



CICLO GAMETOGÊNICO DE *CORBICULA FLUMINEA* (MÜLLER, 1774) (BIVALVIA, CORBICULIDAE) NO RIO PARDO, ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.

M. P. Vianna^{1,2}

E. K. Troncon^{1,2}; W. E. P. Avelar¹

¹Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Biologia, Laboratório de Malacologia, Av. Bandeirantes 3900, 14040 - 901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Tel.: 55 16 3602 - 4457

²Programa de Pós - Graduação em Biologia Comparada da FFCLRP - USP.

e - mail: mavianna@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Corbicula fluminea (Müller, 1774) é um molusco bivalves de água doce, nativo de áreas temperadas e tropicais do Sudeste da Ásia e, hoje em dia, encontrado em diferentes regiões da África, Europa (Brancotte & Vincent, 2002; Schmidlin & Baur, 2007; Bote & Fernández, 2008), América do Sul (Cataldo & Boltovskoy, 1999; Cataldo *et al.*, 001; Beasley *et al.*, 003) e América do Norte (McMahon, 1982). Trata-se da espécie de água doce com distribuição mais ampla no continente Americano (Darrigran, 2002).

Na América do Norte, *C. fluminea* teve seu primeiro registro no norte do Canadá em 1924, provavelmente trazida como item da alimentação de imigrantes chineses (Dresley & Cory 1980). Rapidamente a espécie se espalhou pelo país, causando danos consideráveis a usinas hidroelétricas e sistemas de captação de água e, se tornou uma das mais importantes pragas introduzidas em ambiente natural (Nguyen & De Pauw 2002).

Ituarte (1981) registrou a primeira ocorrência de *C. fluminea* na América do Sul na bacia do rio da Prata, na Argentina. É provável que esses animais tenham sido introduzidos via água de lastro de navios vindo do sudeste da Ásia (Darrigran & Pastorino 1995).

A classe Bivalvia exibe uma grande variedade de expressão da sexualidade, desde estritamente dióicos a hermafroditas funcionais (Coe, 1943). A sexualidade pode variar entre espécies pertencentes ao mesmo gênero ou dentro de uma mesma população. O estudo do ciclo anual da gametogênese da espécie é um dos fatores principais para a caracterização de sua biologia e fornece indicações seguras sobre ritmo e ciclo reprodutivo.

Estudos mostram que *C. fluminea* é uma espécie hermafrodita, apresentando folículos gonadais femininos, masculinos ou folículos hermafroditas (Park & Chung, 2004), possui fecundação cruzada ou autofecundação, incuba suas larvas por período curto e as elimina na água no estágio de

pediveliger, o qual é quase um estágio juvenil (Cataldo & Boltovskoy, 1999).

Diante do exposto, a utilização de técnicas histológicas de rotina é a maneira mais simples e mais empregada na determinação dos sexos e caracterização das fases do desenvolvimento da gônada em bivalves.

OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi caracterizar o ciclo gametogênico da espécie exótica *Corbicula fluminea* em ambiente lótico.

MATERIAL E MÉTODOS

A bacia do Pardo é a 4ª Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos e possui uma área de drenagem de 8993 Km², com vazão média de 140 m³/s e vazão mínima de 30 m³/s. O rio Pardo é o principal rio dessa bacia, desde a sua nascente até a foz do rio Mogi - Guaçu, com 240 km de extensão. A captura dos indivíduos de *C. fluminea* para estudo gametogênico foi realizada no município de Ribeirão Preto - SP, às margens de um clube de recreação (coordenadas: 21°06'07.1" S e 47°45'26.8" W).

As coletas de indivíduos foram realizadas no período de agosto/06 a outubro/07. Para tanto foram capturados, mensalmente, 10 indivíduos adultos. Os exemplares foram fixados, no momento da captura, em álcool 70%. Todos os indivíduos coletados foram medidos (comprimento, altura e largura da concha) e a parte mole retirada da concha com ajuda de bisturi. Cada exemplar foi seccionado transversalmente na altura do estômago, onde as gônadas são mais desenvolvidas, e a porção posterior submetida às técnicas de rotina de inclusão em parafina. Foram feitos cortes histológicos de 7 µm de espessura utilizando um micrótomo rotativo e montadas 3 lâminas para cada indivíduo, com

10 cortes em cada lâmina. Os cortes foram corados com Hematoxilina - Eosina.

Para a determinação dos estádios sexuais e sexualidade dos indivíduos coletados, observações microscópicas foram realizadas com o auxílio de microscópio óptico comum, e também, feitas observações das demibrânquias para verificar a presença de embriões. Foram utilizados os critérios de Avelar e Mendonça (1998) com algumas modificações.

