

HADJA RADTKE NUNES

INFLUÊNCIA DOS FATORES SALINIDADE, TEMPERATURA, INTENSIDADE  
LUMINOSA E AERAÇÃO SOBRE A TAXA DE METAMORFOSE DE NÁUPLIOS  
PARA PROTOZOEIA E SOBRE A QUALIDADE DAS LARVAS DE *Litopenaeus*  
*vannamei*

FLORIANÓPOLIS – SC

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

INFLUÊNCIA DOS FATORES SALINIDADE, TEMPERATURA,  
INTENSIDADE LUMINOSA E AERAÇÃO SOBRE A TAXA DE  
METAMORFOSE DE NÁUPLIOS PARA PROTOZOEIA E SOBRE  
QUALIDADE DAS LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como  
parte dos requisitos necessários para obtenção do título de  
Mestre em Aqüicultura.

Professor Orientador: Dr. Edeimar Roberto Andreatta.

HADJA RADTKE NUNES

Florianópolis – 2007

Nunes, Hadja Radtke,

Influência dos fatores salinidade, temperatura, intensidade luminosa e aeração sobre a taxa de metamorfose de náuplios para protozoa e sobre a qualidade das larvas de *Litopenaeus vannamei* / Hadja Radtke Nunes – 2007.

66 f : grafs., tabs.

Orientador: Edegar Roberto Andreatta.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

1.Taxa de metamorfose; 2.Salinidade; 3.Temperatura; 4.Intensidade luminosa; 5.Aeração; 6.*Litopenaeus vannamei*.

**Influência dos fatores salinidade, temperatura, intensidade luminosa e aeração sobre a taxa de metamorfose de náuplios para protozoa e sobre a qualidade das larvas de *Litopenaeus vannamei*.**

**Por**

**HADJA MARIA RADTKE NUNES**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

---

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Dr. Edemar Roberto Andreatta - *Orientador*

---

Dr. Elpidio Beltrame

---

Dr. Rodolfo Luis Petersen

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Edeamar Andreatta pelo apoio, orientação, compreensão e paciência;

ao professor Elpídio Beltrame por toda a força e apoio, sem os quais estes experimentos não teriam sido concluídos;

ao pessoal da maturação do LCM, Daniela, Ilson, Dimas, Davi e Ciriaco, que providenciaram os náuplios essenciais à realização dos experimentos e forneceram sugestões extremamente produtivas;

ao Frank Belettini pelas sugestões, auxílio e idéias;

ao Zé Luiz Mouriño pelas produtivas sugestões;

ao Rodrigo Knoll por toda a ajuda com o experimento (e por tirar o sapo da salinha!!!);

ao Diego pelas calibrações e medições;

a todos os funcionários e bolsistas do LCM que, de alguma forma, tenham auxiliado na execução dos experimentos;

a minha mãe, Maria Fernanda, pela ajuda na confecção, instalação e execução dos experimentos e, pelas idéias e auxílio nas horas de desespero, cuja ajuda foi imprescindível para a realização deste trabalho;

ao meu pai, Evaristo, pela idas e vindas de madrugada até laboratório;

ao professor Alex Pires de Oliveira Nuñez pela ajuda vital com as análises estatísticas;

ao Israel e pessoal do LAPMAR pelo empréstimo do luxímetro;

ao Carlito por toda a ajuda na formatação do trabalho;

a colega Crislei Bett pelas boas idéias, sugestões e empréstimos;

ao colega Rafael Arantes pela ajuda na análise dos dados e incentivo para terminar de escrever;

e a todos que, de alguma forma, tenham contribuído para a realização deste trabalho!!

## SUMÁRIO

LISTA DE GRÁFICOS.....	06
LISTA DE TABELAS .....	07
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	08
RESUMO.....	09
ABSTRACT .....	10
INTRODUÇÃO .....	11
OBJETIVOS .....	19
<u>ARTIGO CIENTÍFICO 1</u> : Influência dos fatores salinidade e temperatura sobre a taxa de metamorfose para protozoa e sobre a qualidade das larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> .....	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT .....	22
INTRODUÇÃO .....	23
MATERIAL E MÉTODOS.....	24
Experimento de Salinidade.....	25
Experimento de Temperatura .....	26
Análise estatística.....	27
RESULTADOS.....	27
Experimento de Salinidade .....	27
Experimento de Temperatura .....	29
DISCUSSÃO .....	31
Experimento de Salinidade.....	31
Experimento de Temperatura .....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36
<u>ARTIGO CIENTÍFICO 2</u> : Influência dos fatores intensidade luminosa e aeração sobre a taxa de metamorfose para protozoa e sobre a qualidade das larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> .....	38
RESUMO.....	39
ABSTRACT .....	40
INTRODUÇÃO .....	41
MATERIAL E MÉTODOS.....	42
Experimento de Intensidade Luminosa .....	43
Experimento de Intensidade de Aeração.....	44
Análise estatística .....	45
RESULTADOS.....	45
Experimento de Intensidade Luminosa .....	45
Experimento de Intensidade de Aeração.....	48
DISCUSSÃO .....	50
Experimento de Intensidade Luminosa .....	50
Experimento de Intensidade de Aeração.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55
CONCLUSÕES GERAIS.....	57
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO .....	59
ANEXO I – Tabela de avaliação da qualidade dos náuplios .....	63
ANEXO II – Tabela de avaliação da qualidade das protozoas – Experimentos de Intensidade luminosa, Aeração e Salinidade.....	64
ANEXO III – Tabela de avaliação da qualidade das protozoas – Experimento de Temperatura .....	65
ANEXO IV – Dados do teste de saturação do OD – Intensidade de aeração.....	66

## LISTA DE GRÁFICOS

### ARTIGO CIENTÍFICO 1:

Gráfico 1A – Modelos de regressão da taxa de metamorfose – Salinidade.....	28
Gráfico 1B – Modelos de regressão da qualidade das larvas – Salinidade .....	29
Gráfico 2A – Modelos de regressão da taxa de metamorfose – Temperatura.....	30
Gráfico 2B – Modelos de regressão da qualidade das larvas – Temperatura.....	31

### ARTIGO CIENTÍFICO 2:

Gráfico 1A – Modelos de regressão da taxa de metamorfose – Intensidade luminosa .....	46
Gráfico 1B – Modelos de regressão da qualidade das larvas – Intensidade luminosa .....	47
Gráfico 2A – Modelos de regressão da taxa de metamorfose – Intensidade de aeração.....	48
Gráfico 2B – Modelos de regressão da qualidade das larvas – Intensidade de aeração.....	49

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO CIENTÍFICO 1:

Tabela 1A – Experimento de Salinidade – Taxa de metamorfose.....	27
Tabela 1B – Experimento de Salinidade – Pontuação da qualidade das larvas .....	28
Tabela 2A – Experimento de Temperatura – Taxa de metamorfose.....	29
Tabela 2B – Experimento de Temperatura – Pontuação da qualidade das larvas .....	31

### ARTIGO CIENTÍFICO 2:

Tabela 1A – Experimento de Intensidade Luminosa – Taxa de metamorfose .....	46
Tabela 1B – Experimento de Intensidade Luminosa – Pontuação da qualidade das larvas.....	47
Tabela 2A – Experimento de Intensidade de Aeração – Taxa de metamorfose .....	48
Tabela 2B – Experimento de Intensidade de Aeração – Pontuação da qualidade das larvas .....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

cm – centímetro

L – litro

L/E – luz/escuro

LCM – Laboratório de Camarões Marinhos

mL – mililitro

NI – náuplio no primeiro estágio de desenvolvimento

NIII– náuplio no terceiro estágio de desenvolvimento

NIV – náuplio no quarto estágio de desenvolvimento

NV– náuplio no quinto estágio de desenvolvimento

n – número de repetições

OD – oxigênio dissolvido

p – nível de probabilidade

PL1 – larva no primeiro dia do estágio de pós-larva

PL3 – larva com 3 dias no estágio de pós-larva

PL20 – larva com 20 dias no estágio de pós-larva

PL60 – larva com 60 dias no estágio de pós-larva

$r^2$  – coeficiente de determinação

TSV – Taura Syndrome Virus (Vírus da Síndrome de Taura)

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

UE – unidade experimental

UEs – unidades experimentais

WSSV – White Spot Syndrome Virus (Vírus da Síndrome da Mancha Branca)

W – watt

$\alpha$  – coeficiente de interceptação

$\beta$  – coeficiente de regressão

$\mu\text{m}$  – micrômetro

$^{\circ}\text{C}$  – graus Celsius

$\text{‰}$  – partes por mil

## RESUMO

Foi avaliada a influência da temperatura, salinidade, intensidade luminosa e aeração na taxa de metamorfose para protozoa I e qualidade das larvas de *Litopenaeus vannamei*. Foram testadas as faixas de 25 a 35°C, 29 a 35‰, 0 a 15000 lux e condição de borbulhas de estática a forte, respectivamente, buscando estimar as faixas ótimas desses fatores para a metamorfose. Para cada experimento foram executadas cinco repetições no tempo, utilizando náuplios oriundos de múltiplas desovas e incubados sob as mesmas condições ambientais, praticadas no setor de maturação do LCM. Os dados de taxa de metamorfose (%) e de qualidade das larvas (pontuação) foram submetidos à análise de regressão linear. A taxa de metamorfose não foi influenciada por nenhum dos fatores, dentro das faixas de valores testados. A qualidade das larvas não foi influenciada pelos fatores salinidade e aeração, mas melhorou linearmente com o aumento da intensidade de luz e reduziu com o aumento da temperatura, dentro dos intervalos aplicados. A faixa de salinidades testada foi considerada adequada à metamorfose dos náuplios, mas o intervalo de temperaturas exibiu resultados negativos nos níveis mais baixos e altos testados. Os melhores resultados de qualidade das larvas foram obtidos nos níveis de maior luminosidade, porém, o fator intensidade de aeração exige maiores estudos para confirmar seus efeitos na metamorfose.

**Palavras-chave:** 1.taxa de metamorfose, 2.salinidade, 3.temperatura, 4.intensidade luminosa, 5.aeração, 6.*Litopenaeus vannamei*.

## ABSTRACT

### **Influence of salinity, temperature, light intensity and aeration on metamorphosis rate to protozoa and larval quality of *Litopenaeus vannamei*.**

It was investigated the influence of temperature, salinity, light intensity and aeration on the rate of metamorphosis to protozoa I and larval quality of *Litopenaeus vannamei*. In four separate experiments the ranges of 25 to 35°C, 29 to 35‰, 0 to 15000 lux and a bubble condition from static to strong, respectively, were tested to estimate the optimal ranges of these factors for metamorphosis. For each experiment, five repetitions along time were conducted using nauplii from multiple spawns and incubated under the same environmental conditions, which are applied at maturation of LCM. The obtained values of metamorphosis rate (%) and larval quality (score) were submitted to linear regression analysis. The rate of metamorphosis did not display relation with any of the tested factors, within the range of values applied. Larval quality did not show relation with salinity and aeration intensity, but displayed a positive relation of linear regression with light intensity and a negative relation with temperature, within the range of values tested. The range of salinities tested was considered suitable for nauplii metamorphosis, but the interval of temperatures showed negative results at the lowest and highest values tested. The best results of larval quality were obtained at strongest light intensity, but aeration intensity requires more research to confirm its effects on metamorphosis.

**Key-words:** 1.metamorphosis rate, 2.salinity, 3.temperature, 4.light intensity, 5.aeration, 6.*Litopenaeus vannamei*.

## INTRODUÇÃO

Por muitos anos, os requerimentos por pós-larvas das fazendas de camarão foram supridos através da captura no ambiente natural. No entanto, os estoques de pós-larvas selvagens são limitados e insuficientes para atender à demanda de uma indústria em rápido crescimento que necessita de um suprimento contínuo de pós-larvas durante o ano (Kumlu, 1999).

Nos anos 90, as doenças causadas por vírus em camarões forçaram a indústria a se tornar mais dependente das pós-larvas produzidas em cativeiro, além de adotar medidas de biossegurança e buscar mais estreitamente o aperfeiçoamento da domesticação das espécies. Com a evolução da carcinicultura, os laboratórios vêm adotando tecnologias para controlar o processo reprodutivo e produzir geração após geração de forma totalmente independente das populações selvagens. Esta tecnologia oferece independência das flutuações imprevisíveis verificadas nas populações selvagens, acessibilidade a espécies exóticas superiores, melhoria no desempenho através de seleção artificial e, algum controle sobre as doenças encontradas nos estoques naturais, através do desenvolvimento de cepas resistentes (Treece, 2000).

