deformações e fragilidades (observação pessoal) incomuns para a espécie que caracteriza-se pela concha inflada e sólida (DENADAI *et al.*, 2006), o que pode também ter ocorrido devido as peculiaridades de crescer em maior velocidade em bancos de elevada abundância. No entanto, estas deformações ainda estão sendo melhor avaliadas.

As estimativas de  $t_{max}$ , que retratam a longevidade da espécie, na maioria das vezes, diferem bastante entre os trabalhos, devido, especialmente, as diversas metodologias existentes para o cálculo deste parâmetro, mas auxiliam na compreensão destas características da história de vida do animal.

Avaliando a velocidade de crescimento ( $k$ ), o comprimento assintótico ( $L_{\infty}$ ) e a idade máxima ( $t_{max}$ ) obtidos para *A. flexuosa*, no presente estudo, é possível concluir que a espécie apresenta crescimento rápido para alcançar um comprimento máximo

inferior, e em um período de tempo de vida menor, comparado a outras regiões do Brasil (Tabela 5). Maiores valores de taxa de crescimento podem indicar metabolismo mais acelerado, o que reduz o tempo de vida útil da população (TURRA *et al.*, 2013). Portanto, as características do habitat podem estar proporcionando modificações nos aspectos de história de vida da espécie. Especialmente em estuários tropicais, como também relatam Monti *et al.* (1991), que definiram um ciclo de vida de até dois anos com menores tamanho e um crescimento relativo.

Variações mais expressivas na salinidade, principalmente relacionadas aos episódios de chuva, exercem um importante papel nas oscilações de abundância e na biologia populacional desta espécie (BARREIRA e ARAÚJO, 2005; BELÉM *et al.*, 2013; BOEHS, *et al.*, 2008; CORTE *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2013). No presente trabalho, a relação entre precipitação e densidade foi positiva, além do que os registros de abundância da espécie foram bastante elevados.

Levando em consideração que este estuário é considerado um ambiente hipersalino, as chuvas podem não ocasionar grandes diluições na água e interferir menos na sobrevivência. Logo, o aporte de matéria orgânica carregado com a chuva serve de fonte de alimento para os organismos, o que pode favorecer a abundância e o crescimento. Assim, em densidades maiores, a espécie precisa crescer mais rapidamente para conseguir atingir um tamanho de maturação em curto período, se reproduzir, gerar descendentes e, com isso, concluir seu ciclo em menor tempo de vida para garantir uma estabilização da população.

Desta forma, a relação entre fatores abióticos e o crescimento dos animais pode ofertar informações bastante relevantes ao estudo de história de vida das espécies, especialmente sobre a ocorrência e caracterização de trade-offs e das diversas adaptações. Outros fatores exógenos/antrópicos também podem interferir nas variações dos parâmetros de crescimento, especialmente se as populações são exploradas comercialmente.

A atividade pesqueira pode ocasionar modificações nestes parâmetros a partir da intensidade de mortalidade aplicada ao estoque. Reduções na amplitude e média de comprimento dos organismos que estão submetidos à exploração pesqueira podem sugerir baixa produtividade (FONTELES-FILHO, 2011). Trabalhos realizados em épocas anteriores e na mesma área de estudo (BELÉM *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2013) não apresentaram grandes variações na amplitude de comprimento dos

indivíduos, comparando-se aos coletados durante o presente período. Além disso, os indivíduos de maior tamanho foram mais frequentes nas amostragens durante os dois anos de análise. Assim, estes fatos ainda não apontam indícios de sobrepesca para este estoque.

A taxa instantânea de mortalidade total obtida para o presente estudo foi bem similar aos valores obtidos por Corte *et al.* (2015) e Corte *et al.* (2017). Estes mesmos autores indicaram dois períodos, um para juvenis e outro para adultos, de maior incidência de mortalidade para a espécie na região Sudeste do Brasil, diferentemente do observado neste estudo. Mattos e Cardoso (2012), também em estudos na região Sudeste, determinaram um valor de mortalidade bem acima dos demais estudos. Eles indicam que as oscilações de temperatura e o suprimento alimentar podem estar interferindo na sobrevivência desta espécie. Desta forma, fatores locais são determinantes para análises das interferências das oscilações de sobrevivência das espécies.

A estimativa de mortalidade total demonstra uma maior participação da mortalidade natural dentro da taxa geral obtida para a espécie no presente estudo. Com isto, provavelmente, os processos ambientais, biológicos e ecológicos ainda podem estar exercendo maior influência que a pesca sobre a estruturação desta população.

As oscilações mensais da taxa de mortalidade total indicam para o primeiro ano uma tendência decrescente de  $Z$  em relação aos períodos de maior pluviosidade. Período este que também coincidiu com elevadas densidades (resultado do capítulo 1). Para o segundo ano, durante os meses de março e abril,  $Z$  sofreu um incremento. O maior registro de chuva para todo o período analisado ocorreu em fevereiro de 2017, o que pode ter ocasionado esta mortalidade mais intensa nos meses de março e abril, uma vez que os efeitos sobre as populações não são imediatos. As precipitações mais elevadas podem ocasionar mortalidades mais expressivas (BELÉM *et al.*, 2013; BOEHS *et al.*, 2008; MONTI *et al.*, 1991).

Ainda em relação as estimativas de taxa de mortalidade, a curva de captura indicou a existência de um período mais expressivo de mortalidade, especialmente de indivíduos adultos, que são mais susceptíveis à exploração pesqueira ou sujeitos a mortalidade natural por competição ou velhice. Assim, a pesca pode ainda não ser a principal fonte de mortalidade desta espécie, mas parece contribuir significativamente para a remoção de indivíduos deste estoque. Além disto, *A. flexuosa* apresenta autoregulação de densidade, especialmente entre abundância de juvenis e adultos

(BOEHS, 2000), o que interfere na sobrevivência. Já que os indivíduos adultos também podem ser acometidos com eventos de mortalidade em massa regulados pelo processos de oscilações de densidade (TURRA *et al.*, 2013).

*Anomalocardia flexuosa* apresenta ciclo reprodutivo contínuo em áreas estuarinas do nordeste brasileiro (BARREIRA e ARAÚJO, 2005; GROTTA e LUNETTA, 1980; LAVANDER *et al.*, 2011; LUZ e BOEHS, 2011), o que justifica a presença de indivíduos de menor tamanho durante todo o período de estudo. Barreira e Araújo (2005) constataram, em uma região estuarina próxima a área do presente estudo, dois períodos de maior liberação de gametas, um ocorrendo entre os meses de julho a outubro e um segundo entre os meses de fevereiro a abril. Padrão similar deve ocorrer no estuário Apodi-Mossoró, onde, de acordo com as progressões modais observadas nos resultados do presente estudo, o primeiro período de desova, provavelmente, favoreceu o recrutamento dos juvenis entre novembro e janeiro, e o segundo período proporcionou o recrutamento dos juvenis em julho de 2016.

Estudos realizados no litoral de São Paulo informam a existência de duas à três coortes anuais para *A. flexuosa* (ARRUDA-SOARES *et al.*, 1982; CORTE, 2011; SCHAEFFER-NOVELLI, 1980). Assim como também observaram, Monti (1991) em uma ilha caribenha, e Boehs (2008) no Paraná.

Na presente área de estudo e em regiões próximas, Rodrigues *et al.* (2013), informaram a ocorrência de três coortes anuais, que segue o padrão encontrado no presente estudo. Contudo, o período e a representatividade do recrutamento apresentaram distinções entre os trabalhos. O fato das amostragens terem ocorrido em períodos de pluviosidades atípicas na região, que influenciaram na abundância da espécie (RODRIGUES *et al.*, 2013) e consequentemente na representatividade das frequências de comprimento, pode ter interferido nos acompanhamentos das progressões modais, já que a espécie apresenta intensos processos que são regulados pela densidade (processos densidade-dependentes).

A substituição de uma coorte de adultos por uma de juvenis de maior representatividade em Janeiro de 2016, no presente estudo, corrobora com as observações de competição intraespecífica já mencionada para a espécie em estudos anteriores e discutidas aqui anteriormente. A remoção dos adultos proporciona liberação de espaço e maior disponibilidade de recursos alimentares para os juvenis (BOEHS *et al.*, 2008).

Desta coorte, inicialmente observada entre novembro de 2015 e janeiro de 2016, menos da metade dos indivíduos foram acompanhados e evoluíram para os tamanhos intermediários nos meses posteriores, o que pode ser um indicativo de mortalidade durante os primeiros estágios de vida. O recrutamento parece ser quantitativamente mais importante durante o primeiro pico (nov/15-jan/16), mas o sucesso do assentamento pode ter sido relativamente maior durante o segundo pico (julho/2016) deste primeiro ano de estudo, pois muitos indivíduos que recrutaram no mês de julho apresentaram evolução do crescimento durante os meses seguintes. Este fato pode estar associado aos eventos pós chuva, que apresentam maior ocorrência e intensidade durante os primeiros meses do ano e podem interferir, mesmo que em menores níveis (correlação não apresentou significância), no estabelecimento e sobrevivência dos novos recrutas. A elevada abundância dos organismos nesta área pode mascarar os possíveis efeitos. Além disto, o incremento da mortalidade nos primeiros meses de recrutamento indica que, mesmo não sendo representativos, diante da elevada densidade, os eventos de mortalidade ocorrem para juvenis.

Durante o primeiro ano de estudo (nov/2015-out/2016), o pico de pluviosidade (jan/2016) ocorreu quando os indivíduos estavam recrutando, o que pode ter ocasionado mortalidade. Já no segundo ano (nov/2016-out/2017), o maior registro de precipitação ocorreu após o maior período de recrutamento (nov/2016-jan/2017). Deste modo, os juvenis provavelmente já tinham assentado, o que aumentou a sobrevivência, já que são indivíduos menos vulneráveis que os recrutas. Portanto, a representatividade nas demais classes de comprimento na progressão destas modas foi bastante expressiva comparada ao primeiro pico de recrutamento do primeiro ano de amostragem.

Aspectos biológicos como competição por espaço e recurso podem também ocasionar interferências na dinâmica populacional das espécies, especialmente relacionadas ao recrutamento e processos densidade-dependentes em filtradores (DAVID *et al.*, 1997; MATTOS E CARDOSO, 2012). Os maiores picos de recrutamento podem ocorrer simultaneamente nos períodos de mortalidade dos indivíduos considerados adultos. Os histogramas de frequência de comprimento e a análise de progressão modal reforçam esta hipótese. Da mesma forma que existem muitos indivíduos por área também se torna necessário morrer muitos outros.

Os resultados dos modelos de avaliação demonstram, na população de *A. flexuosa* estudada no presente estudo, em ambos cenários de pesca, taxas de explorações atuais abaixo do rendimento sustentável. Entretanto, as projeções futuras indicam níveis

de exploração preocupantes. Adicionalmente, a curva de captura indicou um período expressivo de mortalidade para indivíduos adultos, o que pode corresponder à exploração pesqueira.

Efeitos sobre o recrutamento são mais importantes que as mudanças que podem ocorrer no crescimento e mortalidade e podem indicar vulnerabilidade dos estoques (FONTELES-FILHO, 2011). Para *A. flexuosa* no presente estudo o recrutamento parece não ter sofrido falhas expressivas, onde as coortes recém-recrutadas foram bastante numerosas e periódicas. A espécie apresentou ainda elevada abundância, crescimento rápido, ciclo de vida curto, aspectos estes que também podem favorecer a plena recuperação dos estoques, dependendo dos níveis de exploração aplicados.