RESULTADOS

Resultados

Foram encontradas diferenças significativas entre o número de fêmeas e hermafroditas ($p < 0.05$). Do total analisado, 71.8% eram fêmeas e 28.2%, hermafroditas. Não foram registrados machos em meio à população amostrada. O comprimento da concha dos animais analisados variou de 11.3 a 27.8 mm.

Indivíduos grávidos foram registrados no período de agosto a outubro/2006 e de junho a setembro/2007, ou seja, fim do inverno e meados da primavera de um ano e, inverno e início da primavera do outro ano, respectivamente. No verão não foram encontrados animais grávidos.

Verificou-se um aumento gradativo do número de fêmeas de setembro a novembro/2006, com grande queda em dezembro/2006 e novo aumento a partir de janeiro/2007 atingindo 100% da população em maio/2007. Após esse período registrou-se uma nova queda na porcentagem de fêmeas até setembro do mesmo ano, quando tem início outro pico. Podem-se identificar dois picos de ocorrência de fêmeas, um mais evidente em maio e outro menos evidente no período de outubro - novembro, meio do outono e primavera, respectivamente.

As maiores porcentagens de hermafroditas foram registradas em dezembro/2006 e setembro/2007, ambas com 60% de hermafroditismo. Dos 28.2% de indivíduos hermafroditas, 33% deles apresentaram folículos hermafroditas, sendo registrados em, praticamente, todos os meses analisados. Somente no mês de maio/2007 não foram registrados indivíduos hermafroditas.

Os folículos femininos foram divididos em quatro estádios de desenvolvimento.

Estádio de Pré - maturação

Os folículos caracterizam-se por apresentarem oócitos em fase de crescimento, com grande quantidade de células mãe da oogônia e células em pré - vitelogênese. Os folículos são pequenos, com predomínio de células pedunculadas e o tecido conjuntivo é bem visível e denso. A parede folicular é espessa. Aparecem folículos hermafroditas em intenso desenvolvimento.

Estádio de Maturação

São encontrados oócitos em pré - vitelogênese e em vitelogênese, com citoplasma, núcleo e nucléolo bem definidos. As células se desprendem da parede folicular e adquirem forma arredondada. Os folículos são maiores, porém o espaço intra - folicular ainda não está totalmente preenchido. A parede folicular diminui em espessura e o tecido conjuntivo ainda é visível.

Estádio de Eliminação

Observa-se a eliminação dos oócitos maduros e aparecem os espaços intra - foliculares. A eliminação nunca é total, permanecendo à luz do folículo, oócitos em diferentes fases do desenvolvimento. No final desse estágio, as células remanescentes sofrem lise oocitária. A parede folicular diminui em espessura, com poucas células mãe ou oogônias. Essa fase coincide com a presença de embriões nas demibrânquias internas.

Estádio de Recuperação

Nessa fase os folículos começam a regredir. A parede folicular começa a se espessar e nota-se o aparecimento de células mãe, reiniciando-se, assim, a gametogênese. As demibrânquias se encontram vazias.

Estes resultados indicam uma oscilação entre os estádios de maturação no transcorrer do ano. Nos meses de verão, com temperaturas mais altas, foram encontradas as maiores porcentagens de indivíduos em pré - maturação, início de gametogênese, seguido de picos de ocorrência de indivíduos em fase de maturação. Os picos de eliminação de gametas tiveram seu início com o declínio da temperatura da água e o início da estação fria, nos períodos de agosto a outubro/2006 e de junho a setembro/2007. Após os picos de liberação, verificou-se aumento nas porcentagens de indivíduos em estágio de recuperação folicular, para início de outro ciclo gametogênico.

Os folículos masculinos também foram divididos em quatro estádios de desenvolvimento.

Estádio de Multiplicação

A parede folicular é espessa, com grande número de células mãe e espermatogônias. São identificados também, espermátócitos de primeira ordem.

Estádio Maduro sem Espermatozóides

Nesse estágio encontram-se, entre a maioria das células gametogênicas, espermátócitos de primeira e segunda ordem.

Estádio Maduro com Espermatozóides

Nesse estágio, além de serem identificados muitos espermátócitos de primeira e segunda ordem, encontram-se também algumas espermátides e muitos espermatozóides.

Estádio de Eliminação

Os processos de maturação praticamente terminam nesse estágio e, na luz folicular, encontram-se principalmente, espermatozóides e algumas espermátides. Tem início o esvaziamento folicular.

Diferentemente do ciclo gametogênico feminino, onde os estádios de maturação apresentam uma sequência mais facilmente observada, os folículos gonadais masculinos se encontram em diferentes estádios ou fases ao longo do ano, com sobreposição de estádios. No mesmo período do ano podem ser encontrados indivíduos com folículos em diferentes fases de maturação.