Os camarões do gênero *Penaeus* têm sido os mais estudados quanto às características de seu ciclo de vida. A reprodução em cativeiro facilitou o conhecimento de cada um dos estágios pelos quais atravessam as diferentes espécies no seu desenvolvimento (Alfonso e Coelho, 1997). Assim, a reprodução em laboratório permite aos pesquisadores descrever as características morfológicas dos estágios larvais de uma espécie, determinar os efeitos dos fatores ambientais e estabelecer as condições favoráveis para produzir taxas de sobrevivência máximas, determinar a duração e os limites para o desenvolvimento larval, além de possibilitar a realização de estudos a respeito das respostas fisiológicas e comportamentais das larvas às variáveis ambientais (Sastri, 1983). De acordo com Racotta et al. (2003), a produção de larvas proveniente da maturação de peneídeos em cativeiro representa uma das estratégias mais importantes para a atividade de cultivo de camarão.

Junto com a alimentação, os fatores abióticos presentes no cultivo de larvas de camarões são de grande importância na sobrevivência, crescimento e desenvolvimento das larvas (Crego e Cruz, 1988). A qualidade de ovos e náuplios depende principalmente da condição dos reprodutores, mas também das condições ambientais prevalentes nos tanques de desova e eclosão. Em larvas e pós-larvas, a qualidade é baseada em critérios que incluem o desenvolvimento dos estágios de protozoa a pós-larva e dependem principalmente das condições de cultivo das larvas, embora os efeitos "maternais" possam continuar exercendo alguma influência (Racotta et al., 2003).

Desse modo, a taxa de desenvolvimento durante o estágio de náuplio é principalmente influenciada por fatores abióticos, já que a larva depende das fontes de energia internas para sobreviver antes de sofrer a metamorfose para a fase com alimentação exógena (protozoa I). Mas, ao iniciar a alimentação exógena, a taxa de desenvolvimento da larva passa a ser influenciada pela abundância de alimento adequado em adição a salinidade e temperatura (Chen e Chen, 2002; Zacharia e Kakati, 2004).

De acordo com Benzie (1997), a influência de fatores ambientais como temperatura, fotoperíodo, intensidade e qualidade de luz e, de aspectos de qualidade de água, como salinidade,

pH, concentração de oxigênio dissolvido, níveis de nitrato e concentrações de metais pesados, já foi demonstrada por alguns autores na maturação de reprodutores e qualidade de ovos e larvas de peneídeos. Ainda com peneídeos, estudos realizados avaliaram o efeito de diferentes concentrações de amônia (Chen e Lin, 1992; Lin et al., 1993; Noor-Hamid et al., 1994), de amônia e nitrito (Chen et al., 1990), da toxicidade do cádmio (Bambang et al., 1995) e efeitos do sódio-EDTA (Licop, 1988), em diferentes estágios larvais.

Os ovos da maioria dos camarões tropicais possuem 220 µm de diâmetro e eclodem dentro de 14 horas sob temperatura de 28°C (Whetstone et al., 2002). Os ovos são livres e apresentam uma densidade levemente superior à densidade da água do mar, com tendência a permanecerem no fundo (Andreatta e Beltrame, 2004). O náuplio é a primeira larva que emerge do ovo. Para algumas espécies são descritos seis sub-estágios de náuplio (*Penaeus japonicus*, *P. monodon*, *P. indicus*, *P. paulensis*, *P. semisulcatus*), enquanto para outras são cinco (*Litopenaeus vannamei*, *P. stylirostris*, *P. duorarum*, *P. schimitti*, *P. setiferus*). Todos os sub-estágios naupliares tem movimento na água através de contrações, mediante as quais se impulsionam adiante, para cima ou para baixo. Estes movimentos são intermitentes, de modo que as larvas podem ficar totalmente suspensas na água durante alguns segundos. Os náuplios não se alimentam do meio, sendo que a sua nutrição depende exclusivamente das reservas de vitelo presentes no ovo (Alfonso e Coelho, 1997). Durante a fase naupliar as larvas apresentam um fototaxismo positivo muito importante, que pode estar relacionado às camadas superficiais do mar, onde há uma maior abundância de fitoplâncton, o qual constitui o alimento fundamental para as larvas no estágio de protozoa. O estágio de náuplio tem duração de 36 horas sob uma temperatura de 26°C (Andreatta e Beltrame, 2004). Na seqüência, as larvas se desenvolvem por três estágios de protozoa e mais três de misis, antes de mudarem para uma forma mais parecida com um camarão adulto, a pós-larva. O desenvolvimento através dos estágios larvais, a partir da eclosão, leva cerca de 9-11 dias sob temperatura de 28°C (Whetstone et al., 2002). Juntamente com as metamorfoses dos estágios larvais, ocorrem mudanças na morfologia, natação e comportamento alimentar. As protozoas são basicamente herbívoras, enquanto os estágios de misis e pós-larva se tornam cada vez mais carnívoros (Rothlisberg, 1998).

No ambiente natural os estágios larvais da maioria das espécies de camarões peneídeos ocorrem em água na salinidade do mar e temperaturas estáveis. Por isso, é geralmente aceito que peneídeos não são equipados para resistir a consideráveis variações ambientais durante o seu desenvolvimento larval (Kumlu et al., 2000).

Os estágios iniciais de desenvolvimento são a fase mais sensível no complexo ciclo de vida dos invertebrados marinhos e, para maximizar suas sobrevivências, as larvas devem ser cultivadas próximo das condições ótimas (Zacharia e Kakati, 2004). Por isso, estudos a respeito das condições ótimas de cultivo durante os estágios larvais são de extrema importância para a determinação dos protocolos de cultivo das espécies de peneídeos comercialmente importantes.

Embora uma espécie possa ser encontrada tanto em salinidades extremamente baixas quanto extremamente altas, não significa que esta espécie possa atingir crescimento e sobrevivência máximos em tais ambientes (Laramore et al., 2001). A faixa ótima e os limites característicos para o desenvolvimento larval de uma espécie podem ser geneticamente determinados. No entanto, a faixa

ambiental ótima para máxima sobrevivência e os limites para desenvolvimento podem também variar para os diferentes estágios larvais, dependendo dos parâmetros ambientais que estiverem interagindo (Sastry, 1983).

Com estágios larvais de peneídeos, estudos realizados buscaram a determinação dos níveis ótimos de temperatura para o cultivo de *Penaeus marginatus* (Gopalakrishnan, 1976) e *Farfantepenaeus californiensis* (Villarreal e Hernandez-Llamas, 2005), de salinidade para *Metapenaeus monoceros* (Kumlu et al., 2001a), da combinação dos dois fatores para *M. bennettiae* (Preston, 1985a) e *Penaeus semisulcatus* (Kumlu et al., 2000; Jackson e Burford, 2003) e de temperatura, salinidade e pH, isoladamente, para o cultivo de *P. notialis* (Crego e Cruz, 1988) e *P. schmitti* (Vega e Cruz, 1988).

Entre os estudos com estágios larvais, alguns avaliaram separadamente a fase de metamorfose de náuplio para protozoa I, buscando o efeito da temperatura isoladamente na metamorfose de *Litopenaeus vannamei* (Mazotto et al., 2000) e os efeitos combinados da temperatura e salinidade em *Penaeus aztecus* (Cook e Murphy, 1969), *P. plebejus*, *Metapenaeus macleayi*, *M. bennettiae* (Preston, 1985b), *P. stylirostris* (Villamar et al., 1988) e *P. merguensis* (Zacharia e Kakati, 2004).

Temperatura e salinidade são dois dos fatores abióticos mais importantes que afetam o crescimento e sobrevivência dos organismos aquáticos (Kumlu et al., 2000). Organismos expostos a diferentes variáveis ambientais encontram temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido como os principais fatores abióticos, os quais podem ter efeitos sinérgicos nos seus processos fisiológicos, influenciando, modificando e controlando as taxas fisiológicas do organismo (Hernández et al., 2006). Uma nutrição inadequada ou, a exposição a salinidades ou temperaturas extremas durante a larvicultura, podem facilmente comprometer a rusticidade das pós-larvas e sua habilidade de resistir à transição do laboratório para o viveiro (Olin e Fast, 1992). De acordo com Smith et al. (1992), idealmente, a melhor produção de larvas de peneídeos é obtida em água com qualidade oceânica, apresentando parâmetros físico-químicos na faixa de salinidade entre 28 e 34‰, temperatura entre 27 e 30°C e pH entre 7,8 e 8,2.

A salinidade parece ter um efeito menos pronunciado na sobrevivência de camarões marinhos quando comparada à temperatura. No entanto, salinidades baixas e altas se tornam muito mais letais quando acompanhadas de variações de temperatura (Lester e Pante, 1992). De acordo com Chen e Chen (2002), especialmente nos estágios naupliares, a temperatura afeta a taxa de metamorfose de larvas do camarão *Acetes intermedius* mais significativamente do que a salinidade, mas isto não exclui totalmente a influência da salinidade na metamorfose dos náuplios. Entre os peneídeos, a temperatura também exerceu uma maior influência do que a salinidade no desenvolvimento larval de *Penaeus semisulcatus* (Kumlu et al., 2000) e teve efeito predominante na resposta de juvenis de *Litopenaeus vannamei* expostos a diferentes combinações de temperatura e salinidade (Hernandez et al., 2006). Por outro lado, Zacharia e Kakati (2004) verificaram um efeito mais pronunciado da salinidade do que da temperatura durante o desenvolvimento larval de *Penaeus merguensis*.

Valores de salinidade altos e baixos são mais prejudiciais aos estágios do ciclo de vida adaptados a condições oceânicas, que são as larvas e os adultos. Seu efeito é dramático na porcentagem de eclosão de ovos e na sobrevivência das larvas resultantes (Lester e Pante, 1992). Cada espécie tem uma faixa de salinidade adequada para o desenvolvimento embrionário e eclosão, a qual não necessariamente sustenta uma relação com a tolerância dos adultos ou larvas (Roberts, 1971). Chu e So (1987) estudaram a tolerância à salinidade de *Metapenaeus ensis*, da fase de ovos a misis III, verificando que tanto a taxa de sobrevivência quanto a metamorfose foram dependentes do estágio de desenvolvimento. Ovos não eclodiram abaixo de 20‰, enquanto alguns estágios de protozoa e misis sobreviveram em até 10‰. Crego e Cruz (1988) verificaram que a salinidade ótima para o cultivo de larvas *Penaeus notialis* entre os estágios de náuplio V e PL3, varia ao longo do ciclo de desenvolvimento, sendo que as larvas vão requerendo salinidades menores. Os primeiros subestádios apresentam um ótimo próximo de 47‰ e os últimos em torno de 32‰. Para o cultivo de larvas de *Penaeus schmitti* entre os estágios de náuplio III e misis III, Vega e Cruz (1988) estimaram como ótima a faixa de salinidade de 32,6 a 37,7‰, numa temperatura de 28°C. Com larvas de *Metapenaeus monoceros*, as maiores sobrevivências entre os estágios de protozoa I e misis I foram obtidas em salinidades entre 35 e 40‰ e, entre os estágios de protozoa I e PL1, os melhores resultados foram obtidos em 40‰ (Kumlu et al., 2001a). Também para o cultivo entre os estágios de protozoa I e PL1, a salinidade ótima foi estimada como 25‰ para *Penaeus indicus* (Kumlu e Jones, 1993) e entre 30 e 35‰ para *Penaeus semisulcatus* (Kumlu et al., 1999).

Entre os estudos com pós-larvas de peneídeos, Kumlu et al. (2001b) identificaram a faixa de salinidades de 30 a 40‰ como ótima sob 28°C para o cultivo em berçários de *Metapenaeus monoceros*. As melhores taxas de crescimento e sobrevivência de pós-larvas de *Penaeus semisulcatus* entre os estágios de PL20 e PL60 foram obtidas nas salinidades mais altas testadas (35 e 40‰) do que nas mais baixas (10 a 20‰), sendo 40‰ a salinidade determinada como ótima sob temperatura de 28°C (Soyel e Kumlu, 2003). Inversamente, com pós-larvas de *Penaeus indicus*, Kumlu e Jones (1995) obtiveram maior sobrevivência e melhor crescimento em salinidades baixas (20 a 30‰) do que em altas (40 a 50‰), também entre os estágios de PL20 e PL60, sendo que a salinidade ótima foi estimada entre 20 e 30‰ sob temperaturas de 29 a 31°C. Mair (1980) realizou um estudo com quatro espécies de peneídeos: *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus stylirostris*, *Farfantepenaeus californiensis* e *Penaeus brevisrostris*, verificando que todas as espécies preferem salinidades menores do que a salinidade normal da água do mar. As pós-larvas em estágios de desenvolvimento mais avançados ou maiores preferiram salinidades mais baixas do que as pós-larvas mais novas e, das quatro espécies, *Litopenaeus vannamei* é a que tem a preferência pelas mais baixas salinidades. A respeito dos efeitos combinados da temperatura e salinidade em pós-larvas, pode-se destacar os estudos com *Penaeus japonicus* e *Penaeus chinensis* (Charmantier-Daures et al., 1988) e *Litopenaeus vannamei* (Ponce-Palafox et al., 1997).