Esta falsa impressão ocasionada pela elevada abundância de *A. flexuosa* pode mascarar as conclusões sobre as oscilações dos estoques pesqueiros. Já que as maiores densidades muitas vezes estão acompanhadas de recrutamentos bem expressivos, o que pode estar relacionado a maior remoção dos indivíduos adultos e garantindo assim espaço e recursos para juvenis. Aspectos estes já relatados para a espécie em outras regiões. Além disto, a elevada densidade pode não proporcionar maior biomassa (SILVA-CAVALCANTI e COSTA 2011), já que os indivíduos podem maturar mais rapidamente e assim não apresentar incorporações no crescimento.

Porém, não foram observadas, ainda, reduções significativas nos comprimentos dos indivíduos amostrados atualmente, que possam indicar estágio de sobrepesca. Os modelos de avaliação indicaram rendimento atual inferior ao máximo sustentável. Além do que, o comprimento de maturação ( $L_{50} = 13,8$  mm) definido para a espécie no corrente estudo (Capítulo 2) está abaixo do tamanho de captura registrado por Silva *et al.* (2011), e dentro das estimativas de tamanho de maturação já obtidas para a espécie por Barreira e Araújo (2005) em estudos histológicos.

A definição do rendimento máximo sustentável para uma espécie ocorre quando a exploração apresenta elevada produtividade, o que ocasiona aumento na densidade, onde a captura pode ser formada por indivíduos de médio porte, que são muito numerosos e garantem a incorporação de novos recrutas. Neste caso a população continua em equilíbrio, em seu estado de exploração ótimo, mas com intensa remoção da biomassa excedente (FONTELES-FILHO, 2011), aspectos estes que parecem ocorrer no presente estudo para *A. flexuosa*, onde o rendimento máximo está próximo de ser alcançado. A população se encontra em seu estágio de exploração ótima, porém, as

projeções indicam que isto pode não permanecer caso o esforço de pesca ou taxas de capturas não sejam mantidas sob controle.

Mesmo com aplicação de técnicas mais seletivas, como coleta manual, com incidência de pesca sobre os indivíduos de maior comprimento, e pelas características biológicas/ecológicas da espécie citadas anteriormente, a taxa de exploração empregada pode indicar, inicialmente, estágios de alerta para o estado de conservação do recurso na área estudada.

As projeções relataram baixos incrementos no rendimento, mesmo em diferentes valores de estimativas do tamanho de captura. Segundo Feitosa *et al.* 2004, estes resultados podem indicar incidências futuras do comprometimento do estoque e estabelecimento do estado de sobrepesca, que por enquanto não foi alcançado. Defeo (2003) cita ainda que pescarias de invertebrados bentônicos se tornam ainda mais susceptíveis ao esgotamento repentino dos recursos devido as agregações que os organismos podem formar, o que facilita a acentuada exploração.

Para que não ocorra o colapso desta pescaria a longo prazo, o corrente estudo ainda indica reduções mais expressivas nas taxas de exploração aplicadas ao recurso e conseqüentemente nas taxas de captura da espécie, o que pode garantir o equilíbrio na estrutura da população. Para isto, a implantação de cotas talvez seja primordial à garantia do estabelecimento do estoque em condições ideais e para a manutenção das capturas. No entanto, as oscilações do esforço de pesca deste tipo de pescaria limita as aplicações das estratégias de manejo indicadas. Além disso, a informalidade da atividade também acarreta sérios problemas na quantificação do esforço de pesca.

Lembrando que este foi o primeiro estudo de avaliação de estoque desta espécie no Brasil. Foram levados em consideração dados populacionais de apenas dois anos de coleta, assim, mesmo que os parâmetros aqui obtidos, sejam reflexos da biologia da espécie para esta região, dados sobre a composição e expressividade das capturas e esforço de pesca podem auxiliar nas estimativas dos modelos de produção e tornar assim mais robustas as conclusões sobre as interferências da pesca neste estoque.

Um dos principais desafios dos estudos de dinâmica pesqueira é separar os efeitos da pesca, dos demais, sobre a estrutura de uma população (BLAUBER *et al.*, 2000). Além disto, a comprovação dos potenciais impactos causados pela pesca nos estoques são de difícil determinação (GRAY, 2016) No entanto, para o presente estoque a pesca parece ainda ocasionar efeitos reversíveis. Assim, pode-se concluir que A.

*flexuosa* apresenta ampla resistência e resiliência aos fatores de mortalidade que removem indivíduos da população, quer sejam naturais ou antrópicos.

Os processos densidade-dependentes parecem interferir bastante na regulação desta população e isto pode sinalizar que os fatores ambientais/biológicos e de pesca podem estar agindo sobre a estruturação e estabilização desta população. A continuidade de estudos de monitoramentos a longo prazo podem facilitar e melhorar a compreensão das suposições sugeridas anteriormente. Além de garantir o estado de conservação da espécie.

## 16 REFERÊNCIAS

ANDREJ-NIKOLAI, S. Package ‘qpcR’. 2018

ANGILLETA, M. J.; STEURY, T. D.; SEARS, M. W. Temperature, Growth Rate, and Body Size in Ectotherms: Fitting Pieces of a Life-History Puzzle. **Integr. Comp. Biol.**, v. 44, 498–509, 2004.

ARRUDA-SOARES, H.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y; MANDELLI JR., J. Berbigão *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1971), bivalve comestível da região da Ilha do Cardoso, estado de São Paulo, Brasil: Aspectos biológicos de interesse para a pesca comercial. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.9, 21-38, 1982.

ATKINSON, D. & SIBLY, R. M. Why are organisms usually bigger in colder environments? Making sense of a life history puzzle. **Tree**, v.12, n.6, 1997.

BARLETTA, M. & COSTA, M. F. Living and non-living resources exploitation in a tropical semi-arid estuary. **Journal of Coastal Research**, v.56, 2009.

BARREIRA, C. A. R. e ARAÚJO, M.L.R., 2005. Ciclo reprodutivo de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.31, n.1, 9-20, 2005.

BELÉM, T.; MOURA, R. S. T.; HENRY-SILVA, G. G. Distribuição e densidade do bivalve *Anomalocardia flexuosa* em praias do Rio Grande do Norte durante um período de pluviosidade atípica. **Biotemas**, v.26, n.1, 109-122, 2013.

BLANCKENHORN, W. U.; DEMONT, M. Bergmann and Converse Bergmann Latitudinal Clines in Arthropods: Two Ends of a Continuum? **Integr. Comp. Biol.**, v.44, 413-424, 2004.

BOEHS, G. **Ecologia populacional, reprodução e contribuição em biomassa de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil.** 201 f. Tese (Doutorado em Zoologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

BOEHS, G.; ABSHER, T. M.; CRUZ-KALED, A. C. Ecologia populacional de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Bivalvia, Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.34, n.2, 259-270, 2008.

CORTE, G. N. **Biologia populacional e reprodutiva de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Veneridae).** 120f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CORTE, G. N.; YOKOYAMA, L. Q.; COLEMAN, R. A.; AMARAL, A. C. Z. Population dynamics of the harvested clam *Anomalocardia flexuosa* (Bivalvia: Veneridae) in Cidade Beach, south-east Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v.95, n.6, 1183-1191. 2015.

CORTE, G. N.; COLEMAN, R. A.; AMARAL, A. C. Z. Environmental influence on population dynamics of the bivalve *Anomalocardia flexuosa*. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.187, 241-248, 2017.

DAVID, P.; BERTHOU, P.; NOEL, P.; JARNE, P. Patchy recruitment patterns in marine invertebrates: a spatial test of the density-dependent hypothesis in the bivalve *Spisula ovalis*. **Oecologia**, n.111, 331:334.

DEFEO, O. Marine invertebrate fisheries in Sandy beaches: an overview. **Journal of Coastal Research**, v.35, 56-65, 2003.

DEFEO, O.; CASTILLA, J. C. More than one bag for the world fishery crisis and keys for co-management successes in selected artisanal Latin American shellfisheries. **Rev Fish Biol Fish**, v.15, 265–283, 2005.

DENADAI, M. R.; ARRUDA, E. P.; DOMANESCHI, O.; AMARAL, A. C. Z. Veneridae (Mollusca, Bivalvia) da costa norte do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v.6, n.3, 2006

DIAS, I. C. C. M. **Biologia populacional de *Mellita quinquiesperforata* Leske (1778) (ECHINODERMATA: CLYPEASTEROIDA: MELLITIDAE) na praia da Taíba, Ceará, Brasil.** 146f Dissertação (Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

FEITOSA, L. A.; FERNANDES, R.; COSTA, R. S.; GOMES, L. C.; AGOSTINHO, A. A. Parâmetros populacionais e simulação do rendimento por recruta de *Salminus*

*brasiliensis* (Cuvier, 1816) do alto rio Paraná. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.26, n.3, 317-323, 2004.

FONTELES-FILHO, A. A. **Oceanografia, biologia e dinâmica populacional de recursos pesqueiros**. Fortaleza: Expressão Gráfica Editora, 2011.

GAYANILO, F. C. JR.; SPARRE, P.; PAULY, D. **FAO-ICLARM Stock Assessment Tools II (FiSAT II)**. Revised version. User's guide. FAO Computerized Information Series (Fisheries). n. 8, Revised version. Rome, FAO. 2005.

GRAY, C. A. Assessment of spatial fishing closures on beach clams. **Global Ecology and Conservation**, v.5, 108-117, 2016.

GROTTA, M. e LUNETTA, J.E. Ciclo sexual de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin,1791) do litoral do Estado da Paraíba. **Revista Nordest. Biol**, v.3.n.1, 5-55, 1980.

HAMMER, O. **Software past 1999-2019: Paleontological Statistics**. Disponível em: <https://folk.uio.no/ohammer/past/>.

HERMANN, M.; LEPORE, M. L.; LAUDIEN, J.; ARNTZ, W. E.; Penchaszadeh, P. E. Growth estimations of the Argentinean wedge clam *Donax hanleyanus*: A comparison between length-frequency distribution and size-increment analysis. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.379, 8–15, 2009

LAVANDER, H. D.; CARDOSO JÚNIOR, L. O.; OLIVEIRA, R. L.; NETO, S. R. S.; GALVEZ, A. O.; PEIXOTO, S. R. M. Biologia reprodutiva da *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791) no litoral norte de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.2, 2011.

LUZ, J. R. & BOEHS, G. Reproductive cycle of *Anomalocardia flexuosa* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) in the estuary of the Cachoeira River, Ilhéus, Bahia. **Braz. J. Biol.**, v.71, n.3, 679-686, 2011.

MATTOS, G. & CARDOSO, R. S. Population dynamics of two suspension-feeding bivalves on a sheltered beach in southeastern Brazil. **Helgol Mar Res**, v.66, 393-400, 2012.

MILDENBERGER, T. K.; TAYLOR, M. H.; WOLFF, M. Package ‘TropFishR’, 2019.

MONTI, D.; FRENKIEL, L.; MOUEZA, M. Demography and growth of *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin) (Bivalvia: Veneridae) in a mangrove, in guadeloupe (French West Indies). **J. Moll. Stud.**, v.57, 249-257, 1991.