Discussão

C. fluminea é considerada uma espécie hermafrodita funcional, com produção simultânea de gametas femininos e masculinos (Brancotte & Vincent, 2002; Park & Chung, 2004). Esse estudo mostrou que, os folículos femininos, ocorrem em número muito maior do que os folículos masculinos. Padrão semelhante foi encontrado por Kennedy & Huekelem (1985) e Park & Chung (2004).

Devido à relativa estabilidade das condições climáticas, os moluscos de água doce de regiões tropicais, em geral, apresentam uma produção constante de gametas e larvas ao longo do ano (Beasley *et al.*, 2003).

A análise histológica das gônadas de *C. fluminea* mostrou que a espécie apresenta ciclo gametogênico contínuo durante o ano, com picos de liberação de larvas associados à mudanças de temperatura nos meses frios, não tendo registro de liberação de larvas no verão, quando a maior parte da população se encontra nos estádios iniciais de maturação gonadal. A presença de diferentes estádios de maturação no mesmo período e até no mesmo indivíduo, corrobora a hipótese de ciclo reprodutivo contínuo para a espécie. Avelar & Mendonça (1998) descrevem dois períodos para o ciclo reprodutivo de *D. rotundus gratus*, um de fevereiro a julho e outro de agosto a janeiro. O primeiro é caracterizado por folículos masculinos e femininos simultâneos, com oogênese e espermatogênese ativas. No início de junho, o número de hermafroditas funcionais diminui gradualmente aumentando a porcentagem de fêmeas funcionais. Ituarte (1985) registrou um período de liberação de larvas por ano, entre o fim do inverno e início da primavera, em estudo realizado na Argentina. Porém depois do estabelecimento numa determinada região, a espécie passa a exibir o padrão reprodutivo diferente, com dois picos de liberação de larvas em cada estação reprodutiva. Mouthon (2001) encontrou apenas um período reprodutivo no ano, para *C. fluminea*, com início em maio - junho e término em setembro - outubro. Morgan *et al.*, (2003) associaram a presença de um único pico reprodutivo, para populações do rio Connecticut, EUA, aos longos períodos de águas frias da região, às severas enchentes da primavera e também à qualidade e quantidade de alimento disponível.

É provável que a população estudada apresente autofecundação nos folículos hermafroditas. Em ambientes lóticos, a autofecundação é a forma de reprodução mais comum, mas as trocas genéticas podem ocorrer, possivelmente, através de indivíduos hermafroditas fecundando fêmeas (Morton, 1983, Doherty *et al.*, 1987). *C. fluminea* pode se reproduzir por autofecundação ou fecundação cruzada, pela liberação de espermatozoides através do sifão exalante na água. De acordo com Park & Chung (2004), uma combinação de um elevado número de espermatozoides e alguns oócitos no mesmo folículo sugerem que ocorra autofecundação.

C. fluminea apresentou incubação endobranquial (incubação nas demibrânquias internas), também registrado por Bacconi (2000). Martins *et al.*, (2006) registraram pela primeira vez, para *C. fluminea*, incubação tetrabranquial (nas demibrânquias internas e nas externas), em populações no Rio Grande do Sul, no lago Guaíba.

A associação da liberação de larvas com alteração na temperatura da água já foi estudada por vários autores. Avelar & Mendonça (1998) registraram, para o bivalve nativo *D. rotundus gratus* que, o início da liberação de larvas ocorre em março, quando a temperatura da água começa a diminuir. Eng (1977) acredita que exista uma temperatura crítica específica para a liberação das larvas. Rajagopal *et al.*, (2000), mostraram que a duração do período gametogênico e reprodutivo é controlada pela temperatura, bem

como pela disponibilidade de alimento.

CONCLUSÃO

Corbicula fluminea foi considerada hermafrodita funcional, com maturação simultânea de gametas femininos e masculinos. A incubação é realizada somente nas demibrânquias internas. A maior parte da população é representada por fêmeas, com porcentagens menores de hermafroditas e ausência de machos.

O ciclo gametogênico é contínuo, durante o ano, com picos de liberação de larvas associados à queda da temperatura, nos meses frios, e com ausência de liberação de larvas no verão, quando a maior parte da população, se encontra nos estádios iniciais de maturação gonadal.