Com juvenis, existem registros de estudos avaliando os efeitos da salinidade em algumas espécies de peneídeos, como *Penaeus chinensis* (Chen et al., 1992), *Litopenaeus vannamei* (Bray et al., 1994) e *Farfantepenaeus californiensis* (Villarreal et al., 2003). Avaliando os efeitos combinados

da temperatura e salinidade, podem-se citar estudos com *Penaeus merguensis* (Staples e Heales, 1991), *Penaeus esculentus* (O'Brien, 1994) e *Penaeus chinensis* (Chen et al., 1996).

A temperatura é tanto um fator limitante, estabelecendo os limites letais superior e inferior, quanto um determinante da taxa de crescimento, através do seu impacto na atividade molecular (Lester e Pante, 1992). Exerce influência no crescimento dos peneídeos e no período de tempo que permanecem em cada estágio larval (Zacharia e Kakati, 2004). Nas temperaturas letais baixas os processos metabólicos ficam lentos, abaixo do nível requerido para a manutenção celular, assim o camarão morre. Sob temperaturas letais altas as proteínas desnaturam mais rapidamente e as membranas se tornam mais fluidas, o que resulta em disfunção metabólica e morte (Lester e Pante, 1992).

Vijayan e Diwan (1995) verificaram que na faixa de temperaturas de 26 a 35°C, a velocidade do ciclo de muda de juvenis de *Penaeus indicus* aumentou linearmente com o aumento da temperatura. No entanto, os autores destacaram que um ciclo de muda mais rápido associado com um correspondente crescimento em termos de comprimento e peso, foi observado somente até a temperatura de 31°C. Acima deste valor o ciclo de muda foi mais rápido, mas não produziu um correspondente ganho no comprimento ou peso. Os menores incrementos foram registrados sob temperatura de 35°C. De forma semelhante, num estudo realizado por Hewitt e Duncan (2001), as maiores sobrevivências de adultos de *Metapenaeus japonicus* foram registradas na faixa de temperaturas entre 28 e 32°C, dentro da qual não houve diferenças significativas. Sob 34°C a sobrevivência foi reduzida, sendo a mais baixa verificada na temperatura de 36°C, com 100% de mortalidade após 12 dias de cultivo. As taxas de muda foram mais baixas em 36°C e maiores entre 28 e 32°C. O menor consumo de alimento também foi registrado sob 36°C, tendo atingido o maior valor sob 32°C e diminuído próximo de 28°C.

Um dos fatores que contribuíram para o declínio da produção de pós-larvas de *Penaeus monodon* em Taiwan, entre os anos de 1987 e 1988, teria sido o excessivo estresse durante a larvicultura, especialmente em função da aplicação de temperaturas da água entre 35 e 36°C. Esta prática, que tinha por objetivo reduzir o tempo de cultivo, aparentemente reduziu a imunidade das larvas a doenças, o que poderia ter acarretado nas mortalidades em massa verificadas na produção de larvas (Liao, 1992).

De acordo com Suárez e Bador (1998), o estado dos cromatóforos está entre os dez principais critérios morfológicos para qualificação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*, sendo que uma cor avermelhada das larvas causada pela expansão dos cromatóforos é um indicador de estresse. Este deve ser o primeiro critério a ser avaliado quando as pós-larvas forem colocadas na lâmina para observação, pois seu estado pode variar muito rapidamente em função do estresse causado pela lâmina.

A expansão dos cromatóforos do camarão de água doce *Macrobrachium acanthurus* foi verificada após a imersão destes organismos em água sob qualquer temperatura entre 6 e 15°C ou entre 35 e 40°C. Ou seja, tanto em temperaturas extremamente baixas quanto extremamente altas, considerando que esta espécie é habituada a temperaturas entre 25 e 30°C (Smith, 1930). O autor

destacou que a recuperação da coloração normal ocorreu como regra quando os camarões submetidos às temperaturas extremas foram retornados para água em torno de 28°C.

Cromatóforos são células especializadas capazes de alterar a quantidade e a disposição de seus pigmentos e assim contribuir para mudanças de cor adaptativas. Entre os crustáceos, os cromatóforos são verificados em espécies de anfípodos, copépodos, decápodos, eufasiáseos, isópodos e estomatópodos. Localizados na epiderme e, em menor quantidade, em associação com alguns tecidos mais profundos (gônadas, intestino e cordão nervoso), são células de forma estrelada, anucleadas, que contêm pigmentos. As mudanças de coloração fisiológicas são produzidas pela dispersão ou concentração (agregação) dos grânulos de pigmento dentro dos cromatóforos, que causam mudanças de cor rápidas e reversíveis. São exibidas não apenas como uma adaptação à coloração do substrato, mas também em resposta a uma ampla gama de estímulos, incluindo variações na iluminação e temperatura ambientais (Rao, 1985).

A luz é um dos principais fatores que influenciam o comportamento natatório e alimentar em larvas de decápodes (Sulkin, 1984). Mudanças na sobrevivência e desenvolvimento em diferentes regimes de iluminação são freqüentemente atribuídas a efeitos na alimentação. No entanto, outros aspectos do comportamento e fisiologia podem ser influenciados pela iluminação, incluindo: atividade natatória e assim, metabolismo, canibalismo, processos fisiológicos do ciclo cicardiano, iniciação da ecdise e metamorfose (Gardner e Maguire, 1998).

Com larvas de *Litopenaeus vannamei*, Olin e Fast (1988) avaliaram o efeito do espectro e intensidade de luz no crescimento e sobrevivência das larvas. Os tratamentos foram compostos por luzes de cor branca, azul, vermelha e verde, testadas separadamente, além de escuridão total. Os autores obtiveram a maior taxa de sobrevivência sob luz verde (69%) e a menor porcentagem foi verificada sob condição de escuridão (32%).

A maior parte dos estudos realizados com camarões peneídeos se concentra no efeito da intensidade e qualidade de luz no crescimento e maturação de reprodutores e no crescimento de juvenis, havendo uma carência por estudos a respeito de seus efeitos sobre os estágios larvais iniciais.

No entanto, o efeito da intensidade luminosa tem sido estudado em larvas de outras espécies de crustáceos. Gardner e Maguire (1998) avaliaram os efeitos do fotoperíodo e intensidade luminosa no desenvolvimento dos estágios iniciais do caranguejo *Pseudocarcinus gigas*. Araújo e Valenti (2005) investigaram os efeitos de quatro intensidades luminosas na sobrevivência, produtividade, crescimento e desenvolvimento de larvas do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum*, entre os estágios de protozoa I e pós-larva, a fim de determinar a intensidade de luz adequada para o cultivo larval da espécie. Os autores verificaram que a maior intensidade testada, de 390 lux, melhorou o desempenho das larvas em termos de produtividade, ganho de peso e desenvolvimento larval. Porém, destacaram que estes melhores resultados sob condição de maior luminosidade podem estar relacionados à hipótese de uma maior acuidade visual das larvas a partir do estágio VII, que traria vantagens na captura da presa para a alimentação. Por outro lado, o maior crescimento de larvas da lagosta *Jasus edwardsii* foi obtido em baixa intensidade de luz do que nas intensidades mais altas testadas (Moss et al., 1999). Os autores concluíram que em função da ausência de efeito

da intensidade luminosa na ingestão de alimento, as maiores taxas de crescimento observadas sob baixa luminosidade poderiam ser explicadas pelo maior gasto de energia em função do aumento da intensidade luminosa. Com a mesma espécie de lagosta, Bermudes et al. (2008) verificaram que larvas recém-eclodidas tiveram sua atividade locomotora estimulada pela luz, sendo que as larvas responderam nadando em direção à fonte luminosa. A velocidade de natação aumentou logaritmicamente com o aumento da intensidade de luz, tendendo ao máximo na maior intensidade de luz testada. Segundo os autores, a presença de fototaxia nas larvas de *Jasus edwardsii*, que induziu a variação da atividade locomotora de acordo com a iluminação ambiente, pode ter implicações energéticas, como redução do crescimento e sobrevivência.

Com juvenis de camarões peneídeos, estudos já avaliaram o efeito de luzes de diferentes cores no crescimento de *Fenneropenaeus chinensis* (Wang et al., 2003) e os efeitos da intensidade luminosa e fotoperíodo na ecdise e crescimento de *Penaeus merguensis* (Hoang et al., 2003). Com *Litopenaeus vannamei*, You et al. (2006) avaliaram o efeito de diferentes fontes de iluminação no crescimento e coloração corporal de juvenis, além da influência da luz na acumulação de astaxantina nos camarões. Juvenis de *Penaeus semisulcatus* submetidos a diferentes níveis de intensidade luminosa não demonstraram efeitos significativos no crescimento, mas a sobrevivência diminuiu com a redução da intensidade luminosa (Al-Ablani e Farmer, 1986). E, avaliando o efeito de diferentes intensidades luminosas no crescimento de *Fenneropenaeus chinensis*, Wang et al. (2004) verificaram que os juvenis submetidos à intensidade luminosa de 5.500 lux apresentaram menores taxa de crescimento específico e eficiência de conversão alimentar do que os camarões submetidos às intensidades de 0, 50, 300 e 1.300 lux. Segundo os autores, os camarões submetidos à intensidade luminosa mais alta gastaram muito mais energia em respiração, excreção e ecdise, depositando menos energia para o crescimento do que aqueles submetidos a qualquer das outras intensidades testadas.

Em estudos realizados com reprodutores de camarões peneídeos foram avaliados os efeitos da intensidade e qualidade de luz na maturação ovariana de *Penaeus merguensis* (Hoang et al., 2002) e *Penaeus monodon* (Primavera e Cabalero, 1992) e, na maturação, condição e crescimento de *Penaeus indicus* (Emmerson et al., 1983). Com sub-adultos de *Litopenaeus vannamei*, Zhang et al. (2006), avaliaram o efeito da intensidade luminosa e de mais outros cinco fatores sobre os níveis letais de oxigênio dissolvido.

Com relação ao fator intensidade de aeração, são poucos os estudos publicados a respeito dos efeitos da aplicação de diferentes intensidades na sobrevivência e desenvolvimento de larvas de organismos aquáticos, sobretudo de camarões peneídeos. A maior parte dos trabalhos realizados com estágios larvais concentra-se em peixes marinhos.

Com crustáceos, pode-se citar o estudo realizado por Smith e Ritar (2006), que avaliaram os efeitos da densidade de estocagem e turbulência da água sobre o crescimento e sobrevivência de larvas da lagosta *Jasus edwardsii*.

A aeração é essencial durante todo o processo de cultivo larval, a fim de manter uma concentração suficiente de oxigênio dissolvido na água, assegurar a homogeneidade da temperatura

por toda a coluna d'água através da turbulência produzida e também para ajudar a reduzir a quantidade de amônia na água (Kungvankij et al., 1985).

De acordo com Belettini<sup>1</sup>, com base em observações realizadas durante o manejo da larvicultura, os técnicos do LCM (Laboratório de Camarões Marinhos – UFSC) suspeitam que a turbulência produzida pela intensidade de aeração aplicada ao tanque no povoamento possa interferir no sucesso da metamorfose dos náuplios para protozoa I. Isto, porque os náuplios são larvas mais frágeis e uma turbulência mais forte da água pode induzir um maior contato entre as larvas e as bolhas de ar e paredes do tanque. Por isso, nos procedimentos de manejo do laboratório, costuma-se aplicar uma intensidade de aeração reduzida entre a estocagem dos náuplios no tanque de larvicultura e a conclusão da sua metamorfose para protozoa.