OLIVEIRA, I. B.; NETO, S. R. S.; FILHO, J. V. M. L.; PEIXOTO, S. R. M.; GÁLVEZ, A. O. Efeito do período chuvoso na extração do molusco bivalve *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.9, n.1,139-145, 2014.

OLIVEIRA, L.; LAVANDER, H.; RODRIGUES, S.; BRITO, L. O.; GÁLVEZ, A. O. Crescimento do berbigão, *Anomalocardia flexuosa* (Bivalvia: Veneridae) na praia de Mangue Seco, Pernambuco, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 46, n.1, 22-28, 2013.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. 2018

ROCHA-BARREIRA. C. A.; BATISTA, W. F.; MONTEIRO, D. O.; FRANKLIN-JUNIOR, W. Aspectos da estrutura populacional de *Donax striatus* (Linnaeus, 1758) (Mollusca:Donacidae) na praia do Futuro, Fortaleza-CE. **Arq. Ciências do Mar**, v.35, 51-55, 2002.

RODRIGUES, S.; LAVANDER, H.; OLIVEIRA, L.; BATISTA, A.; OLIVEIRA, I.; GÁLVEZ, A. O. Distribuição e abundância relativa do berbigão, *Anomalocardia flexuosa*, na praia de Mangue Seco, Pernambuco, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v.46, n.2, 70-75, 2013.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Análise populacional de *Anomalocardia flexuosa* (Gmelin, 1791), na praia do Saco da Ribeira, Ubatuba, Estado de São Paulo. **Bol. Inst. Oceanogr.**,v.29, n2, 351-355, 1980.

SILVA, H. G.; COSTA, R. S.; BELEM, T. P.; RODRIGUES, A. M. L.; MOURA, R. S. T.; MARTINS, L. P. C.; DIAS, L. P.; SILVA, C. F.; OLIVEIRA, I. Ecologia populacional e manejo pesqueiro de *Anomalocardia flexuosa*. In: SILVA, H. G.; CAROLSFELD, J.; GÁLVEZ, A. O. **Gente da maré: aspectos ecológicos e socioeconômicos da mariscagem no Nordeste Brasileiro**. Mossoró: EdUFERSA, 2014.

SILVA-CAVALCANTI, J. S. & COSTA, M. F. Fisheries in protected and non-protected areas: is it different? the case of *Anomalocardia flexuosa* at tropical estuaries of Northeast Brazil. **Journal of Coastal Research**, n.56,1456-1458, 2009.

SILVA-CAVALCANTI, J. S.; COSTA, M. F. Fisheries of *Anomalocardia flexuosa* in tropical estuaries. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v.6, n.2, 86-99, 2011.

THEN, A. Y., J. M. HOENIG, N. G. HALL, D. A. HEWITT. Evaluating the predictive performance of empirical estimators of natural mortality rate using information on over 200 fish species. **ICES J. Mar. Sci.**, v.72, 82-92, 2015.

TURRA, A.; PETRACCO, M.; AMARAL, A. C. Z.; DENADAI, M. R. Population biology and secondary production of the harvested clam *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Bivalvia, Veneridae) in Southeastern Brazil. **Marine Ecology**, 1-14, 2014.

TURRA, A.; PETRACCO, M.; AMARAL, A. C. Z.; DENADAI, M. R. Temporal variation in life-history traits of the clam *Tivela mactroides* (Bivalvia: Veneridae): Density-dependent processes in sandy beaches. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.150, 157-164, 2013.

## Capítulo IV – Relações simbióticas entre a *Anomalocardia flexuosa* e microbiota em um estuário hipersalino.

### 17 INTRODUÇÃO

Os moluscos apresentam adaptações para sobreviverem nas mais diversas condições ambientais, incluindo ambientes externos como estuários hipersalinos, lagoas litorâneas, regiões áridas costeiras e salinas. Especialmente os bivalves apresentam dominância em densidade, biomassa e produtividade dentro destes ecossistemas (HICKMAN, 2003).

Em ambientes hipersalinos, a osmorregulação para organismos filtradores é um mecanismo que pode sofrer flutuações. Copeland (1967) cita que o aumento da salinidade pode afetar o balanceamento de íons presente na água, pH, solubilidade e disponibilidade de oxigênio, exigindo assim do animal regulações no metabolismo para permitir seu estabelecimento, adaptação e sobrevivência.

Além das modificações das condições físicas e químicas do ambiente, a disponibilidade e acesso aos nutrientes e energia também podem ser afetados. Neste sentido, os microrganismos podem auxiliar neste processo de acessibilidade (HICKMAN, 2003). Relações de simbioses entre invertebrados marinhos e microrganismos são atualmente bastante citadas na literatura como alternativas para sobrevivência em condições de adversidades ambientais, podendo ocorrer em diferentes grupos, como corais (RABELO *et al.*, 2015), esponjas (WEIGEL e ERWIN, 2016), ascídias (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Para moluscos, Mariño *et al.* (2018), avaliando as contribuições da simbiose com microrganismos em espécies da família Thyasiridae, verificaram que este tipo de relação biológica possibilita uma fonte adicional de nutriente que permite inclusive alocação para manutenção dos processos reprodutivos.

A microbiota associada ao organismo aquático pode sofrer influência do meio em que vive (OLIVEIRA *et al.*, 2012; RABELO *et al.*, 2015). Entretanto, poucos estudos avaliam a contribuição dos fatores ambientais na diversidade da microbiota associada a organismos aquáticos, em relações de simbioses.

Em ambientes ricos em sulfetos, como manguezais, por exemplo, esta nova fonte de energia pode ser utilizada pelos organismos marinhos a partir das relações de

simbiose que estes estabelecem com bactérias que são capazes de transformar e fornecer este tipo de energia (FELBECK *et al.* 1983). A família Lucinidae apresenta diversos representantes que possuem simbioses com microrganismos. Alguns deles habitam áreas com deficiência de oxigênio e a simbiose com bactérias que oxidam sulfetos permite a absorção de uma nova fonte energética a partir da modificação de compostos orgânicos (STEWART *et al.*, 2006).

Apesar de sua importância, a diversidade de bactérias associadas aos moluscos filtradores, entretanto, ainda é pouco documentada. Em ambientes considerados extremos, diante das alterações já mencionadas, a simbiose com bactérias pode ofertar uma nova fonte de absorção de energia e nutrientes para sobrevivência em condições limitadas, reduzindo os custos para manutenção. Diante disto, este estudo tem como objetivo avaliar a microbiota associada ao bivalve filtrador *Anomalocardia flexuosa* em um estuário hipersalino. Essa avaliação foi feita através da Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE) e por sequenciamento de nova geração do gene rRNA 16S. Nessa avaliação, comparamos a estrutura da comunidade de simbioses em três áreas de um estuário hipersalino assim como simbioses associados a outras espécies de bivalves.

## 17.1 HIPÓTESE

A condição de hipersalinidade afeta a composição da microbiota associada a *Anomalocardia flexuosa*, por assimilação através da filtração da água. Além disso, o bivalve em questão possui uma microbiota própria diferente de outros moluscos bivalves.

## 17.2 OBJETIVOS

### *Objetivo Geral*

Avaliar se a estrutura e composição da microbiota associada a *Anomalocardia flexuosa* é afetada pela condição de hipersalinidade.

### *Objetivos específicos*

- Comparar a microbiota associada à *A. flexuosa* em estuário hipersalino e diferentes espécies de bivalves, com isso avaliar se a microbiota de *A. flexuosa* é específica ou compartilhada por outros bivalves do estuário hipersalino;
- Determinar se existem diferenças na composição da microbiota em diferentes regiões do corpo do animal, especialmente entre brânquias e demais regiões;
- Verificar diferenças na composição da microbiota associada às brânquias de *A. flexuosa* coletadas em diferentes regiões de um estuário hipersalino e compará-la com a microbiota presente nas amostras de água;
- Identificar os grupos taxonômicos de bactérias associadas às brânquias e restante do corpo de *A. flexuosa* e comparar com os bivalves *Tivela mactroides* e *Phacoides pectinatus* coletados na região.

## 18 MATÉRIAS E MÉTODOS

### *Coleta e processamento das amostras*

Foram coletadas amostras de 3 espécies de bivalves, para fins comparativos, na região hipersalina que compreende o estuário Apodi/Mossoró, localizado no litoral oeste do Rio Grande do Norte, região inserida na Costa Branca (para descrição da área de estudo verificar o capítulo 1 desta tese). As espécies foram: *Anomalocardia flexuosa* e *Tivela mactroides* (Born, 1778) ambas pertencentes a família *Veneridae*, que apresentam comportamento e hábito alimentar similares, e *Phacoides pectinatus* (Gmelin, 1791), bivalve detritívoro pertencente à família *Lucinidae*, já conhecido por apresentar relações de simbioses com bactérias (DOTY, 2015).

Os organismos foram amostrados em três diferentes regiões desta planície estuarina, uma área localizada estuário acima (A), uma segunda área distando 1 km da área A (B) e uma área na região de foz deste estuário (C) (localização das áreas e descrição no capítulo 1). As amostras foram recolhidas manualmente até uma profundidade de 5 cm do substrato marinho e alocadas em sacos plásticos, sendo transportadas em caixa térmica com gelo ao laboratório. As conchas dos moluscos, ainda vivos, foram limpas, seccionadas e amostras das brânquias e do tecido do restante do corpo do animal foram recolhidas para posterior análise molecular. O material foi armazenado a uma temperatura de -20 °C a extração do DNA metagenômico.

Amostras do bivalve *A. flexuosa* também foram recolhidas em outro estuário para fins comparativos. O estuário Timonha/Ubatuba, localizado no estado do Ceará, foi

escolhido por apresentar condições ambientais distintas do estuário Apodi/Mossoró. Os critérios para a definição do local foram: a ocorrência da espécie nesta planície fluviomarina e o fato de que esta foi a região mais próxima que apresenta menor influência das condições de semiaridez. O aporte de água pelas dunas parece influenciar os processos estuarinos e garantem a continuidade dos índices ideais de água doce, não permitindo a salinização destes corpos de água durante todo o ano, já que durante o período chuvoso o aporte de água doce é garantido (MEIRELES e CAMPOS, 2010). No estuário Apodi/Mossoró, a água de origem marinha exerce maior influência que o aporte irregular de água doce, além das altas taxas de evaporação, favorecendo assim a hipersalinização constante deste sistema estuarino (MEDEIROS *et al.*, 2018).

#### *Extração de DNA das amostras*

Os procedimentos de Biologia Molecular utilizados para caracterizar a microbiota simbiote foram realizados no Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (LEWMBIOTECH), do Departamento de Biologia da UFC. A extração do DNA das amostras de estudo foi realizada de acordo com o protocolo de extração de DNA CTAB 2X (WARNER, 1996). Após extração, as amostras de DNA extraídas foram então quantificadas por espectrofotometria (NanoDrop Technologies, EUA) para estimar os parâmetros de qualidade do DNA, indicativos da contaminação com proteínas, fenóis, ácidos húmicos e outros compostos, razão de absorbância 260/280 nm e 260/230 nm.