REFERÊNCIAS

- Avelar, W.E.P. & Mendonça, S.H.S.T. 1998. Aspects of gametogenesis of *Diplodon rotundus gratus* (Wagner, 1827) (Bivalvia: Hyriidae) in Brazil. *American Malacological Bulletin*, 14(2), 57 - 163.
- Bacconi, D.F. 2000. Ciclo gametogênico da espécie exótica *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia: Corbiculoidea), no rio Mogi - Guaçu, Barrinha-SP. 41p. Monografia (Graduação) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Beasley, C.R.; Tagliaro, C.H.; Figueiredo, W.B. 2003./ii. The occurrence of the Asian clam *Corbicula fluminea* in the lower Amazon Basin. *Acta Amazonica*, 33(2), 317 - 324.
- Bote, J.L.P. & J. Fernández, 2008. First record of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the Guadiana River Basin (southwestern Iberian Peninsula). *Aquatic Invasions* 3: 87 - 90.
- Brancotte, V. & Vincent, T. 2002. L'invasion du réseau hydrographique français par les mollusques *Corbicula* spp. Modalité de colonisation et rôle prépondérant des canaux de navigation. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 365/366, 325 - 337.
- Cataldo, D. & Boltovskoy, D. 1999. Population dynamics of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) in the Paraná River Delta. *Hydrobiologia*, 380, 153 - 163.
- Cataldo, D.; Colombo, J.C.; Boltovskoy, D.; Bilos, C.; Landoni, P. 2001. Environmental toxicity assessment in the Paraná River delta (Argentina): simultaneous evaluation of selected pollutants and mortality rates of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) early juveniles. *Environmental Pollution*, 112, 379 - 389.
- Coe, W.R. 1943. Sexual differentiation in Mollusks Pelecypods. *Quart. Rev. Biol.*, 18(1), 154 - 164.
- Darrigran, G. & Pastorino, G. 1995. The recent introduction of a freshwater Asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South America. *The Veliger*, 38(2), 171 - 175.
- Darrigran, G. 2002. Potential impact of filter - feeding invaders on temperate inland freshwater environments. *Biological Invasions*, 4, 145 - 156.

- Doherty, F.G.; Cherry, D.S.; Cairns Jr., J. 1987.** Spawning periodicity of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* in the New River, Virginia. *American Midland Naturalist*, 117(1), 71 - 82.
- Dresler, P.V. & Cory, R.L. 1980.** The Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller) in the tidal Potomac River, Maryland. *Estuaries*, 3(2), 150 - 151.
- Eng, L.L. 1977.** Population dynamics of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller), in the Concrete - lined delta - Mendota canal of Central California. *Proceedings of First International Corbicula Symposium*, 1, 39 - 67.
- Ituarte, C.F. 1985.** Growth dynamics in a natural population of *Corbicula fluminea* (Bivalvia Sphaeriacea) at Punta Atalaya, Rio de La Plata, Argentina. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 20(4), 217 - 225.
- Kennedy, V.S. & Huekelem, L.V. 1985.** Gametogenesis and larval production in a population of the introduced Asiatic clam, *Corbicula* sp. (Bivalvia: Corbiculidae), in Maryland. *Biological Bulletin*, 168, 50 - 60.
- Martins, D.S.; Veitenheimer - Mendes, I.L.; Faccioni - Heuser, M.C. 2006.** Aspectos morfológicos e de incubação em três espécies de *Corbicula* Mühlfeld, no lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia: Corbiculidae). *Biota Neotropica*, 6(2), 1 - 12.
- McMahon, R.F. 1982.** The occurrence and spread of the introduced Asiatic freshwater clam *Corbicula fluminea* (Müller) in North America: 1924 - 1982. *The Nautilus*, 96(4), 134 - 141.
- Morgan, D.E.; Keser, M.; Swenarton, J.T.; Foertch, J.F. 2003.** Population dynamics of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller) in the Lower Connecticut River: establishing a foothold in New England. *Journal of Shellfish Research*, 22(1), 193 - 203.
- Morton, B. 1983.** The sexuality of *Corbicula fluminea* (Müller) in lentic and lotic waters in Hong Kong. *Journal of Molluscan Studies*, 49, 81 - 83.
- Mouthon, J. 2001.** Life cycle and population dynamics of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia, Corbiculidae) in the Saône River at Lyon (France). *Hydrobiologia*, 452, 109 - 119.
- Nguyen, L.T.H. & Paulw, N.D. 2002.** The invasive *Corbicula* species (Bivalvia, Corbiculidae) and the sediment quality in Flanders, Belgium. *Belgian Journal of Zoology*, 132(1), 41 - 48.
- Park, G.M. & Chung, E.Y. 2004.** Histological studies on hermaphroditism, gametogenesis and cyclic changes in the structures of marsupial gills of the introduced Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, and the Korean clam, *Corbicula leana*. *Journal of Shellfish Research*, 23(1), 179 - 184.
- Rajagopal, S., Velde, G.V.D.; Vaate, A.B. 2000.** Reproductive biology of the Asiatic clams *Corbicula fluminalis* and *Corbicula fluminea* in the river Rhine. *Archiv für Hydrobiologie*, 149(3), 403 - 420.
- Schmidlin, S. & Baur, B. 2007.** Distribution and substrate preference of the invasive clam *Corbicula fluminea* in the river Rhine in the region of Basel (Switzerland, Germany, France). *Aquatic Sciences*, 69(1), 153 - 161.