O setor de larvicultura do LCM historicamente registra taxas de metamorfose para protozoa relativamente baixas quando comparadas com as de outros laboratórios da região, utilizando náuplios de mesma procedência. Também, flutuações nas taxas de virada pouco explicadas, causam prejuízos que poderiam ser evitados com o conhecimento preciso do efeito de cada fator ao qual o náuplio é submetido (Andreatta<sup>2</sup>). Com isso, poderiam ser determinadas as faixas ótimas dos parâmetros ambientais a serem empregados nos tanques de larvicultura durante a metamorfose dos náuplios, que produziriam as porcentagens de metamorfose máximas. Como possíveis causas para esses problemas, os técnicos do laboratório levantaram algumas hipóteses, como a variação da qualidade dos náuplios, problemas de contaminação por fungos ou bactérias, no sistema de contagem das larvas empregado na maturação e/ou na larvicultura ou, variação dos fatores empregados no manejo dos náuplios, como temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido, luminosidade, turbulência da água, entre outros.

A partir destas informações, o presente estudo visa avaliar a influência dos fatores temperatura, salinidade, aeração e intensidade luminosa na porcentagem de metamorfose de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para o estágio de protozoa I e na qualidade destas larvas após a metamorfose. Busca-se estimar as faixas ótimas destes fatores para a metamorfose dos náuplios desta espécie, a partir da avaliação da influência de níveis definidos com base na variação registrada nos laboratórios da região sul, medidos na larvicultura do LCM ou observados em estudos publicados com larvas de outras espécies de camarões peneídeos. Também, verificar se estes fatores são os responsáveis pelas baixas taxas de metamorfose e/ou, pela variação destas, observadas no LCM entre os ciclos de produção. Para isso, serão utilizados náuplios provenientes da desova de diversas fêmeas e incubados sob as mesmas condições ambientais, as quais são praticadas rotineiramente na atividade de produção do setor de maturação do LCM. Isto, baseando-se na afirmação de Chen e Chen (2002), de que a proporção de energia interna consumida pelos ovos durante o desenvolvimento depende das condições de incubação, podendo-se considerar que náuplios que eclodem sob diferentes condições ambientais contêm diferentes quantidades de energia para seu desenvolvimento subsequente.

---

1 Belettini, F. - Laboratório de Camarões Marinhos – UFSC – Comunicação pessoal.

2 Andreatta, E.R. - Laboratório de Camarões Marinhos – UFSC – Comunicação pessoal.

## OBJETIVOS

### Objetivo geral

- Contribuir na melhoria da utilização do potencial reprodutivo dos camarões nos laboratórios de reprodução.

### Objetivos específicos

- Estudar separadamente a influência das variáveis: salinidade, temperatura, intensidade luminosa e intensidade de aeração na metamorfose de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I, avaliando a taxa de virada e a qualidade das larvas;
- Estimar as faixas ótimas destes fatores para a metamorfose dos náuplios a partir dos parâmetros taxa de metamorfose e qualidade das larvas;
- Verificar se estes são os fatores responsáveis pelas baixas taxas de metamorfose ou, pela variação destas entre os ciclos de produção, verificadas no LCM.

Os artigos científicos seguintes estão formatados de acordo com as normas da revista Aquaculture.

ARTIGO CIENTÍFICO 1

**INLUÊNCIA DOS FATORES SALINIDADE E TEMPERATURA SOBRE A TAXA DE METAMORFOSE DE NÁUPLIOS PARA PROTOZOEIA E SOBRE A QUALIDADE DAS LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*.**

**Influence of salinity and temperature on metamorphosis rate to protozoa and larval quality of *Litopenaeus vannamei*.**

Hadja Radtke Nunes<sup>a</sup> e Edemar Roberto Andreatta<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Aluna do Programa de Pós-graduação em Aquicultura (PGAQI) - UFSC.

<sup>b</sup> Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis – SC, CEP: 88062-601 Brasil.  
Fone: +55 (48) 3231 3400 | Fax: 3231 3434

## RESUMO

A fim de investigar a influência dos fatores salinidade e temperatura na metamorfose de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I, foram realizados dois experimentos separados avaliando a taxa de virada e a qualidade das larvas após a metamorfose. Buscou-se estimar as faixas ótimas destes fatores para a metamorfose dos náuplios. Para cada experimento foram realizadas cinco repetições no tempo, utilizando náuplios oriundos de múltiplas desovas e incubados sob as mesmas condições ambientais, as quais são praticadas no setor de maturação do LCM. Os náuplios III/IV, após previamente aclimatados às condições experimentais, foram estocados nas unidades experimentais numa densidade de 300/L. As faixas de salinidade e temperatura testadas foram de 29 a 35‰ e 25 a 35°C, respectivamente. Os dados de taxa de metamorfose (%) e de pontuação da qualidade das larvas (escore) obtidos foram submetidos à análise de regressão linear. A taxa de metamorfose não foi significativamente influenciada pelos fatores testados ( $p > 0,05$ ), dentro das faixas de valores aplicadas. A qualidade das larvas não apresentou relação significativa com a salinidade ( $p > 0,05$ ), mas exibiu uma relação de regressão linear negativa com a temperatura ( $p < 0,05$ ), dentro das faixas de valores aplicadas. As taxas de metamorfose obtidas nos tratamentos dos dois experimentos foram relativamente altas e uniformes, produzindo uma média geral de  $96,69 \pm 2,56\%$  (média  $\pm$  desvio padrão) para o experimento de salinidade e de  $98,31 \pm 1,59\%$  para o experimento de temperatura. Assim, a faixa de salinidade de 29 a 35‰ foi considerada adequada à metamorfose dos náuplios de *Litopenaeus vannamei*, mas o intervalo de temperaturas entre 25 e 35°C não pôde ser considerado ideal. Isto porque o nível mais baixo do intervalo testado aumentou o tempo de desenvolvimento entre os estágios de náuplio e protozoa I e o mais alto causou uma indesejável condição de estresse nas larvas. Assim, este fator exige maiores estudos para determinar o limite superior da faixa adequada à metamorfose.

**Palavras-chave:** 1.náuplios, 2.taxa de metamorfose, 3.qualidade das larvas, 4.salinidade, 5.temperatura, 6.*Litopenaeus vannamei*.

**ABSTRACT**

In order to investigate the influence of salinity and temperature on metamorphosis from nauplii to the first protozoa stage of *Litopenaeus vannamei*, two separate experiments were carried out evaluating the metamorphosis rate and larval quality. This study aimed to estimate the optimal ranges of these factors for nauplii metamorphosis. For each experiment, five repetitions along time were conducted, using nauplius from multiple spawns and incubated under the same environmental conditions, which are applied at maturation of LCM. The nauplii III/IV, after have been acclimated to experimental conditions, were stocked into experimental units at a density of 300/L. The ranges of salinity and temperature tested were of 29 to 35‰ and 25 to 35°C, respectively. The obtained values of metamorphosis rate (%) and larval quality (score) were submitted to linear regression analysis. The rate of metamorphosis was not significantly influenced by the tested factors ( $p>0,05$ ), within the ranges of values applied. The larval quality did not show a significant relation with salinity ( $p>0,05$ ), but displayed a negative relation of linear regression with temperature ( $p<0,05$ ), within the ranges of values tested. The temperature of 35°C caused an inconvenient condition of stress on protozoa submitted to this treatment, which was not observed at temperatures of 25 and 30°C. The rates of metamorphosis obtained on treatments of both experiments were relatively high and uniform, resulting in a mean of  $96,69 \pm 2,56\%$  (mean  $\pm$  standard deviation) for salinity experiment and of  $98,31 \pm 1,59\%$  for temperature experiment. The range of salinities from 20 to 35‰ was considered suitable for metamorphosis of *Litopenaeus vannamei* nauplii, but the interval of temperatures from 25 to 35°C could not be considered ideal. This because the lowest level tested increased the time of development from nauplius to protozoa I and the highest caused an undesirable condition of stress on larvae. So, temperature requires more research in order to determine the high limit suitable for metamorphosis.

**Key-words:** 1.nauplii, 2.metamorphosis rate, 3.larval quality, 4.salinity, 5.temperature, 6.*Litopenaeus vannamei*.

## INTRODUÇÃO

A captura no ambiente natural supriu, por muitos anos, os requerimentos por pós-larvas das fazendas de camarão (Kumlu, 1999). Mas, com o advento das doenças virais em camarões e o aumento dos estoques mantidos em cativeiro, a indústria passou gradualmente a se tornar mais dependente das pós-larvas produzidas em laboratório (Treece, 2000). De acordo com Racotta et al. (2003), a produção de larvas proveniente da maturação de peneídeos em cativeiro representa uma das estratégias mais importantes para a atividade de cultivo de camarão.

No complexo ciclo de vida dos invertebrados marinhos, os estágios iniciais de desenvolvimento são os mais sensíveis e, a fim de maximizar suas sobrevivências, as larvas devem ser cultivadas próximo das condições ótimas (Zacharia e Kakati, 2004). Desse modo, estudos a respeito das condições ótimas durante os estágios larvais iniciais são de extrema importância para a determinação dos protocolos de cultivo das espécies de peneídeos comercialmente importantes.

Durante o estágio de náuplio, a taxa de desenvolvimento é principalmente influenciada por fatores abióticos, já que a larva depende das fontes de energia internas para sobreviver antes de sofrer a metamorfose para protozoa I, fase na qual inicia a alimentação exógena. A partir deste estágio, a taxa de desenvolvimento da larva passa a ser influenciada também pela abundância de alimento adequado, em adição à salinidade e temperatura (Chen e Chen, 2002; Zacharia e Kakati, 2004).

Temperatura e salinidade são dois dos fatores abióticos mais importantes que afetam o crescimento e sobrevivência dos organismos aquáticos (Kumlu et al., 2000). A temperatura é um fator limitante, estabelecendo os limites letais superior e inferior e, um determinante da taxa de crescimento, através do seu impacto na atividade molecular (Lester e Pante, 1992), além de influenciar o período de tempo que os peneídeos permanecem em cada estágio larval (Zacharia e Kakati, 2004). Para o fator salinidade, cada espécie tem uma faixa adequada para o desenvolvimento embrionário e eclosão, a qual não necessariamente sustenta uma relação com a tolerância dos adultos ou larvas (Roberts, 1971).

Com estágios larvais de algumas espécies de peneídeos, já foram realizados estudos buscando a determinação dos níveis ótimos de temperatura para *Penaeus marginatus* (Gopalakrishnan, 1976) e *Farfantepenaeus californiensis* (Villarreal e Hernandez-Llamas, 2005), de salinidade para *Metapenaeus monoceros* (Kumlu et al., 2001), da combinação dos dois fatores para *M. bennettiae* (Preston, 1985a) e *Penaeus semisulcatus* (Kumlu et al., 2000; Jackson e Burford, 2003) e de temperatura, salinidade e pH, separadamente, para o cultivo de *P. schmitti* (Vega e Cruz, 1988) e *P. notialis* (Crego e Cruz, 1988).

Alguns estudos com estágios larvais incluíram a investigação específica da fase de metamorfose dos náuplios para protozoa I, avaliando o efeito da temperatura isoladamente na taxa de metamorfose de *Litopenaeus vannamei* (Mazotto et al., 2000) e os efeitos combinados da temperatura e salinidade sobre náuplios de *Penaeus aztecus* (Cook e Murphy, 1969), *P. plebejus*, *Metapenaeus macleayi*, *M. bennettiae* (Preston, 1985b), *P. stylirostris* (Villamar et al., 1988) e *P. merguensis* (Zacharia e Kakati, 2004).

De acordo com Suárez e Bador (1998), o estado dos cromatóforos está entre os dez principais critérios morfológicos para qualificação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* e, deve ser o primeiro critério a ser avaliado quando as larvas forem colocadas na lâmina para observação, pois seu estado pode variar muito rapidamente em função do estresse causado pela lâmina. Os cromatóforos são células especializadas capazes de alterar a quantidade e a disposição de seus pigmentos e assim contribuir para mudanças de cor adaptativas. Nos crustáceos, são células de forma estrelada, anucleadas, que contém pigmentos. As mudanças de coloração fisiológicas são produzidas pela dispersão ou concentração (agregação) dos grânulos de pigmento dentro dos cromatóforos, que causam mudanças de cor rápidas e reversíveis. São exibidas não apenas como uma adaptação à coloração do substrato, mas também em resposta a uma ampla gama de estímulos, incluindo variações na iluminação e temperatura ambientais (Rao, 1985).