#### *Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante por meio de Reação em Cadeia de Polimerase com iniciadores para o gene rRNA 16S*

Para proceder a avaliação dos perfis estruturais das assembleias de Bacteria presentes nas amostras estudadas por DGGE, as amostras de DNA obtidas tiveram sua região V3 do gene codificador do rRNA 16S amplificada por meio de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase; termociclador de modelo Mastercycler EP Gradient S, Eppendorf, EUA). Na PCR, foi aplicado 1 µL de DNA de cada amostra (contendo 10ng/mL de DNA) como molde. Foi utilizado o par de iniciadores 338F GC (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG -3') e 518R (5' - ATT ACC GCG GCT GCT GG -3') (MUYZER *et al.*, 1993). As condições da reação, de volume final de 30 µL, consistiram de 3,0 µL de cada iniciador (5 µM), 0,6 µL da solução de desoxirribonucleotídeos trifosfatados

(dNTPs; 10mM), 1,8 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 6,0 µL de tampão de reação 5X, 0,2 µL de Gotaq DNA polimerase (5U/mL) e água MilliQ ultrapura para completar o volume da reação. O programa de corrida consistiu de desnaturação inicial a 95°C por 5 min, seguida de 30 ciclos consistindo de desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 55°C por 1 min e 72° C de extensão por 2 min, seguidos de um passo de extensão final a 72°C por 5 min.

Os produtos de PCR amplificados foram visualizados em um fotodocumentador com iluminação ultravioleta após eletroforese em gel de agarose a 2% (m/v) adicionado do corante SyBr-Safe DNA em tampão Tris-Borato-EDTA 0,5X (45 mM Tris Base, 45 mM de ácido bórico e 1 mM de EDTA pH 8,0) (Life Technologies, EUA). Um marcador molecular de 1 Kb foi utilizado como padrão de peso molecular. Quando todas as amostras de DNA de cada estação de coleta eram amplificadas na ausência de amplificação do controle negativo, procedia-se o procedimento de DGGE.

Após a amplificação das amostras de DNA obtidas, foram realizadas corridas de DGGE conforme descrito por Heuer *et al.* (1997) com o equipamento BioRad Dcode-System (BioRad, EUA). Em cada corrida, as amostras foram aplicadas em diferentes poços, assim como um marcador de 50 pb. Cada amostra foi analisada em três géis e reações de polimerização independentes.

Os géis de poliacrilamida a 8% (m/v) foram preparados a partir de soluções de concentração 0% e 100% de desnaturação (7 M de uréia e 40% de formamida), as quais foram combinadas para formar um gradiente de 35% a 65% de desnaturação. A eletroforese foi realizada a uma temperatura constante de 60°C e a uma voltagem de 200V por quatro horas em tampão Tris-Acetato-EDTA 0.5X (20 mM de Tris, 20 mM de acetato e 1 mM de EDTA pH 8.0). Após a eletroforese, o gel foi retirado e corado com SyBr-Green I (Life Technologies, EUA) por uma hora. Em seguida, foi visualizado e fotografado em um fotodocumentador com iluminação ultravioleta.

#### *Análise dos géis de DGGE*

Os perfis de DGGE obtidos foram analisados e comparados no programa Bionumerics versão 7.0 (Applied Maths, Bélgica). No programa, a imagem de cada gel foi normalizada e avaliada de forma padronizada para identificar as bandas presentes em cada amostra, sendo em seguida convertida em matrizes de presença e ausência de bandas (matrizes binárias). Tais matrizes foram utilizadas em análises qualitativas da estrutura das assembleias de Bacteria presentes nas amostras. As

análises de agrupamento por similaridade das diferentes amostras foram realizadas no próprio programa Bionumerics, permitindo distinguir as amostras quanto a sua composição de UTOs (Unidades Taxonômicas Operacionais).

#### *Amplificação e construção da biblioteca de rRNA 16S metagenômico*

O DNA metagenômico isolado de cada amostra foi utilizado como substrato para reações da polimerase em cadeia (PCR) para amplificação da região de hipervariabilidade V4 do rDNA 16S das comunidades de Bacteria e Archaea. As reações de polimerização (PCRs) foram realizadas seguindo os seguintes parâmetros: para cada reação de 25 µL, foram adicionados 4,0 µL do DNA metagenômico de cada amostra (encerrando 10 ng), 2,5 µL do tampão de reação 10X (Tris-HCl 60 mM, pH 8,0; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 0,5 µL de solução de dNTP's (10 mM cada), 1,0 µL de cada iniciador, cada um na concentração 5,0 µM, 0,2 µL enzima *Platinum Taq DNA Polimerase High Fidelity* (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) e 14,8 µL de água ultrapura. Para a reação controle, foi adicionada água no lugar do DNA. As reações foram incubadas no termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient Thermal Cycler (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha), e consistiram em uma etapa de desnaturação inicial a 95 °C por 4 minutos, uma etapa de anelamento a 60 °C por 1 minuto e uma etapa de extensão a 72 °C por 2 minutos. Esse ciclo foi seguido por mais 25 ciclos de 94 °C por 1 minuto, 60 °C por 1 minuto e 72 °C por 2 minutos. Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) apresentam em sua porção 5'- uma região específica, complementar aos indexes que serão utilizados como identificadores das amostras durante o sequenciamento (CAPORASO *et al.*, 2012). Ao término da reação, o volume total de cada reação foi misturado ao tampão de amostra (glicerol 30%, azul de bromofenol 0,25% em TE pH 8,0) e então aplicado em gel de agarose 1% e revelado com SybrSafe DNA (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) na concentração final 1x. A eletroforese foi mantida a 100 V num sistema horizontal, com o gel submerso em tampão TBE (Tris-Borato 45 mM pH 8,0; EDTA 1,0 mM). A solução de DNA obtida para cada amostra foi armazenada em freezer -20 °C até o uso.

Após a confirmação do sucesso da primeira etapa de amplificação, os fragmentos foram submetidos a uma nova PCR para a inserção dos identificadores de sequenciamento (*indexes* ou *barcodes*). Esses adaptadores adicionados permitem a posterior fixação dos fragmentos ao suporte de sequenciamento e são os responsáveis

pelo endereçamento dos dados brutos gerados (sequências) para as suas respectivas amostras de origem.

Finalizada a etapa de indexação, a concentração dos fragmentos gerados (bibliotecas de *amplicons*) foi estimada através de fluorimetria, utilizando o kit dsDNA BR Assay (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) no fluorímetro Qubit™ (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Quantidades equimolares de cada uma das amostras indexadas foram misturadas em uma única solução para a introdução no sequenciador.

#### *Sequenciamento de fase sólida na plataforma Illumina MiSeq®*

As amostras foram submetidas ao sequenciamento por meio da plataforma de nova geração MiSeq System (Illumina, San Diego, CA), utilizando-se o *MiSeq Reagent Kit V2* – 300 ciclos (Illumina, San Diego, CA), de acordo com as especificações do fabricante. O cartucho contendo as amostras foi aplicado na plataforma Illumina MiSeq, com a adição de 20% do controle positivo (*PhiX control V3* – Illumina, San Diego, CA) como controle positivo do sequenciamento. O sequenciamento foi realizado nos dois sentidos (*paired-end*), com 150 ciclos de sequenciamento para cada fita.

#### *Análise das sequências das bibliotecas de rRNA 16S*

Os dados obtidos pelo sequenciamento da região de variabilidade V4 do rRNA 16S das comunidades bacterianas das amostras foram submetidos a análise *in silico* pela empresa Eureka.omics utilizando ferramentas de bioinformática. Os adaptadores da Illumina foram removidos de arquivos demultiplexados utilizando o Cutadapt v1.8 e a qualidade dos reads foi aferida utilizando o FastQC v.0.11.8 (MARTIN, 2011) e vsearch v2.10.4 (ROGNES *et al.*, 2016). As análises subsequentes foram feitas no ambiente R v3.5.3 (R CORE TEAM, 2018), seguindo o pacote DADA2 v1.11.1 (CALLAHAN *et al.*, 2016), com parâmetros sugeridos pelos autores ajustados aos nossos dados. Como resultado, foi obtida uma tabela de variantes de sequências de amplicons (*amplicon sequence variants, ASVs*) não quiméricos (CALLAHAN *et al.*, 2017), a qual contém o número de vezes que cada ASV foi observada em cada amostra, ou seja, sua abundância. A classificação taxonômica foi realizada com o pacote DADA2 contra o banco de dados SILVA referência 132 (CALLAHAN, 2018).

#### *Análise dos dados*

Os resultados do DGGE foram inicialmente utilizados para comparações quantitativas das diferentes bandas presentes em todas as amostras analisadas.

Gráficos de barras empilhados foram construídos com o objetivo de verificar o percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias presentes nas diferentes amostras. Na construção dos gráficos, diante do elevado número de táxons, para as amostras de água e a comparação entre espécies, as famílias que apresentaram mais de 2% de ocorrência nas amostras foram utilizadas para fins de comparação. Já o parâmetro de seleção dos táxons para comparativos intraespecíficos de *A. flexuosa* foi de ocorrência de mais 0,1% da composição total.

## 19 RESULTADOS

### 19.1 PERFIL DO DGGE

A análise do gel em DGGE evidenciou múltiplas bandas diferenciadas para a comunidade microbiana associada a *Anomalocardia flexuosa* e a água do local de coleta. As similaridades entre amostras de água e amostras deste bivalve foram de mais de 45%. No entanto, as amostras de água se apresentaram mais dispersas, com a amostra da área A separando-se completamente das demais (Figura 21).

As amostras deste bivalve coletadas em diferentes áreas do estuário Apodi/Mossoró também apresentaram distinções nas bandas, com agrupamento mais similar das amostras das áreas A e B (72% de similaridade), formando dois subgrupos um para brânquia e outro para os demais tecidos do animal. Já a área C foi 60% similar as demais, reunindo com 80% de similaridade amostras de brânquias e total (Figura 21).

As variações da microbiota também ocorreram em diferentes regiões do corpo de *A. flexuosa*. Algumas bandas foram evidentes para amostras contendo todos os tecidos do corpo, as quais não estiveram presentes nas amostras de brânquia do animal, tendo ocorrido também bandas exclusivas das amostras de brânquia. Variações intraespecíficas também foram observadas na composição das bandas nas amostras de *A. flexuosa* dos dois estuários analisados (Apodi/Mossoró e Timonha/Ubatuba) (Figura 21). As amostras de brânquias e de todos os tecidos do animal coletado no estuário Timonha/Ubatuba formaram um grupo com 61% de similaridade entre suas amostras e 44% de similaridade com amostras coletadas nas áreas A, B e C do estuário Apodi/Mossoró.

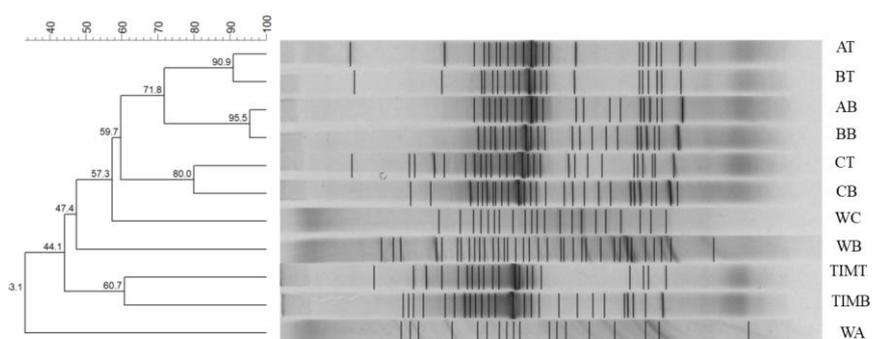


Figura 21 – Similaridades para a comunidade bacteriológica presente em diferentes partes do corpo do bivalve *Anomalocardia flexuosa* coletada em diferentes regiões de um estuário hipersalino do Rio Grande do Norte e em um estuário do Ceará, além das amostras de água dos locais e os referidos padrões das bandas em DGGE para cada uma das amostras. AT: tecido total de *A. flexuosa* coletada na área A, BT: tecido total de *A. flexuosa* coletada na área B, CT: tecido total de *A. flexuosa* coletada na área C, AB: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área A, BB: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área B, CB: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área C, TIMT: tecido total de *A. flexuosa* coletada no estuário Timonha/Ubatuba, TIMB: brânquia de *A. flexuosa* coletada no estuário Timonha/Ubatuba, WA: amostra de água da área A, WB: amostra de água da área B, WC: amostra de água da área C.

## 19.2 SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO

A caracterização geral da microbiota associada a *A. flexuosa* no estuário hipersalino Apodi/Mossoró, obtida através do resultado do sequenciamento, indicou que os filos mais frequentes, tanto para amostras de brânquias como demais partes do corpo do animal, foram Proteobacteria (mais de 90%), especialmente a classe Gammaproteobacteria, e Spirochaetes (4-7%).

Levando em consideração a comunidade de bactérias associadas às brânquias e às demais regiões do corpo do bivalve, a diversidade de famílias nas brânquias foi menor (5 famílias apresentaram maior representatividade). Contudo, Moraxellaceae ocorreu, em maior abundância, nas demais partes do corpo do animal e Mycoplasmataceae não foi registrada na brânquia. A família Vibrionaceae foi registrada, mesmo que reduzidas frequências, em ambas amostras, brânquias e total (Figura 22). Algumas famílias, como Chthoniobacteraceae e Litoricolaceae, foram encontradas, exclusivamente, nas brânquias, porém, a abundância foi bem inferior às

demais famílias de bactérias que estão associadas a este órgão do bivalve. Estas famílias também foram encontradas nas amostras de água dos locais de coleta.

Na figura 23 podemos constatar que algumas famílias apresentaram maior ocorrência, preferencialmente, nas amostras de brânquias das áreas A e B, como Clostridiaceae e Rhizobiaceae. As mais frequentes em todas as amostras de tecido branquial de *A. flexuosa* foram Endozoicomonadaceae e Spirochaetaceae.

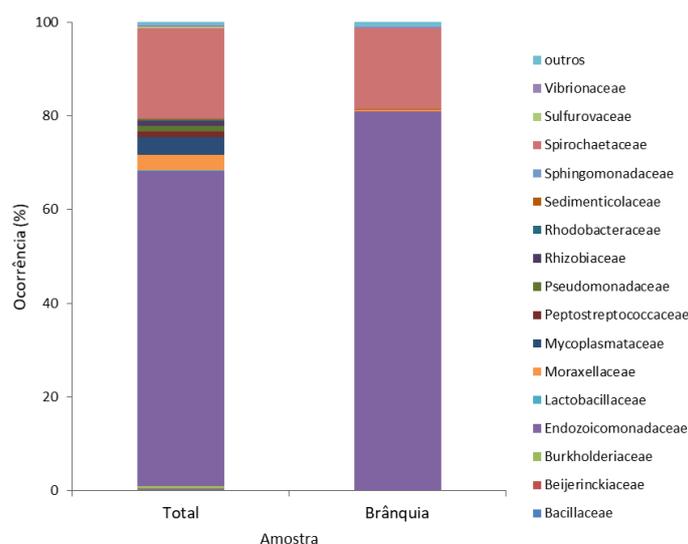


Figura 22 - Percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias presentes nas amostras do tecido branquial (Brânquia) e demais regiões (Total) do corpo de *A. flexuosa* no estuário hipersalino Apodi/Mossoró - RN.

Comparando as amostras de água das diferentes regiões do estuário Apodi/Mossoró e amostras do tecido do animal observou-se que a microbiota da água foi mais diversa e diferiu da microbiota associada ao bivalve, como mencionado anteriormente. Muitos grupos que foram registrados nas amostras do tecido do animal também foram encontrados na água, com exceção da família *Koribacteraceae* que ocorreu somente nas amostras de brânquia do bivalve na área A (Figura 23). No entanto, os percentuais de ocorrência diferem. As famílias que apresentaram maior ocorrência nas amostras de água não são as mesmas que encontradas nas amostras de tecido do animal (Figura 24).

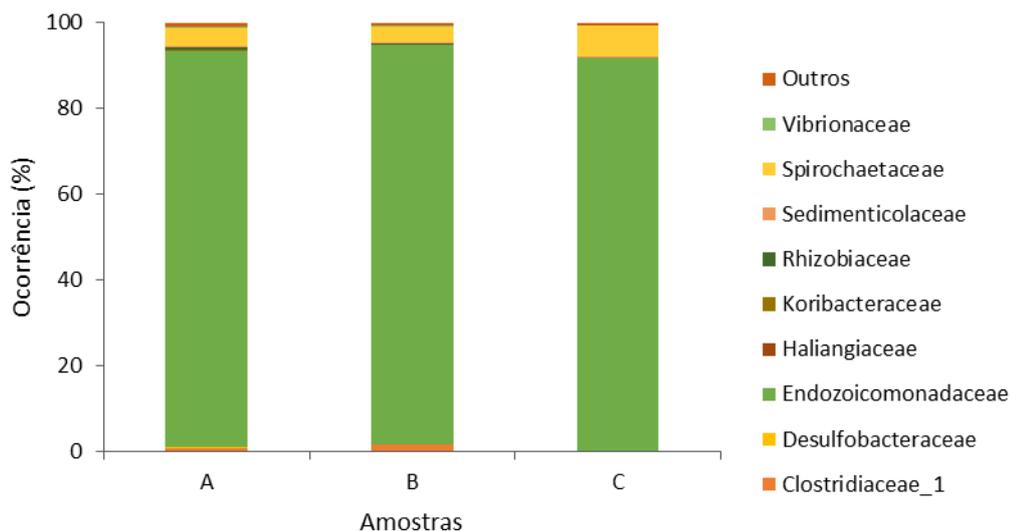


Figura 23 - Percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias presentes nas amostras do tecido branquial de *A. flexuosa* coletadas em 3 diferentes regiões do estuário hipersalino Apodi/Mossoró. A: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área A, B: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área B, C: brânquia de *A. flexuosa* coletada na área C.

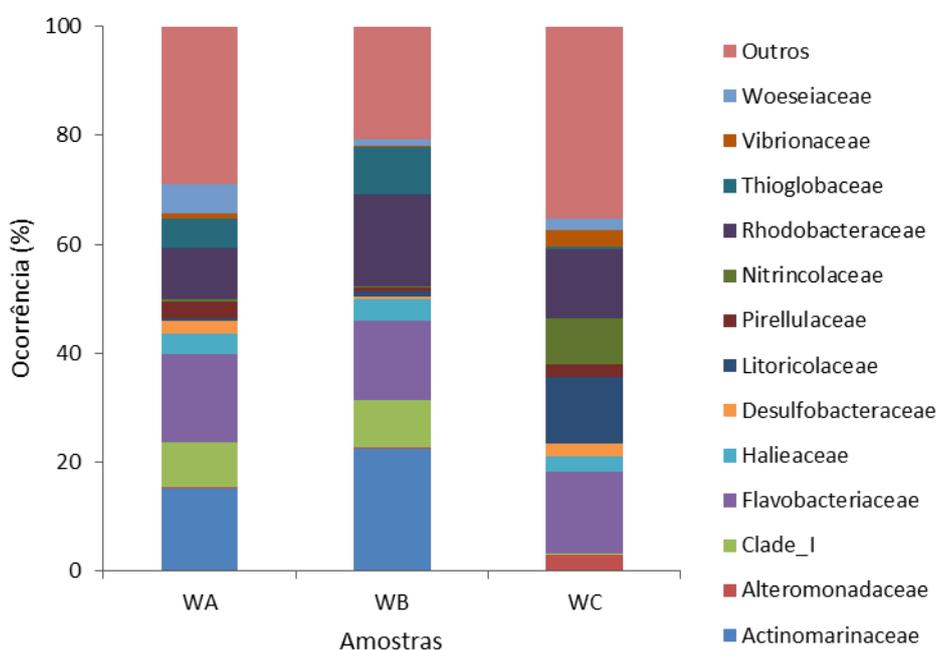


Figura 24 – Percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias presentes nas amostras de água coletadas em 3 diferentes regiões do estuário hipersalino Apodi/Mossoró. WA: amostra de água da área A, WB: amostra de água da área B, WC: amostra de água da área C.

O agrupamento por similaridade separou em diferentes grupos as 3 espécies de bivalves analisadas, onde *Phacoides pectinatus* apresentou menor similaridade com os simbiontes das demais. Os bivalves filtradores *Tivela mactroides* e *Anomalocardia flexuosa* apresentaram 31% de similaridade. Desta forma, os filtradores compartilharam mais simbiontes, porém as diferenças representaram aproximadamente 70% (Figura 25).

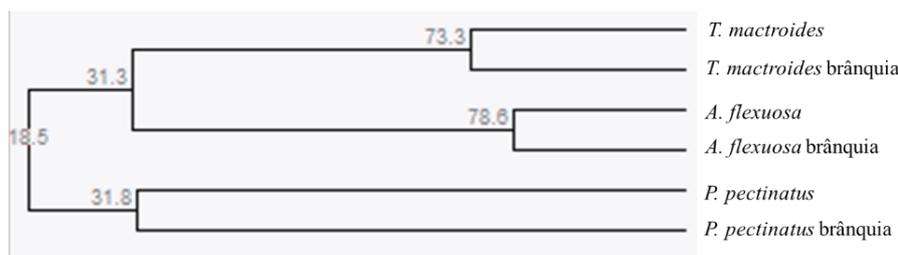


Figura 25 – Análise de similaridade para a composição da microbiota associada a brânquia e as demais partes do corpo dos bivalves: *Anomalocardia flexuosa*, *Tivela mactroides* e *Phacoides pectinatus*.

Considerando os táxons de maior representatividade, *T. mactroides* apresentou o maior número de famílias de bactérias associadas tanto às brânquias como o restante do corpo. Nem todas as famílias presentes no tecido do animal foram encontradas em abundância associadas às brânquias dos 3 bivalves (Figuras 26 e 27). As famílias que foram mais abundantemente encontradas em *A. flexuosa* não foram as mais frequentes nas demais espécies, considerando os simbiontes de todo o tecido do animal. As famílias *Bacillaceae*, *Rhizobiaceae*, *Mycoplasmataceae* e *Spirochaetaceae* ocorreram em maiores abundâncias em *T. mactroides*. Enquanto a família *Sedimenticolaceae* em *P. pectinatus*. Desta forma, *A. flexuosa* e *P. pectinatus* apresentaram menores riquezas, diferente de *T. mactroides* (Figura 26).