A partir destas informações, o presente estudo busca estimar as faixas ótimas destes fatores ambientais a serem empregados nos tanques de larvicultura durante a metamorfose dos náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I, que proporcionariam as porcentagens de virada máximas possíveis.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram executados no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) – UFSC, localizado em Florianópolis, Santa Catarina, nos meses de outubro e novembro de 2006. Foram utilizados náuplios no estágio de NIII/NIV, coletados nos tanques de incubação do setor de maturação do LCM, entre 8 e 10 horas após a eclosão. Os náuplios foram provenientes de ovos de múltiplas desovas e incubados sob as mesmas condições ambientais, as quais são praticadas rotineiramente na atividade de produção do setor de maturação do LCM. O procedimento aplicado foi o mesmo empregado pelo setor para a coleta dos náuplios a serem transferidos para a larvicultura. A aeração era desligada e a incubadora era escurecida com uma tampa, sendo acesa uma lâmpada de 12 W no orifício contido no centro da tampa. Como apresentam fototaxia positiva, os náuplios migram em direção ao foco luminoso, formando “nuvens” sob a luz. Após um tempo de migração de 10 a 15 minutos, os náuplios concentrados sob a luz eram coletados e transferidos para o recipiente de aclimatação. Uma amostra destes náuplios era submetida a uma avaliação de sua qualidade, através da observação de um número entre 30 e 50 indivíduos sob um microscópio óptico. A esta amostra era atribuída uma pontuação de acordo com a adequação dos náuplios a sete características pré-estabelecidas para qualificação dos náuplios, extraídas da tabela empregada na larvicultura do LCM para avaliação dos náuplios antes do povoamento. Estas características foram: atividade natatória, coloração, expansão dos cromatóforos, reserva de lipídeos, fototaxia, deformidades e grau de partículas aderidas.

Os náuplios utilizados nos experimentos foram provenientes de um “pool” das desovas diárias da maturação do LCM. Ou seja, foram coletados ao acaso, náuplios de todas as fêmeas que haviam desovado na noite anterior (entre 30 e 60 fêmeas). Por isso, o mesmo experimento (com duração de três dias) foi repetido no tempo por cinco vezes, utilizando diversas desovas, a fim de eliminar a interferência de possíveis diferenças genéticas entre os náuplios utilizados nos testes.

## Experimento de Salinidade

Os tratamentos consistiram de quatro salinidades: 29, 31, 33 e 35‰. Este intervalo foi definido com base na máxima oscilação da salinidade observada nos laboratórios de reprodução da região sul do Brasil.

Como unidades experimentais (UEs) foram utilizadas garrafas plásticas transparentes, com volume útil de 1L, colocadas em banho-maria dentro de uma caixa de poliuretano preta (80 x 80 x 50 cm), contendo água doce até um nível em que as garrafas permanecessem estáveis. A temperatura da água foi mantida em 29°C ( $\pm 0,2^\circ\text{C}$ ) através de dois aquecedores elétricos de vidro de 100 W, controlados por um mesmo termostato. Junto de cada aquecedor foi colocada uma pedra porosa de aeração, para propiciar uma distribuição uniforme da água aquecida dentro da caixa. Dentro de cada UE foi aplicada uma intensidade de aeração moderada.

Cada tratamento era composto por três repetições, sendo as UEs distribuídas ao acaso na parte central da caixa do banho-maria. Sobre a caixa foi pendurada uma luminária contendo uma lâmpada fluorescente compacta de 26 W. A distância entre a luminária e o nível da superfície da água das UEs foi de cerca de 80 cm, proporcionando uma intensidade luminosa de aproximadamente 300 lux. O regime de fotoperíodo aplicado foi de 12L/ 12E (12 horas de luz e 12 horas de escuro).

Para a aclimação dos náuplios às salinidades dos tratamentos foram utilizados quatro recipientes de aclimação, com volume de cerca de 8L cada. Os aclimatadores continham inicialmente água na mesma salinidade e temperatura do tanque de incubação no qual estavam os náuplios. A cada aclimatador era adicionada água na salinidade do respectivo tratamento, numa vazão que propiciasse uma taxa de aclimação da salinidade de 2‰/hora. A temperatura foi mantida em 29°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) durante todo o processo. As diferentes salinidades da água foram obtidas através da diluição com água doce da água do mar disponível no sistema de bombeamento do laboratório no dia, ou adição de cloreto de sódio à mesma.

Após a aclimação, os náuplios eram contados utilizando uma pipeta de vidro transparente de 10 mL, visualizada sob uma lâmpada. Eram colocados 300 náuplios em cada UE, proporcionando uma densidade de 300 náuplios por litro, que é em média, a utilizada nas larviculturas em grande escala.

Entre 13 e 14 horas após o início do experimento, eram adicionadas microalgas da espécie *Chaetoceros muelleri*, provenientes do cepário do setor de microalgas do laboratório. Foi empregada uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/mL, a fim de facilitar a medição do parâmetro taxa de virada.

O experimento era encerrado entre 32 e 33 horas após o povoamento, sendo realizada a contagem das protozoas contidas em cada UE, para determinar a taxa de metamorfose dos náuplios inicialmente estocados. Durante a contagem, separava-se uma amostra de larvas de cada UE para a posterior avaliação da qualidade das larvas. Esta avaliação foi efetuada através da observação do comportamento das larvas no recipiente da amostra sob uma lâmpada e da análise de 15 a 30 larvas sob um microscópio óptico, sendo atribuída uma pontuação de acordo com a adequação a onze características pré-estabelecidas para a qualificação das larvas. As características foram: taxa de virada, atividade natatória, fototaxia, reserva de lipídeos no hepatopâncreas, coloração do hepatopâncreas, conteúdo intestinal, presença de cordões fecais, deformidades, epibiontes, necroses

e grau de partículas aderidas. Estes parâmetros foram extraídos da tabela utilizada para avaliação das larvas no estágio de protozoa I no setor de larvicultura do LCM.

### **Experimento de Temperatura**

Os tratamentos consistiram de três temperaturas: 25 ( $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ), 30 ( $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ) e 35 ( $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ). Foram utilizadas as mesmas UEs descritas para o experimento de salinidade, mantidas em banho-maria em três diferentes caixas de poliuretano, uma para cada temperatura testada. Em cada caixa, a temperatura foi mantida por dois aquecedores elétricos de 100 W, controlados por termostato. No tratamento com temperatura de 25°C, houve a necessidade da colocação de um recipiente com gelo na água do banho-maria (durante o dia), para manter a temperatura dentro da faixa desejada. Dentro de cada UE foi aplicada uma intensidade de aeração moderada.

As três repetições de cada tratamento foram distribuídas ao acaso na parte central da respectiva caixa de banho-maria. Sobre cada caixa foi pendurada uma luminária semelhante à descrita para o experimento de salinidade, proporcionando as UEs uma intensidade luminosa de aproximadamente 300 lux. O regime de fotoperíodo aplicado foi de 12L/12E. Para impedir a interferência aditiva da luminosidade produzida pela luminária de uma caixa sobre a caixa vizinha, foram colocadas “cortinas” de plástico preto separando as caixas.

Antes do povoamento das UEs, os náuplios eram aclimatados à salinidade e temperaturas do experimento. A salinidade empregada variou de 32 a 34‰ nas cinco repetições do experimento realizadas no tempo, pois era a da água do mar que estava sendo bombeada pelo laboratório no dia. Foram utilizados três recipientes de aclimação, um para cada temperatura testada. O procedimento empregado foi o mesmo descrito para o experimento de salinidade, sendo todos aclimatados à mesma salinidade final, numa taxa de 2‰/hora. A aclimação às temperaturas dos tratamentos foi feita através de aquecedores elétricos de 50 W (ligados conforme a necessidade) ou por meio da adição de água numa temperatura mais baixa, numa taxa de 2°C/hora.

Para a contagem dos náuplios e povoamento das UEs, seguiu-se o mesmo processo descrito para o experimento de salinidade.

Entre 13 e 14 horas após o início do experimento, eram adicionadas microalgas da espécie *Thalassiosira weissflogii*, provenientes do cepário do setor de microalgas do laboratório. Foi empregada uma densidade de  $0,6 \times 10^4$  células/mL, a fim de facilitar a medição do parâmetro taxa de virada.

Os tratamentos de 30°C e 35°C eram encerrados entre 32 e 34 horas após o povoamento, mas, o tratamento sob 25°C era mantido até completar aproximadamente 45 horas (até que as larvas concluíssem a metamorfose para protozoa). O procedimento aplicado na avaliação da taxa de metamorfose e qualidade das larvas foi o mesmo descrito para o experimento anterior. No entanto, na avaliação da qualidade das larvas, além das onze características descritas para o experimento de salinidade, também foi avaliado o grau de expansão dos cromatóforos das larvas.

## Análise estatística

Os modelos de regressão linear com os dados de taxa de metamorfose e qualidade das larvas dos diferentes “pools” de cada experimento e, a comparação entre as inclinações dos “pools” relativos ao mesmo experimento, foram executados através do programa estatístico PRISM 4.0. Antes das análises estatísticas, os dados de sobrevivência e qualidade foram submetidos às transformações do arco seno e da raiz quadrada (Steel & Torrie, 1980), respectivamente.

## RESULTADOS

### Experimento de salinidade

Os valores de taxa de metamorfose (%) obtidos em cada tratamento (média de três repetições), nos diferentes “pools” que formaram o experimento, podem ser visualizados na tabela 1A. Todos os “pools” do experimento apresentaram um valor de coeficiente de regressão ( $\beta$ ) não significativamente diferente de zero ( $p > 0,05$ ), por isso, não houve relação de regressão entre a taxa de metamorfose e a faixa de salinidades aplicada. Os modelos de regressão destes dados são apresentados no gráfico 1A, com os valores de taxa de metamorfose (transformados através do arco seno) em função dos níveis de salinidade testados.

Tabela 1A – Experimento de Salinidade – Taxa de metamorfose  $\pm$  desvio padrão (%) (n=3)

Salinidade	29‰	31‰	33‰	35‰	$\beta$ signif $\neq$ de zero? ( $p < 0,05$ )
Pool 1	96,78 $\pm$ 4,55	93,66 $\pm$ 2,73	95,22 $\pm$ 2,80	94,55 $\pm$ 4,03	não
Pool 2	94,78 $\pm$ 2,46	96,00 $\pm$ 1,20	96,67 $\pm$ 2,00	95,22 $\pm$ 2,22	não
Pool 3	95,77 $\pm$ 0,39	97,44 $\pm$ 2,17	96,33 $\pm$ 3,34	98,22 $\pm$ 1,68	não
Pool 4	99,22 $\pm$ 0,69	97,44 $\pm$ 3,03	100,88 $\pm$ 1,26	99,00 $\pm$ 1,00	não
Pool 5	96,11 $\pm$ 1,50	97,33 $\pm$ 2,34	96,44 $\pm$ 0,20	96,66 $\pm$ 1,15	não

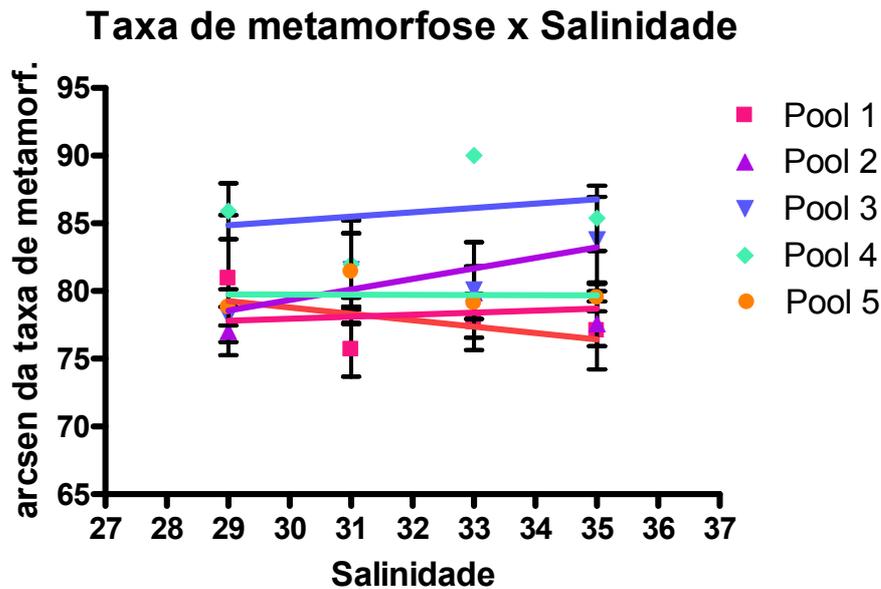


Gráfico 1A – Modelos de regressão para a taxa de metamorfose (dados transformados) – Experimento de Salinidade

Na tabela 1B são mostrados os dados de pontuação da qualidade das larvas obtidos para cada tratamento (média de três repetições) deste experimento. Como a maior parte dos “pools” (quatro de cinco), apresentou um valor de  $\beta$  não significativamente diferente de zero ( $p > 0,05$ ), não houve relação de regressão entre a qualidade das larvas e a faixa de salinidades testada. Esta tabela também mostra a equação de regressão do “pool” que exibiu um valor de  $\beta$  significativamente diferente de zero. Os modelos de regressão destes dados podem ser visualizados no gráfico 1B, com os dados de pontuação da qualidade (transformados através da raiz quadrada) em função dos níveis de salinidade testados.

Tabela 1B – Experimento de Salinidade – Pontuação da qualidade das larvas  $\pm$  desvio padrão (escore) (n=3)

Salinidade	29‰	31‰	33‰	35‰	$\beta$ signif $\neq$ de zero? ( $p < 0,05$ )	Equação de regressão ( $Y = \alpha + \beta X$ )
Pool 1	106,66 $\pm$ 7,64	81,66 $\pm$ 12,58	100,00 $\pm$ 15,00	86,66 $\pm$ 12,58	Não	-
Pool 2	96,66 $\pm$ 10,41	95,00 $\pm$ 0,00	91,66 $\pm$ 2,89	81,66 $\pm$ 16,07	Não	-
Pool 3	105,00 $\pm$ 5,00	100,00 $\pm$ 5,00	95,00 $\pm$ 5,00	106,66 $\pm$ 7,64	Não	-
Pool 4	98,33 $\pm$ 5,77	96,66 $\pm$ 7,64	103,33 $\pm$ 5,77	101,66 $\pm$ 5,77	Não	-
Pool 5	108,33 $\pm$ 2,89	103,33 $\pm$ 11,55	101,66 $\pm$ 7,64	91,66 $\pm$ 11,55	Sim	14,23 - 0,13X

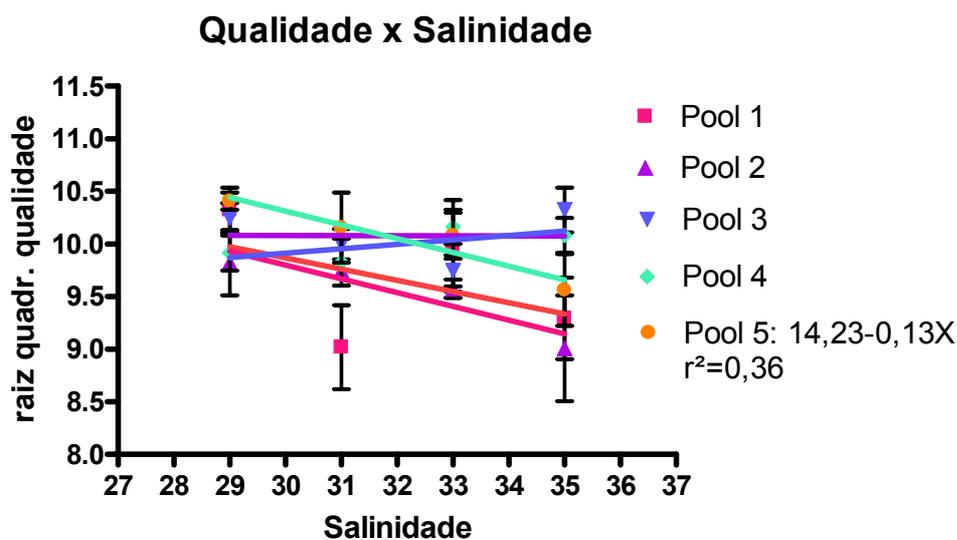


Gráfico 1B – Modelos de regressão para a qualidade das larvas (dados transformados) – Experimento de Salinidade

### Experimento de Temperatura

Segundo os modelos de regressão linear, a taxa de metamorfose não apresentou relação significativa com a temperatura dentro da faixa de valores aplicados. As taxas de metamorfose (%) obtidas em cada temperatura testada (média de três repetições), nos “pools” que formaram este experimento, podem ser visualizadas na tabela 2A. No gráfico 2A estão representados os modelos de regressão destes dados, com os valores de taxa de metamorfose (transformados através do arco seno) em função das temperaturas testadas.

Tabela 2A – Experimento de Temperatura – Taxa de metamorfose  $\pm$  desvio padrão (%) (n=3)

Temperatura	25°C	30°C	35°C	$\beta$ signif $\neq$ de zero? ( $p < 0,05$ )
Pool 1	98,22 $\pm$ 0,84	98,44 $\pm$ 1,07	96,77 $\pm$ 4,74	Não
Pool 2	97,11 $\pm$ 0,38	98,88 $\pm$ 0,77	97,66 $\pm$ 2,40	Não
Pool 3	98,22 $\pm$ 0,84	98,66 $\pm$ 1,15	98,22 $\pm$ 1,39	não
Pool 4	98,55 $\pm$ 0,39	99,89 $\pm$ 0,38	98,44 $\pm$ 1,17	não
Pool 5	98,11 $\pm$ 1,26	99,89 $\pm$ 0,19	97,66 $\pm$ 1,45	não

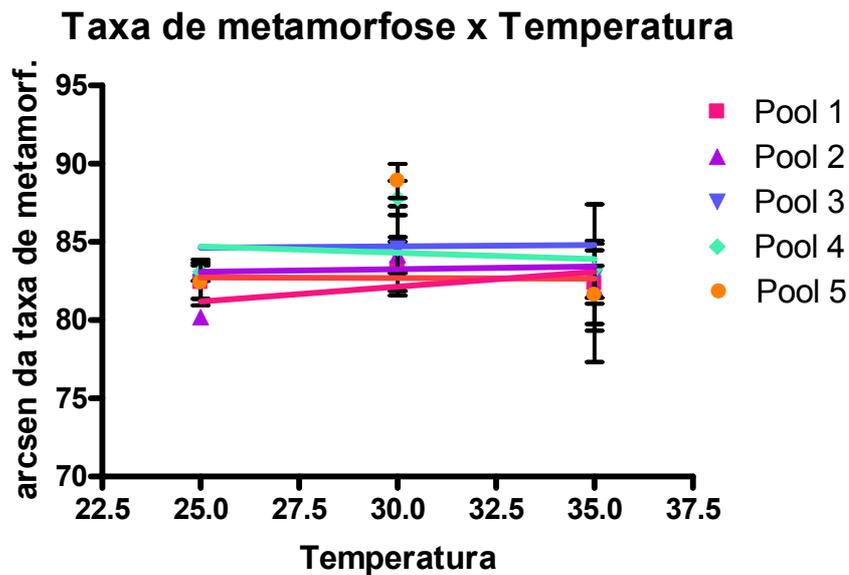


Gráfico 2A - Modelos de regressão para a taxa de metamorfose (dados transformados) – Experimento de Temperatura

Por outro lado, a qualidade das larvas apresentou uma relação de regressão linear negativa com a temperatura aplicada. Ou seja, a pontuação da qualidade diminuiu linearmente com o aumento da temperatura, dentro da faixa de valores testada. A tabela 2B mostra os resultados de pontuação da qualidade das larvas obtidos em cada temperatura testada (média de três repetições), para cada “pool” que compôs este experimento. Houve regressão porque a maioria dos “pools” (três de cinco) apresentou um valor de  $\beta$  significativamente diferente de zero ( $p < 0,05$ ). Os modelos de regressão desses dados são mostrados no gráfico 2B, com os valores de pontuação da qualidade das larvas (transformados através da raiz quadrada) em função dos níveis de temperatura testados.

As equações de regressão dos “pools” em que houve relação significativa, bem como os respectivos valores do coeficiente de determinação ( $r^2$ ), podem ser visualizados na tabela e gráfico 2B. Como as diferenças entre as inclinações dos diferentes “pools” não foram significativas ( $p > 0,05$ ), foi possível calcular um único coeficiente de regressão ( $\beta$ ) para representar a todos os “pools” simultaneamente, de  $-0,1238$ . O mesmo foi verificado para os valores de  $\alpha$  (interceptação da reta de regressão com o eixo Y). Como não houve diferenças significativas entre os “pools” ( $p > 0,05$ ) foi possível calcular único valor de  $\alpha$ , de  $14,032$ . Desse modo, calculou-se uma equação de regressão geral para a qualidade das larvas em função da faixa de temperatura estudada, que representa todos os “pools” simultaneamente:  $Y = 14,032 - 0,124X$ .

Tabela 2B – Experimento de Temperatura – Pontuação da qualidade das larvas  $\pm$  desvio padrão (escore) (n=3)

Temperatura	25°C	30°C	35°C	$\beta$ signif $\neq$ de zero? (p<0,05)	Equação de regressão (Y = $\alpha$ + $\beta$ X)	r <sup>2</sup>
Pool 1	110,00 $\pm$ 10,00	118,33 $\pm$ 2,89	78,33 $\pm$ 17,56	não	-	
Pool 2	115,00 $\pm$ 10,00	120,00 $\pm$ 0,00	95,00 $\pm$ 10,00	não	-	
Pool 3	120,00 $\pm$ 0,00	113,33 $\pm$ 7,64	90,00 $\pm$ 8,66	sim	14,78 - 0,15X	0,76
Pool 4	115,00 $\pm$ 0,00	121,66 $\pm$ 2,89	96,66 $\pm$ 2,89	sim	13,20 - 0,09X	0,50
Pool 5	110,00 $\pm$ 5,00	115,00 $\pm$ 5,00	86,66 $\pm$ 2,89	sim	13,70 - 0,12X	0,56

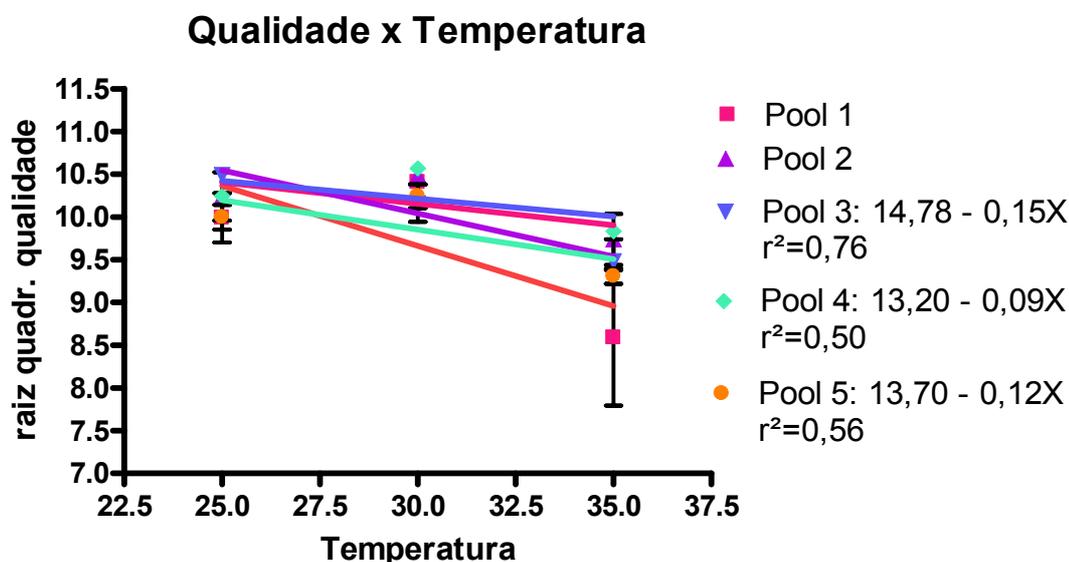


Gráfico 2B – Modelos de regressão para a qualidade das larvas (dados transformados) – Experimento de Temperatura

## DISCUSSÃO

### Experimento de Salinidade

A taxa de metamorfose dos náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I obtida no presente experimento não foi significativamente afetada pela salinidade, dentro da faixa de 29 a 35‰. Foram obtidas porcentagens de metamorfose acima de 93% em todos os tratamentos e repetições do experimento realizadas no tempo. Resultados semelhantes nesta faixa de salinidade já foram obtidos com náuplios de outras espécies de peneídeos. Villamar et al. (1988), testando o efeito de três temperaturas (23, 28 e 33°C) e cinco salinidades (23, 28, 33, 38 e 43‰) na metamorfose de náuplios recém-eclodidos de *Penaeus stylirostris* para protozoa, verificaram diferenças significativas entre as porcentagens de virada obtidas nos níveis de salinidade e temperatura testados. A maior taxa de metamorfose verificada foi de 96% sob salinidade de 33‰ e temperatura de 28°C. Valores de salinidade acima e abaixo de 33‰ (23, 28, 38 e 43‰) reduziram as porcentagens de metamorfose obtidas. A faixa de salinidade de 30 a 35‰ foi considerada ideal para a metamorfose de náuplios de

*Penaeus merguensis* para protozoa I, sendo obtidas taxas de metamorfose acima de 50% nas salinidades de 30, 35 e 40‰, sob temperaturas de 29 e 33°C. As larvas mantidas em salinidade de 25‰ apresentaram comportamento letárgico e a mais baixa sobrevivência (Zacharia e Kakati, 2004). Conforme Chu e So (1987), náuplios de *Metapenaeus ensis* não foram capazes de realizar a metamorfose para protozoa I num período de 24 horas sob salinidade de 15‰, mas apresentaram uma taxa de metamorfose de 100% quando mantidos em salinidades entre 20 e 35‰. E, com larvas e *Penaeus semisulcatus* entre os estágios de náuplio e mysis I, Jackson e Burford (2003) verificaram que a sobrevivência e o crescimento das larvas não foram afetados pela salinidade acima de 28‰ (29, 32, 34 e 37‰). Sob 28‰, houve uma redução significativa da taxa de crescimento e, quando combinada com baixa temperatura, também houve redução da sobrevivência. Assim, pode-se observar que a faixa de salinidades entre 30 e 35‰ está dentro do intervalo adequado para a sobrevivência e metamorfose de náuplios de diversas espécies de peneídeos e, de acordo com os resultados do presente experimento, também para náuplios de *Litopenaeus vannamei*.