*Endozoicomonadaceae* e *Spirochaetaceae* também foram as famílias com maiores ocorrências para brânquias de *T. mactroides*, assim como ocorreu para *A. flexuosa*. Mais uma vez a família *Sedimenticolaceae* foi a mais abundante também na brânquia de *P. pectinatus* (Figura 27).

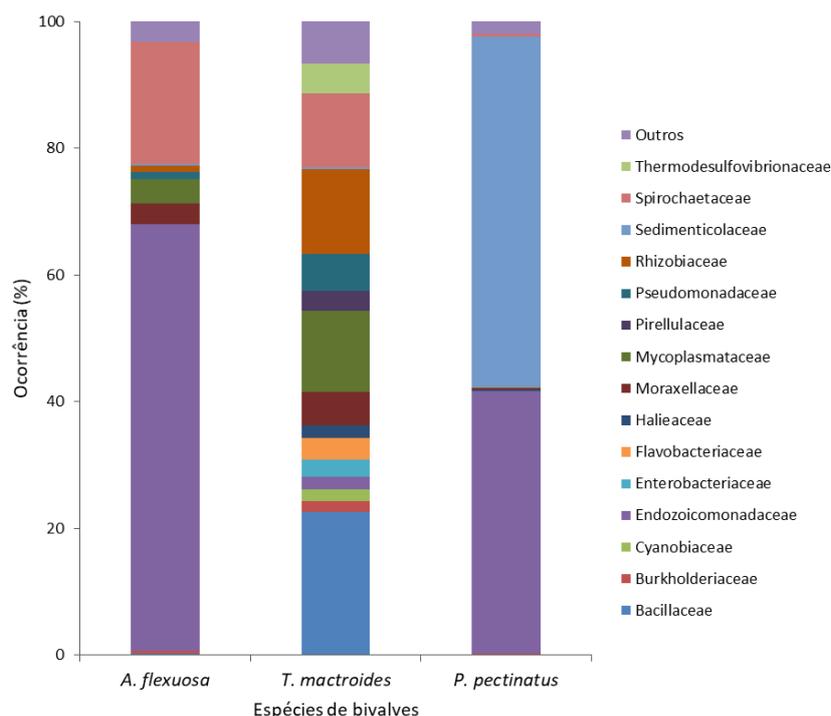


Figura 26 – Percentual de ocorrências das diferentes famílias de bactérias associadas ao tecido de bivalves das espécies *Anomalocardia flexuosa*, *Tivela mactroides* e *Phacoides pectinatus* no estuário hipersalino Apodi/Mossoró – RN.

As variações das bandas observadas no DGGE para as brânquias *A. flexuosa* coletadas nos dois estuários, provavelmente, ocorreram devido à representatividade das famílias *Moraxellaceae*, mais abundante nas amostras do estuário Apodi/Mossoró, e *Rhizobiaceae*, mais abundante no estuário Timonha/Ubatuba (Figura 26). Os gêneros *Chthoniobacter* e *Enhydrobacter*, mesmo com reduzidas abundâncias, ocorreram apenas nas brânquias de *A. flexuosa* no estuário Apodi/Mossoró.

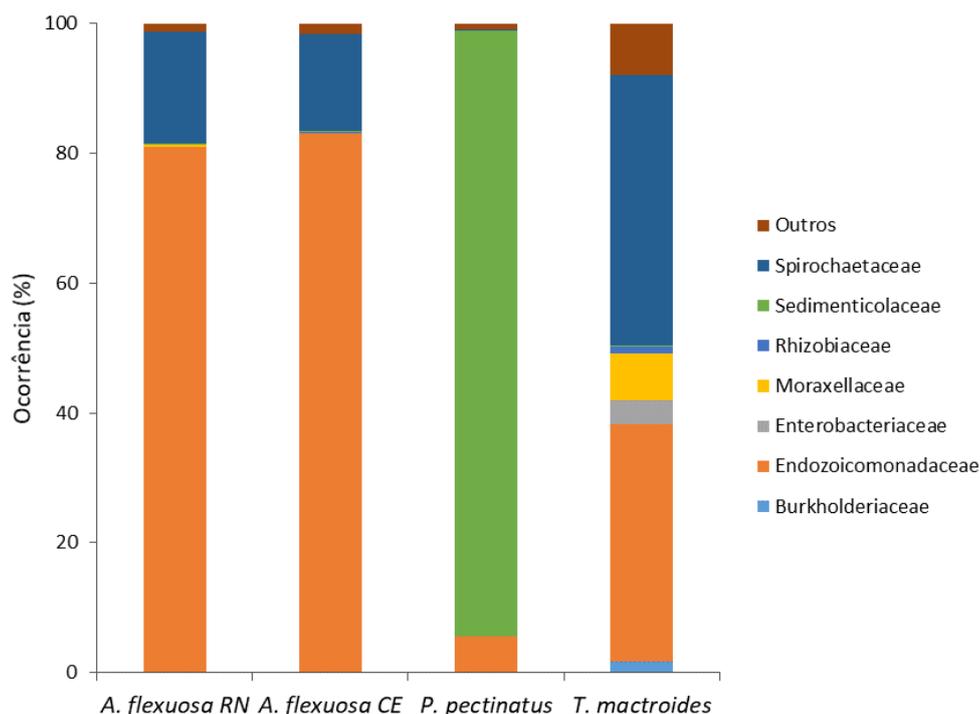


Figura 27 – Percentual de ocorrência das diferentes famílias de bactérias associadas as brânquias dos bivalves *Anomalocardia flexuosa* (*A. flexuosa* RN: amostra de brânquia do bivalve coletado no estuário Apodi/Mossoró, Rio Grande do Norte – RN, e *A. flexuosa* CE: amostra de brânquia do bivalve coletado no estuário Timonha/Ubatuba, Ceará) *Tivela mactroides* e *Phacoides pectinatus*.

## 20 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo informaram que existe uma microbiota própria associada a *A. flexuosa*, porém ela pode variar entre os locais. Contudo, os grupos dominantes são mantidos, o que explica os 70% de similaridade. Além disso, a microbiota associada a *A. flexuosa* apresentou poucas variações entre diferentes regiões do corpo do animal, entretanto, diferente das outras espécies de bivalves. Tais diferenças foram ocasionadas por modificações na abundância relativa de alguns táxons bacterianos dominantes como também pela presença de táxons raros.

Simbiose entre invertebrados e bactérias quimioautotróficas podem ocorrer comumente no ambiente marinho. Os simbioss podem funcionar como um fonte interna de nutrição para o hospedeiro através dos processos de quimioautotrofia (DUPERRON *et al.*, 2013; KING *et al.*, 2012; KRUEGER *et al.*, 1992; WATER *et al.*, 2016). *Solemya velum* (Say, 1822) considerado um bivalve comedor de depósito apresentou também, mesmo que em pequenas quantidades, ingestão de partículas a

partir da filtração da água. Provavelmente, em decorrência do pouco desenvolvimento de suas brânquias, essa filtração foi pouco efetiva. No entanto, ocorreu, o que demonstra que mesmo apresentando hábito alimentar já definido a suspensão alimentar complementa sua fonte nutricional. E as bactérias associadas às suas brânquias apresentam importante papel para oxidação dos compostos de enxofre (KRUEGER *et al.*, 1992), incorporando assim os processos nutricionais.

Do mesmo modo, para organismos essencialmente filtradores estudos indicam que além das fontes primárias de nutrição, como o fitoplâncton, outras fontes alimentares adicionais como bactérias, detritos e zooplâncton (ARAPOV *et al.*, 2010), complementam sua dieta.

*Anomalocardia flexuosa*, um bivalve conhecidamente filtrador e lamelibrânquio (RIOS, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2010), apresenta brânquias mais desenvolvidas e consegue ter maior capacidade de filtração que *S. velum*, com isso pode ingerir microrganismos da água que auxiliem nos processos nutricionais ou respiratórios, a partir da incorporação de fontes de carbono e nitrogênio (KRUEGER *et al.*, 1992). Isto pode ser importante, especialmente, em ambientes com condições extremas de salinidade, pois variações de temperatura e salinidade podem ocasionar diferenças nos processos osmorregulatórios (LIMA *et al.*, 2009) e nas taxas de alimentação de bivalves (RESGALLA JÚNIOR e PIOVEZAN, 2009).

A composição de bactérias presentes nas amostras de água das 3 áreas analisadas no estuário Apodi/Mossoró demonstrou que na área A a microbiota apresentou um padrão diferenciado das demais, o que pode ter ocorrido devido, especialmente, esta ser a área de maior registro de salinidade. Ambiente que pode não ser favorável a todos os grupos de microorganismos.

Enquanto o comparativo entre amostras de água e do tecido de *A. flexuosa* definiu que a microbiota da água foi bem mais diversa e diferiu dos simbiossitos associados a *A. flexuosa* no estuário Apodi/Mossoró. O ambiente contribuiu para a composição da comunidade da microbiota associada aos organismos aquáticos (KING *et al.*, 2012), através da assimilação da água ou do sedimento (ESPINOSA *et al.*, 2013), no entanto, podem existir bactérias que são hospedeiras específicas permanentes (SCHILL *et al.*, 2017).

La Valley *et al.* (2009) verificaram que a similaridade entre amostras de água e a composição de bactérias associadas às ostras foi reduzida, assim como observado em a esponjas por Weigel e Erwin, 2016. No presente estudo, também analisando amostras

de um organismo filtrador, a similaridade entre microbiota do tecido do animal e água foi de 45%. Assim, a água, que apresentou microbiota mais diversa, representa apenas uma das fontes de assimilação de bactérias para o bivalve *A. flexuosa*.

Assim a forma de transmissão das bactérias para os hospedeiros também é bastante discutida. Os microorganismos podem ser repassados do ambiente para o hospedeiro adulto via transmissão horizontal ou por transmissão vertical, entre as gerações (BRISSAC et al., 2009). Em bivalves da família Teredinidae as relações de simbiose ocorrem com bactérias associadas as brânquias que são responsáveis pela degradação da celulose e são repassadas para os organismos por transmissão vertical, onde os tecidos gonadais já apresentaram registros das células bacterianas (SIPE et al., 2000). Para *A. flexuosa* este processo ainda não pode ser bem definido.

Os resultados do DGGE demonstraram algumas distinções de bactérias associadas à brânquia e demais partes do corpo de *A. flexuosa*, o que pode sugerir capacidade de seleção do material que é ingerido por filtração. Organismos infaunais apresentam maior capacidade de seleção das partículas ingeridas (BACON et al., 1998).

Pequenas variações na composição da microbiota associada à brânquia de *A. flexuosa* foram observadas nas amostras das três diferentes áreas analisadas no estuário Apodi/Mossoró. A família Koribacteraceae, encontrada preferencialmente em solos agricultáveis (PERSHINA et al., 2015), foi registrada nas brânquias, contudo, somente na área A. O ambiente pode, consideravelmente, exercer influências sobre a composição da microbiota deste bivalve, uma vez que a exposição a contaminantes e condições ambientais estressantes podem ocasionar diferenciações na composição da microbiota (SCHILL et al., 2017).

As famílias Chthoniobacteraceae e Litoricolaceae, que estavam presentes na água, foram registradas nas brânquias de *A. flexuosa*, o que reforça a possibilidade de assimilação de bactérias através da água. *Litoricolaceae*, família pertencente a classe Gammaproteobacteria, reúne bactérias gram-negativas quimioheterotróficas (WEBB et al., 2014) sua ocorrência, contudo, e função nas brânquias ainda não foi completamente compreendida.