Chen e Chen (2002), com náuplios do camarão não peneídeo *Acetes intermedius*, verificaram que a salinidade exerceu um efeito significativo sobre o tempo de metamorfose e qualidade das larvas. Os náuplios levaram menos tempo para completar a metamorfose sob salinidades de 25 e 30‰ em comparação com os demais níveis testados (15, 20 e 35‰). Nas salinidades de 15 e 35‰ foram comumente verificadas larvas anormais no estágio de protozoa I, sob temperatura de 20°C. Tais efeitos da variação da salinidade, no entanto, não se verificaram com larvas de *Litopenaeus vannamei* no presente estudo. A faixa de salinidades testada (29 a 35‰) não exerceu influência significativa tanto no período de desenvolvimento entre os estágios de náuplio III e protozoa I, quanto na qualidade destas larvas após a metamorfose.

Os resultados obtidos no presente experimento evidenciam que os náuplios de *Litopenaeus vannamei* são capazes de completar com sucesso a metamorfose para protozoa I na faixa de salinidades de 29 a 35‰. A variação da salinidade dentro deste intervalo não exerce influência na taxa de metamorfose e qualidade das larvas, coincidindo com o intervalo considerado ideal para a metamorfose de náuplios de outras espécies de peneídeos já estudadas.

### **Experimento de Temperatura**

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, a taxa de metamorfose dos náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I não foi significativamente afetada pela variação da temperatura, dentro da faixa de 25 a 35°C. Foram obtidas taxas de metamorfose acima de 96% em todos os tratamentos e repetições do experimento realizadas no tempo. Também com náuplios de *Litopenaeus vannamei*, Mazotto et al. (2000), não verificaram diferenças significativas entre as taxas de metamorfose para protozoa obtidas sob temperaturas de 26°C (77,4%) e 30°C (83,8%).

Por outro lado, estudos realizados com náuplios de outras espécies de peneídeos verificaram um efeito significativo da temperatura na taxa de virada para protozoa. A metamorfose de náuplios de *Penaeus merguensis*, em geral, independente da salinidade aplicada, foi maior sob temperatura de 33°C do que 29°C. As maiores porcentagens obtidas foram de 89% em 33°C e de 78,5% em 29°C, numa salinidade de 35‰ (Zacharia e Kakati, 2004). Com náuplios de *Penaeus marginatus* foram

verificadas maiores taxas de sobrevivência após o estágio naupliar sob 20 e 25°C do que sob 15 e 30°C (Gopalakrishnan, 1976). De acordo com Cook e Murphy (1969), a sobrevivência de náuplios de *Penaeus aztecus* foi melhor sob 24°C do que sob 28 ou 32°C e, conforme as larvas evoluíram através dos estágios de protozoa e misis, a sobrevivência geralmente aumentou com o aumento da temperatura. A partir disso, observa-se que a taxa de virada de náuplios de peneídeos pode apresentar diferentes respostas à variação da temperatura aplicada, dependendo da espécie em estudo. Para algumas espécies, as melhores porcentagens de metamorfose ocorrem em temperaturas mais baixas (20 a 25°C), enquanto outras exibem os melhores resultados em níveis maiores (33°C). No entanto, os náuplios de *Litopenaeus vannamei* foram capazes de completar a metamorfose dentro de um intervalo de temperaturas relativamente amplo (25 a 35°C), se comparado com os intervalos ótimos de outras espécies já pesquisadas, exibindo porcentagens de virada altas e uniformes (média geral de 98,31% ± desvio padrão de 1,59%) entre os tratamentos aplicados.

Apesar de não ter influenciado a taxa de metamorfose no presente experimento, a faixa de temperaturas testada interferiu no tempo de desenvolvimento das larvas. Os náuplios de *Litopenaeus vannamei* submetidos à temperatura de 25°C, completaram a metamorfose para protozoa cerca de 10 horas mais tarde do que os náuplios mantidos em 30°C. De forma semelhante, Preston (1985b), num estudo realizado com três espécies de peneídeos, *Penaeus plebejus*, *Metapenaeus macleayi* e *Metapenaeus bennettiae*, verificou um efeito significativo da temperatura no período de desenvolvimento larval. Para o desenvolvimento entre os estágios de náuplio I e protozoa I, numa salinidade de 30‰, as larvas das três espécies levaram entre 66 e 72 horas quando submetidas à temperatura de 19°C, porém, quando a temperatura foi aumentada para 34°C levaram entre 30 e 32 horas apenas. Similarmente, Villarreal e Hernandez-Llamas (2005), testando o efeito de quatro temperaturas (22, 25, 28 e 30°C) no desenvolvimento larval de *Farfantepenaeus californiensis*, verificaram que a duração de cada estágio foi inversamente relacionada com a temperatura, exceto nas temperaturas de 25 e 28°C para o estágio de protozoa e de 28 e 30°C para o estágio de misis, nas quais o tempo decorrido foi o mesmo. Com larvas de *Penaeus semisulcatus* entre os estágios de náuplio e misis I, Jacson e Burford (2003) verificaram que a faixa de temperaturas entre 20 e 32°C exerceu uma influência significativa na taxa de crescimento, sendo que as larvas cresceram mais rápido sob temperaturas mais altas.

Porém, apesar de reduzir o tempo de cultivo, a aplicação de temperaturas elevadas pode apresentar efeitos negativos na sobrevivência, crescimento e qualidade das larvas. Kumlu et al. (2000) verificaram que protozoas I de *Penaeus semisulcatus* submetidas à temperatura de 22°C exibiram a mais alta sobrevivência até pós-larva 1 (69%), em comparação com 61% sob 26°C, 44% sob 30°C e 12% sob 34°C. Segundo os autores, as larvas submetidas a 26°C exibiram a segunda maior sobrevivência (61%), mas menor taxa de crescimento do que as larvas sob 34°C (com sobrevivência de 12%), confirmando a sugestão de que altas temperaturas, até certo ponto, aumentam a frequência de muda e o crescimento larval, mas reduzem a sobrevivência de camarões peneídeos. De forma semelhante, a velocidade do ciclo de muda de juvenis de *Penaeus indicus* aumentou linearmente com o aumento da temperatura, numa faixa de 26 a 35°C (Vijayan e Diwan, 1995). Porém, os autores destacaram que um ciclo de muda mais rápido associado com um

correspondente crescimento em termos de comprimento e ganho de peso, foi observado somente até a temperatura de 31°C. Acima desse valor, o ciclo de muda foi mais rápido, mas não produziu um correspondente ganho no comprimento ou peso. Os menores incrementos foram registrados sob temperatura de 35°C.

Com náuplios de *Litopenaeus vannamei* no presente estudo, a temperatura exerceu uma influência significativa na qualidade das larvas, sendo verificada uma redução da pontuação da qualidade em função do aumento da temperatura aplicada, dentro da faixa de valores de 25 a 35°C. Esta menor pontuação da qualidade ocorreu essencialmente devido ao fato de 30 a 100% das larvas apresentarem cromatóforos expandidos no tratamento com 35°C. Destaca-se que as larvas submetidas aos tratamentos com 25 e 30°C exibiram uma condição normal, na qual não houve expansão dos cromatóforos. Uma resposta semelhante foi obtida por Smith (1930), que verificou a expansão dos cromatóforos do camarão de água doce *Macrobrachium acanthurus* em temperaturas acima de 35°C. Sob temperatura de 40°C os camarões permaneceram imóveis e, com exceção do movimento das brânquias, não exibiram sinais de vida. A expansão dos cromatóforos também foi verificada em qualquer temperatura abaixo de 15°C, sendo que, sob temperaturas inferiores a 6°C os camarões morreram imediatamente. Sob qualquer temperatura acima de 15°C e abaixo de 35°C os animais exibiram uma coloração normal, na qual não houve a expansão dos cromatóforos. A recuperação da coloração normal ocorreu como regra, quando os camarões submetidos às temperaturas extremas foram retornados para água em torno de 28°C. O autor destacou que a temperatura na qual a espécie vive normalmente está entre 25 e 30°C.

De acordo com Suárez e Bador (1998), uma coloração avermelhada de pós-larvas de camarão, causada pela expansão dos cromatóforos, é um indicador de estresse. Também, conforme Clifford e Cook (2002), mudanças na coloração dos apêndices e cromatóforos dos camarões geralmente são indícios sintomáticos de doenças virais ou bacterianas. Camarões infectados pelo vírus da Síndrome de Taura ou da Mancha Branca frequentemente apresentam urópodos avermelhados e cromatóforos expandidos. Segundo os autores, considerando a seriedade das doenças que são tipicamente associadas com uma coloração anormal dos apêndices e expansão dos cromatóforos, não há um nível aceitável de incidência para estes sintomas.

No presente estudo, a condição de estresse causada pela temperatura de 35°C não afetou a taxa de metamorfose dos náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I. No entanto, o desempenho das larvas através dos estágios seguintes de cultivo poderia ser afetado. De acordo com Liao (1992), um dos fatores que contribuíram para o declínio da produção de pós-larvas de *Penaeus monodon* em Taiwan, entre os anos de 1987 e 1988, teria sido o excessivo estresse durante a larvicultura, especialmente a aplicação de temperaturas atingindo 35 e 36°C. O uso de temperaturas da água nesse nível propiciou uma redução considerável do tempo de cultivo, passando de 24 dias, que é o tempo normalmente necessário para náuplios de *Penaeus monodon* recém-eclodidos atingirem o estágio de PL15, para 17 dias. Segundo o autor, isto aparentemente reduziu a imunidade das larvas a doenças, o que pode ter contribuído para as mortalidades em massa na produção larval. Também, conforme Olin e Fast (1992), a exposição a salinidades e temperaturas

extremas durante a larvicultura pode facilmente comprometer a rusticidade das pós-larvas e sua habilidade de resistir à transição do laboratório para o viveiro.