As diferenciações da representatividade das famílias que foram observadas nas comunidades de bactérias presentes nas amostras de *A. flexuosa* de populações em dois estuários distintos corroboram com as sugestões do ambiente modulando a composição de bactérias associadas a este bivalve. Visto que, um dos gêneros que foi encontrado apenas em amostras do estuário Apodi/Mossoró, Chthoniobacter, é composto por

bactérias heterotróficas que estão envolvidas na transformação de compostos orgânicos de carbono no solo (SANGWAN *et al.*, 2004). Assim, o substrato pode contribuir para aquisição e/ou assimilação das bactérias pelos bivalves.

As especificidades dos ambientes podem modificar a composição dos microorganismos ali presentes. Fatores abióticos como luz, concentração de nutrientes, temperatura, exposição e dessecação são citados como possíveis causadores de variações intraespecíficas da microbiota simbiote em esponjas (WEIGEL e ERWIN, 2016), o que pode também interferir na composição da comunidade associada a bivalves, que também são filtradores. Porém, a escassez de informações sobre relações de simbioses neste grupo não permitem melhores considerações.

Desta forma, fatores locais podem interferir na composição da microbiota e ocasionar variações na comunidade de bactérias associadas a *A. flexuosa*, especialmente diante dos aspectos citados anteriormente. Contudo, a água não parece ser o principal mediador dos processos de simbioses, já que a sua microbiota diferiu bastante da microbiota presente nas brânquias de *A. flexuosa*. Isto mostra que há uma seleção de sua microbiota pelo animal. Avaliações da comunidade de bactérias presente no sedimento não foram verificadas no presente estudo. Por ser um organismo endofaunal, as características do sedimento podem interferir na composição de bactérias nos tecidos deste bivalve. Algumas famílias relatadas na literatura como ocorrendo preferencialmente em sedimentos foram encontradas associadas a este bivalve. Portanto, para determinar as interferências do meio sobre a aquisição dos microrganismos em *A. flexuosa* seria necessário uma abordagem de avaliação mais ampla, analisando não só a água do local de coleta, como também o sedimento.

O comparativo geral das famílias de bactérias associadas as brânquias de *A. flexuosa* nos dois estuários aqui analisados informou ainda a prevalência geral de determinados grupos em associação com este bivalve, independente da área de estudo, sugerindo uma uniformidade nas populações de bactérias. Assim as bactérias foram consideradas espécie-específicas.

A composição total das famílias apresentou pequenas variações nas duas regiões estuarinas, sendo Endozoicomonadaceae e Spirochaetaceae as mais abundantes em ambos estuários. Estas famílias não exibiram elevadas abundâncias nas amostras de água dos locais de coleta, o que pode indicar que sua incorporação no tecido do animal é independente da sua maior disponibilidade na água.

Schill *et al.* (2017) afirmaram que todos os organismos detêm uma comunidade bacteriana residente em associação com seus tecidos. Bactérias associadas às brânquias comumente são relatadas como, verdadeiramente, em simbiose (CHEN *et al.*, 2016). Para mexilhões, as Endozoicomas também foram bactérias abundantemente associadas às brânquias e ao intestino destes animais. No entanto, tal relação ainda permanece pouco conhecida, alguns estudos indicam que esta simbiose pode estar relacionada as regulações dos processos digestivos (SCHILL *et al.*, 2017).

Duperron *et al.* (2013) citam Gammaproteobacteria como sendo um táxon importante para regulações dos processos de simbioses, especialmente por apresentar bactérias que são oxidantes do enxofre. Esta classe engloba a família Endozoicomonadaceae registrada em elevada ocorrência nas brânquias de *A. flexuosa*. Este bivalve habita regiões abrigadas como áreas de manguezais, baías e regiões estuarinas (NARCHI, 1974), ambientes que apresentam redução da disponibilidade de oxigênio, elevada incorporação de matéria orgânica (MAIA, 2016) e alta concentração de enxofre, onde as bactérias são fontes importantes para a ciclagem de nutrientes (CABRERA, 2005).

Spirochaetes também já foram relatadas associadas aos processos digestivos em moluscos (KING *et al.*, 2012; FERNANDEZ *et al.*, 2014). Para o coral vermelho *Corallium rubrum* (Linnaeus, 1758), este táxon atua na ciclagem de nutrientes, nitrogênio, carbono e enxofre, sendo uma importante fonte de simbiose neste grupo (WATER *et al.*, 2016). Duperron *et al.* (2007) citam Spirochaetes como o mais novo táxon envolvido em relações de simbiose em bivalves de ambientes extremos, como mar profundo ou fontes termais.

*Phacoides pectinatus* apresentou pouca similaridade com *A. flexuosa*, indicando prevalência de famílias distintas. Sedimenticolaceae foi a família mais abundantemente encontrada nas amostras de *P. pectinatus* e consta na literatura como sendo importante para as relações quimioautotróficas entre o bivalve e as bactérias (DOTY *et al.*, 2015). Talvez o hábito alimentar, modo de vida, e as características fisiológicas destas espécies também exerçam influências nas composições das famílias que regulam as associações bacterianas. Duperron *et al.* (2013) citam que diferentes famílias podem apresentar padrões distintos de associação entre simbioses e hospedeiros.

Importante ressaltar também que a família Vibrionaceae, mesmo em baixa ocorrência, foi registrada nas amostras do bivalve *A. flexuosa*. Tal família apresenta grupos patogênicos que podem ocasionar processos infecciosos em humanos, e já foram

encontrados abundantemente em organismos filtradores, especialmente em ostras (KING *et al.*, 2012; SCHILL *et al.*, 2017; VALLEY *et al.*, 2009). Como *A. flexuosa* é considerada um importante recurso pesqueiro, sendo comercializada e consumida em varias comunidades da região da Costa Branca, área de estudo do presente trabalho, esta constatação se torna um alerta para adequada manipulação e consumo da carne.

Os filos Bacteroidetes e Firmnicutes são abundantes em solos hipersalinos (SORENSEN, 2005). Nas amostras de água do estuário Apodi/Mossoró tais filos também foram abundantes, porém suas ocorrências nas amostras de *A. flexuosa* foram raras. Com isto, concluímos que o ambiente pode agir influenciando a composição da microbiota associada a este bivalve, contudo, a condição de hipersalinidade não foi determinante neste processo. Futuros estudos destinados a reforçar as relações simbióticas das bactérias aqui observadas como sendo residentes em *A. flexuosa* e as funções específicas destas relações são necessários. Deve-se levar em consideração, especialmente, o fato de que os estudos com simbioses em organismos aquáticos de regiões estuarinos/costeiras ainda são escassos.

## 21 REFERÊNCIAS

ARAPOV, J.; EZGETA-BALI, D.; PEHARDA, M.; NINCEVIC GLADAN, Z. Bivalve feeding - how and what they eat? **Ribarstvo**, v.68, n.3, 105-116, 2010.

BACON, G.S.; MACDONALD, B. A.; WARD, J. E. Physiological responses of infaunal (*Mya arenaria*) and epifaunal (*Placopecten magellanicus*) bivalves to variations in the concentration and quality of suspended particles I. Feeding activity and selection. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v.219,105-125, 1998.

BRISSAC, T.; GROS, O.; MERÇOT, H. Lack of endosymbiont release by two *Lucinidae* (Bivalvia) of the genus *Codakia*: consequences for symbiotic relationships. **Microbiol Ecol**, v.67, 261-267, 2009.

CABRERA, L. C. **Formas de enxofre na coluna d'água e sedimentar numa enseada rasa do estuário da Lagoa dos Patos**. 115f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Química, Física e Geológica) – Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande, 2005.

CALLAHAN, B.J.; MCMURDIE, P.J.; HOLMES, S.P. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. **ISME J.** v.11, 2639–2643, 2017.

CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; ROSEN, M. J.; HAN, A. W.; JOHNSON, A. J. A.; HOLMES, S. P. "DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data." **Nature Methods**, v.13, 581-583, 2016.

CALLAHAN, B. Silva taxonomic training data formatted for DADA2 (Silva version 132) [Data set], 2018.

CAPORASO, J. G.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; BERG-LYONS, D.; LOZUPONE, C. A.; TURNBAUGH, P. J.; FIERER, N.; KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2011.

CHEN, H.; LIU, Z.; SHI, Y.; DING, H. H. Microbiological analysis and microbiota in oyster: a review. **ISJ**, v.13: 374-388, 2016.

COPELAND, B. J. Environmental characteristics of hypersaline lagoons. **Contrib. Marine Sci. University of Texas Marine Sci. Inst.** 12, 207–218, 1967.

DOTY, T. W. **Environmental Controls on the Diversity and Distribution of Endosymbionts Associated with *Phacoides pectinatus* (Bivalvia: Lucinidae) from Shallow Mangrove and Seagrass Sediments, St. Lucie County, Florida.** Tese (Geology) – University Tennessee, Knoxville, 2015.

DUPERRON, S.; FIALA-MEDIONI, A.; CAPRAIS, J.C.; OLU K.; SIBUET, M. Evidence for chemoautotrophic symbiosis in a Mediterranean cold seep clam (Bivalvia: Lucinidae): comparative sequence analysis of bacterial 16S rRNA, APS reductase and RubisCO genes. **FEMS Microbiol Ecol**, v.59, 64–70, 2007.

DUPERRON, S.; GAUDRON, S. M.; RODRIGUES, C. F.; CUNHA, M. R.; DECKER, C.; OLU, K. An overview of chemosynthetic symbioses in bivalves from the North Atlantic and Mediterranean Sea. **Biogeosciences**, v.10, 3241–3267, 2013.

ESPINOSA, E. P.; TANGUY, A.; LE PANSE, S.; LALLIER, F.; ALLAM, B.; BOUTET, I. Endosymbiotic bacteria in the bivalve *Loripes lacteus*: Localization, characterization and aspects of symbiont regulation. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.448, 327–336, 2013.

FELBECK, H.; CHILDRESS, J. J.; SOMERO, G. N. Biochemical Interactions between molluscs and their algal and bacterial symbionts. In: WILBUR, K. **The Mollusca: Environmental Biochemistry and Physiology.** Academic Press, Vancouver, Canadá, 1983.

FERNANDEZ, N. T.; MAZÓN-SUÁSTEGUI, J. M.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; ASCENCIO-VALLE, F.; ROMERO, J. Changes in the composition and diversity of the

bacterial microbiota associated with oysters (*Crassostrea corteziensis*, *Crassostrea gigas* and *Crassostrea sikamea*) during commercial production. **Microbiol Ecol**, v.88, 69-83, 2014.

HEUER, H.; KRSEK, M.; BAKER, P.; SMALLA, K.; WELLINGTON, E. M. H. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S Rna and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, 3233-3241, 1997.

HICKMAN, C. S. Mollusc–Microbe Mutualisms Extend the Potential for Life in Hypersaline Systems. **Astrobiology**, v.3, n.3, 2003.

KING, G. M.; JUDD, C.; KRUSKE, C. R.; SMITH, C. Analysis of stomach and gut microbiomes of the Eastern Oyster (*Crassostrea virginica*) from Coastal Louisiana, USA. **Plos one**, v.7, n.12, 2012.

KRUEGER, D. M.; GALLANGER, S. M.; CAVANAUGH, C. M. Suspension feeding on phytoplankton by *Solemya velum*, a symbiont-containing clam. **Marine Ecology Progress Series**, v.86, 145-151, 1992.

LA VALLEY, K. J.; JONES, S.; GOMEZ-CHIARRI, M.; DEALTERIS, J.; RICE, M. Bacterial community profiling of the eastern oyster (*Crassostrea virginica*): comparison of culture-dependent and culture-independent outcomes. **Journal of Shellfish Research**, v.28, n.4, 827-835, 2009.

LIMA, M. A.; SOARES, M. O.; PAIVA, C. C.; OSÓRIO, F. M.; PORFÍRIO, A. F.; MATTHEWS-CASCON, H. Osmorregulação em moluscos: o caso do bivalve estuarino tropical *Anomalocardia flexuosa* (Mollusca: Bivalvia). **Conexões: Ciência e Tecnologia**, v. 3, 79-84, 2009.

MAIA, R. C. **Manguezais do Ceará**. Recife, Imprima, 55p. 2016.

MARTIN, M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. **EMBnet.Journal**, v.17, n.1, 10-12, 2011.

MEDEIROS, D. H. M.; CAVALCANTE, A. A.; PINHEIRO, L. S.; ROCHA, R. M. Variação longitudinal da salinidade do estuário hipersalino do rio Apodi/Mossoró (Rio Grande do Norte/Brasil). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.11, n.03, 2018.

MEIRELES, A. J. A. & CAMPOS, A. A. Componentes geomorfológicos, funções e serviços ambientais de complexos estuarinos no nordeste do Brasil. **Revista da ANPEGE**, v.6, 89-107, 2010.

MUYZER, G.; DE WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of Complex Microbial Populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction-Amplified Genes Coding 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 3, 695-700, 1993.

NARCHI, W. Aspectos ecológicos e adaptativos de alguns bivalves do litoral paulista. **Papéis Avulsos de Zool.**, v.27, n.19, 235-262, 1974.

OLIVEIRA, F. A. S.; COLARES, G. B.; HISSA, D. C.; ANGELIM, A. L.; MELO, V. M. M.; LOTUFO, T. M. C. Microbial epibionts of the colonial ascidians *Didemnum galacteum* and *Cystodytes* sp. **Symbiosis**, v. 57, n.3, 2012.

PERSHINA, E.; VALKONEN, J.; KURKI, P.; IVANOVA, E.; CHIRAKI, E.; KORVIGO, I.; PROVOROV, N.; ANDRONOV, E. Comparative analysis of Prokaryotic communities associated with organic and conventional farming systems. **Plos one**, v.10, n.12, 1-16, 2015

RABELO, E. F.; ROCHA, L. L.; COLARES, G. B.; BOMFIM, T. A.; NOGUEIRA, V. L. R.; KATZENBERGER, M.; MATTHEWS-CASCON, H.; MELO, V. M. M. Symbiodinium diversity associated with zoanthids (Cnidaria: Hexacorallia) in Northeastern Brazil. **Symbiosis**, 2015.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. 2018

RESGALLA JÚNIOR, C. & PIOVEZAN, A. C. Fisiologia alimentar do berbigão *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Mollusca: Bivalvia). **Atlântica**, v.31, n.1, 69-78, 2009.

RIOS, E. **Compendium of Brazilian Sea Shells**. Rio Grande, RS. 668 p., 2009.

RODRIGUES, A. M. L.; BORGES-AZEVEDO, C. M.; HENRY-SILVA, G. G. Aspectos da biologia e ecologia do molusco bivalve *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767) (Bivalvia, Veneridae). **R. bras. Bioci.**, v. 8, n. 4, 377-383, 2010.

ROGNES, T.; FLOURI, T.; NICHOLS, B.; QUINCE, C.; MAHE, F. V. SEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. **Peer J**, v.4, 2016.

SANGWAN, P.; CHEN, X.; HUGENHOLTZ, P.; JANSSEN, P. H. *Chthoniobacter flavus* gen. nov., sp. nov., the First Pure-Culture Representative of Subdivision Two, *Spartobacteria* classis nov., of the Phylum *Verrucomicrobia*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.10, p. 5875-5881, 2004

SCHILL, W. B.; IWANOWICZ, D.; ADAMS, C. Endozoicomonas dominates the gill and intestinal content microbiomes of *Mytilus edulis* from Barnegat Bay, New Jersey. **Journal of Shellfish Research**, v. 36, n. 2, 391–401, 2017.

SIPE, A. R.; WILBUR, A. E.; CARY, S. C. Bacterial symbiont transmission in the wood-boring shipworm *Bankia setacea* (Bivalvia: Teredinidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n.4, 2000.

SORENSEN, K. B.; CANFIELD, D. E.; TESKE, A. P.; OREN, A. Community composition of a hypersaline endoevaporitic microbial mat. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.11, p. 7352-7365, 2005.

STEWART, F. J.; CAVANAUGH, C. M. Bacterial endosymbioses in *Solemya* (Mollusca: Bivalvia) - Model systems for studies of symbiont-host adaptation. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.90, 343–360, 2006

WARNER, S. A. J. Genomic DNA isolation and lambda library construction. In: FOSTER, G. D.; TWELL, D. Plants Gene Isolation. Principles and Practice, John Wiley and Sons, Chichester, 51-74 pp, 1996.

WATER, J. A. J. M. V.; Melkonian<sup>1</sup>, R.; Junca, H.; Voolstra, C. R.; Reynaud, S.; Allemand, D.; Ferrier-Pagès, C. Spirochaetes dominate the microbial community associated with the red coral *Corallium rubrum* on a broad geographic scale. **Nature**, v.6, 1-7, 2016.

WEBB, H. K., NGUYEN, S. H., IVANOVA, E. P. The Families *Hahellaceae* and *Litoricolaceae*. In: ROSENBERG, E.; DELONG, E.F., LORY, S.; STACKEBRANDT, E., THOMPSON, F. (eds). **The Prokaryotes**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2014.

WEIGEL, B. L. & ERWIN, P. M. Intraspecific Variation in Microbial Symbiont Communities of the Sun Sponge, *Hymeniacidon heliophila*, from Intertidal and Subtidal Habitats. **Applied and Environmental Microbiology**, v.82, n.2, 650-658, 2016

## Considerações Finais

O presente trabalho nos permitiu considerar que *Anomalocardia flexuosa* conseguiu se estabelecer, formando bancos de elevada densidade, em um ambiente hipersalino. A espécie apresentou ampla tolerância as variações mais expressivas de salinidade, sendo encontrada abundantemente em áreas estuarinas com salinidade de até 59. Além disso, a pluviosidade demonstrou ter um importante papel nas regulações temporais de abundância nestas condições de hipersalinidade.

A salinidade, contudo, não foi o único fator abiótico considerado importante para determinação dos limites de tolerância da espécie e dos fatores que regulam sua distribuição na área estudada. Embora *A. flexuosa* seja considerada um organismo que habita preferencialmente ambientes com reduzidas proporções de sedimento fino, esta espécie foi encontrada em áreas onde o substrato era constituído essencialmente, cerca de 80%, por silte e argila. O que mais uma vez confirma sua elevada resistência às variações de diversos fatores abióticos.

Apesar da espécie conseguir tolerar muito bem variações de fatores abióticos, o mesmo parece não ocorrer com relação aos fatores bióticos. A competição por espaço e recurso, por exemplo, podem ser limitantes para a espécie. Competição intraespecífica já é conhecidamente uma característica que estimula a reestruturação desta população, onde a espécie promove a autoregulação. A competição interespecífica que parece ser problemática. Uma pradaria de angiosperma marinha, recém estabelecida em uma das áreas analisadas no presente estudo, limitou a distribuição e abundância de *A. flexuosa*.

A espécie apresentou crescimento isométrico quando juvenil e alométrico quando adulto, o que informa diferenciações ontogenéticas na morfologia. A população de *A. flexuosa* exibiu um tamanho de maturação dentro dos valores estabelecidos anteriormente na literatura, tendo elevada velocidade de crescimento e ciclo de vida, relativamente, curto. Tais características estão de acordo com aquelas indicadas para organismos que habitam regiões tropicais. A mortalidade total foi expressivamente maior para indivíduos adultos. Além disto, mortalidade natural foi maior que a mortalidade por pesca. Os menores valores de taxa de mortalidade ocorreram durante o período chuvoso. O recrutamento é constante, porém com períodos de maior

intensidade. A mortalidade total e o recrutamento apresentaram correlação forte positiva. A abundância dos recrutas parece ser regulada pela sobrevivência de adultos em decorrência da competição por espaço e recurso. Deste modo, a abundância de *A. flexuosa* também interferiu nos processos estruturais desta população, ocasionando efeitos de denso-dependência.

A hipersalinidade não parece limitar o desenvolvimento da espécie, assim como também não foi primordial para a seleção da microbiota associada a este bivalve, que apresentou bactérias espécie-específicas. Já que as bactérias registradas associadas *A. flexuosa* foram similares nos dois diferentes estuários analisados e diferentes da comunidade presente nas amostras de água. As principais famílias de bactérias no microbioma de *A. flexuosa* foram definidas como sendo importantes táxons em relações de simbioses em ambientes com limitações nutricionais. Contudo, ainda não foi possível definir a natureza e finalidade dessas relações. Pode indicar uma estratégia desenvolvida pela espécie para viver adequadamente em ambientes considerados extremos.

Por ser considerado um importante recurso pesqueiro para a região, não podemos deixar de considerar os efeitos da predação por pesca sobre este estoque. As elevadas densidades registradas, devido, provavelmente, o maior percentual de indivíduos considerados juvenis foram aspectos considerados preocupantes. No entanto, não podemos avaliar apenas estas características para definir estágio de exploração de um estoque pesqueiro. As modelagens de avaliação pesqueira, definidas no capítulo 3 desta tese, informam que o nível atual de exploração aplicado sobre este estoque ainda não alcançou o limite máximo suportado pela espécie. No entanto, as previsões dos dois cenários futuros de pesca, com modificações na taxa de exploração, emitem alertas bastante relevantes. A população parece estar conseguindo reverter a predação por pesca no estoque, porém, caso este cenário atual se modifique, não se pode garantir o mesmo para os efeitos futuros, com aumento na taxa de exploração.

Com isso, consideramos que os fatores abióticos parecem exercer pressões que são contornáveis para a espécie, diferentemente do que ocorre com fatores bióticos. Competição e predação, especialmente pelo efeitos da pesca, podem ser mais limitantes para estruturação desta população, e são dois fatores considerados de extrema importância dentro dos aspectos de sua história de vida. Os efeitos densidade-dependentes foram importantes para a reestruturação da população, informando que os processos podem sofrer influência da abundância e assim da competição intraespecífica. As implicações da propagação deste prado de angiosperma marinha sobre a população

deste bivalve precisam ser melhor definidos. E os estudos de monitoramento e registros de captura e esforço aplicados pela pesca sobre esta população precisam ser desenvolvidos e acompanhados para a garantia de sustentabilidade do estoque e da pesca. O que facilitará na aplicação de medidas de controle que possam garantir a adequada gestão desta atividade.