Desse modo, um efeito negativo da aplicação de temperaturas elevadas, assim como em outras espécies de peneídeos, comprovou-se também com larvas de *Litopenaeus vannamei* no presente estudo, conforme os resultados de qualidade das larvas obtidos. Embora a variação da temperatura na faixa de 25 a 35°C não tenha interferido na capacidade dos náuplios completarem a metamorfose, a temperatura mais alta testada afetou a qualidade das larvas após a mudança de estágio. Portanto, o intervalo entre 30 e 35°C exige estudos mais detalhados de seus efeitos na qualidade das larvas, a fim de estimar o limite superior da faixa ideal para o desenvolvimento larval. Assim, sugere-se que o uso de temperaturas próximas de 35°C seja evitado durante a metamorfose dos náuplios para protozoa, até que os efeitos positivos e negativos deste fator estejam suficientemente elucidados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chen, Y-H., Chen, I-M., 2002. Effects of temperature and salinity on the metamorphosis of nauplius of a planktonic shrimp *Acetes intermedius* Omori, 1975. Fisheries Science 68, 117-122.
- Chu, K.H.; So, B.S.H. 1987. Changes in salinity tolerance during larval development of the shrimp *Metapenaeus ensis* (De Haan). Asian Mar. Biol. 4, 41-48.
- Clifford, H.C.; Cook, H.L. 2002. Disease management in shrimp culture ponds – Part 3. Aquaculture Magazine 28 (4), 20-25.
- Cook, H.L.; Murphy, M.A. 1969. The culture of larval penaeid shrimp. Transactions of the American Fisheries Society 98 (4), 751-754.
- Crego, M.; De la Cruz, S.A. 1988. Efecto de la temperatura, la salinidad y el pH sobre las larvas del camarón rosado *Penaeus notialis*. Revista de Investigaciones Marinas vol.IX (2), 133-138.
- Gopalakrishnan, K., 1976. Larval rearing of red shrimp *Penaeus marginatus* (Crustacea). Aquaculture 9, 145-154.
- Jackson, C.J., Burford, M.A., 2003. The effects of temperature and salinity on growth and survival of larval shrimp *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeoidea). Journal of Crustacean Biology 23 (4), 819-826.
- Kumlu, M., 1999. Feeding and digestion in larval decapod crustaceans. Tr. J. of Biology 23, 215-229.
- Kumlu, M., Eroldogan, O.T., Aktas, M., 2000. Effects of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*. Aquaculture 188, 167-173.
- Kumlu, M.; Eroldogan, O.T.; Aktas, M.; Saglamtimur, B. 2001. Larval growth, survival and development of *Metapenaeus monoceros* (Fabricius) cultured in different salinities. Aquaculture Research 32, 81-86.
- Liao, I-C. 1992. Penaeid larviculture: Taiwanese method. Fast, A.W.; Lester, J.L. (Editors). Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elsevier, Amsterdam, pp.193-215.
- Mazotto, J., Vilani, F.G., Vinatea, L., Andreatta, E.R., 2000. Efeito da densidade de estocagem e da temperatura na sobrevivência de larvas de *Litopenaeus vannamei* durante a metamorfose de náuplio para protozoa I. In: Anais Aqüicultura Brasil 2000. XI Simpósio Brasileiro de Aqüicultura – SIMBRAQ. Florianópolis, SC, Brasil. Em CD-ROM.
- Olin, P.G.; Fast, A.W. 1992. Penaeid PL harvest, transport, acclimation and stocking. Fast, A.W.; Lester, J.L. (Editors). Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elsevier, Amsterdam, pp.301-320.
- Preston, N. 1985 a. The combined effects of temperature and salinity on hatching success and the survival, growth and development of the larval stages of *Metapenaeus bennettiae* (Racek & Dall). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 85, 57-74.
- Preston, N. 1985 b. The effects of temperature and salinity on survival and growth of larval *Penaeus plebejus*, *Metapenaeus macleayi* and *M.bennettiae*. Rothlisberg, P.C.; Hill, B.J.; Staples, D.J. (Editors), Second Australian National Prawn Seminar. NPS2, Cleveland, Australia, pp.31-40.
- Racotta, I.S., Palacios, E., Ibarra, A.M., 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. Aquaculture 227, 107-130.
- Rao, K.R. 1985. Pigmentary Effectors. Bliss, D.E.; Mantel, L.H. (Editors). The Biology of Crustacea. v.9. Integument, Pigments and Hormonal Processes. pp.395-462.
- Roberts, M.H.Jr. 1971. Larval development of *Pagurus longicarpus* (Say) reared in the laboratory. II. Effects of reduced salinity on larval development. Biol. Bull. 140 (1), 104–116.
- Smith, D.C. 1930. The effects of temperature changes upon the chromatophores of crustaceans. Biological Bulletin 58, 193-202.
- Steel, R.D., Torrie, J.H., 1980. Principles and Procedures of Statistics. 2ª edição. Mc Graw-Hill, USA, 633 pp.

Suárez, J.A.; Bador, R.F. 1998. *Penaeus vannamei* nauplii and postlarvae quality control: some elements for the evolution from subjective to objective criteria. Anais do Aquicultura Brasil'98, v.2. Recife, PE, Brasil.

Treece, G.D., 2000. Shrimp maturation and spawning. UJNR Technical Report 28, 121-134.

Vega, A.J.; De la Cruz, S.A. 1988. Efecto de la temperatura, la salinidad y el pH sobre las larvas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. Revista de Investigaciones Marinas vol.IX (1), 125-132.

Vijayan, K.K.; Diwan, A.D. 1995. Influence of temperatura, salinity, pH and light on molting and growth in the Indian white prawn *Penaeus indicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) under laboratory conditions. Asian Fisheries Science 8, 63-72.

Villamar, D.F.; Lawrence, A.L.; Neill, W. 1988. Temperature and salinity effects on metamorphosis and survival of *Penaeus stylirostris* nauplii. Journal of the World Aquaculture Society 19 (1) 72A.

Villarreal, H., Hernandez-Llamas, A., 2005. Influence of temperature on larval development of Pacific brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis*. Aquaculture 249, 257-263.

Zacharia, S., Kakati, V.S., 2004. Optimal salinity and temperature for early developmental stages of *Penaeus merguensis* De man. Aquaculture 232, 373-382.

## ARTIGO CIENTÍFICO 2

**INFLUÊNCIA DOS FATORES INTENSIDADE LUMINOSA E DE AERAÇÃO  
SOBRE A TAXA DE METAMORFOSE DE NÁUPLIOS PARA PROTOZOEIA E NA  
QUALIDADE DAS LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*.**

**Influence of light intensity and aeration on metamorphosis rate to protozoa  
and larval quality of *Litopenaeus vannamei*.**

Hadja Radtke Nunes<sup>a</sup> e Edemar Roberto Andreatta<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Aluna do Programa de Pós-graduação em Aquicultura (PGAQI) - UFSC.

<sup>b</sup> Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis – SC, CEP: 88062-601 Brasil.  
Fone: +55 (48) 3231 3400 | Fax: 3231 3434

## RESUMO

A fim de investigar a influência dos fatores intensidade luminosa e de aeração na metamorfose de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I, foram realizados dois experimentos separados avaliando a taxa de virada e a qualidade das larvas após a metamorfose. Buscou-se estimar as faixas ótimas destes fatores, que produziriam as porcentagens de metamorfose máximas possíveis. Foram realizadas seis repetições no tempo do experimento de intensidade luminosa e cinco do experimento de aeração, utilizando náuplios oriundos de múltiplas desovas e incubados sob as mesmas condições ambientais, as quais são praticadas no setor de maturação do LCM (Laboratório de Camarões Marinhos – UFSC). Os náuplios III/IV, após previamente aclimatados às condições experimentais, foram estocados nas unidades experimentais numa densidade de 300/L. Os níveis testados dos fatores intensidade luminosa e aeração foram de 0 a 15.000 lux e de uma condição de borbulhas estática a forte, respectivamente. Os dados de taxa de metamorfose (%) e de pontuação da qualidade das larvas (score) foram submetidos à análise de regressão linear. A taxa de metamorfose não foi significativamente influenciada pelos fatores testados ( $p > 0,05$ ), dentro das faixas de intensidades aplicadas. A qualidade das larvas não apresentou relação significativa com a aeração ( $p > 0,05$ ), mas exibiu uma relação de regressão linear positiva com a intensidade luminosa ( $p < 0,05$ ), dentro das faixas de intensidades aplicadas. As taxas de metamorfose obtidas nos tratamentos dos dois experimentos foram relativamente altas e uniformes, produzindo uma média geral de  $97,71 \pm 3,33\%$  (média  $\pm$  desvio padrão) para o experimento de intensidade luminosa e de  $98,48 \pm 2,92\%$  para o experimento de aeração. Apesar da faixa de intensidades luminosas de 0 a 15.000 lux ter propiciado boas porcentagens de metamorfose para protozoa I, não pôde ser considerada ideal para a metamorfose dos náuplios, pois a melhor qualidade das larvas ocorreu no nível mais alto do intervalo testado. O fator intensidade de aeração, mesmo tendo permitido a mudança de estágio com bons resultados de taxa de metamorfose e qualidade das larvas, exige estudos mais aprofundados para estimar a sua faixa de intensidades ideal para a metamorfose dos náuplios.

**Palavras-chave:** 1.náuplios, 2.taxa de metamorfose, 3.qualidade das larvas, 4.intensidade luminosa, 5.aeração, 6.*Litopenaeus vannamei*.

**ABSTRACT**

In order to investigate the influence of light intensity and aeration on metamorphosis from nauplii to the first protozoa stage of *Litopenaeus vannamei*, two separate experiments were carried out evaluating the metamorphosis rate and larval quality. This study aimed to estimate the optimal ranges of these factors for nauplii metamorphosis. Six repetitions along time were conducted for light intensity experiment and five repetitions for aeration experiment, using nauplii from multiple spawns and incubated under the same environmental conditions, which are applied at maturation of LCM. The nauplii III/IV, after have been acclimated to experimental conditions, were stocked into experimental units at a density of 300/L. The levels of light intensity and aeration tested were of 0 to 15.000 lux and of a bubble condition from static to strong, respectively. The obtained values of metamorphosis rate (%) and larval quality (score) were submitted to linear regression analysis. The rate of metamorphosis was not significantly influenced by the tested factors ( $p>0,05$ ), within the range of intensities applied. The larval quality did not show a significant relation with aeration ( $p>0,05$ ), but displayed a positive relation of linear regression with light intensity ( $p<0,05$ ), within the range of intensities applied. The rates of metamorphosis obtained on treatments of both experiments were relatively high and uniform, resulting in a mean of  $97,71 \pm 3,33\%$  (mean  $\pm$  standard deviation) for light intensity experiment and of  $98,48 \pm 2,92\%$  for aeration experiment. Although the range of light intensities from 0 to 15.000 lux had provided high metamorphosis rates to protozoa I, it could not be considered ideal for nauplii metamorphosis, because the best larval quality occurred at the highest level of the tested interval. The aeration intensity, although had permitted the metamorphosis of nauplii with high rates and good larval quality, requires deeper studies to estimate its ideal range for metamorphosis.

**Key-words:** 1.nauplii, 2.metamorphosis rate, 3.larval quality, 4.light intensity, 5.aeration, 6.*Litopenaeus vannamei*.

## INTRODUÇÃO

Por muitos anos, a indústria da carcinicultura geralmente preferiu pós-larvas capturadas no ambiente natural em vez das produzidas em laboratório. Mas, a partir dos anos 90, as doenças causadas por vírus em camarões forçaram a indústria a se tornar mais dependente das pós-larvas produzidas em cativeiro, além de adotar medidas de biossegurança e buscar mais estreitamente o aperfeiçoamento da domesticação das espécies (Treece, 2000). A produção de larvas proveniente da maturação de peneídeos em cativeiro representa uma das estratégias mais importantes para a atividade de cultivo de camarão (Racotta et al., 2003).

Os estágios iniciais de desenvolvimento são a fase mais sensível no complexo ciclo de vida dos invertebrados marinhos e, para maximizar suas sobrevivências, as larvas devem ser cultivadas próximo das condições ótimas (Zacharia e Kakati, 2004). Por isso, estudos a respeito das condições ótimas durante os estágios larvais iniciais são de extrema importância para a determinação dos protocolos de cultivo das espécies de peneídeos comercialmente importantes.

A taxa de desenvolvimento durante o estágio de náuplio é principalmente influenciada por fatores abióticos, já que a larva depende das fontes de energia internas para sobreviver antes de sofrer a metamorfose para protozoeca I, fase na qual inicia a alimentação exógena. (Chen e Chen, 2002; Zacharia e Kakati, 2004).

A luz é um dos principais fatores que influenciam no comportamento natatório e alimentar em larvas de decápodes (Sulkin, 1984). Mudanças na sobrevivência e desenvolvimento sob diferentes regimes de iluminação são frequentemente atribuídas a efeitos na alimentação. No entanto, a luminosidade pode influenciar outros aspectos do comportamento e fisiologia, incluindo: atividade natatória e assim, metabolismo, canibalismo, processos fisiológicos do ciclo cicardiano, iniciação da ecdise e metamorfose (Gardner e Maguire, 1998).

Com *Litopenaeus vannamei*, Olin e Fast (1988) avaliaram o efeito do espectro e da intensidade de luz no crescimento e sobrevivência durante o estágio larval, aplicando luzes de cor branca, azul, vermelha e verde, além da escuridão total. No entanto, a maior parte dos estudos realizados a respeito do efeito da luminosidade em camarões peneídeos se concentra em juvenis (Al-Ablani e Farmer, 1986; Wang et al., 2003; Hoang et al., 2003; Wang et al., 2004) e reprodutores (Emmerson et al., 1983; Primavera e Cabalero, 1992; Hoang et al., 2002), havendo uma carência por estudos a respeito dos efeitos da intensidade de luz sobre os estágios larvais iniciais.

Por outro lado, o efeito da intensidade luminosa tem sido estudado em larvas de outras espécies de crustáceos. Gardner e Maguire (1998) avaliaram os efeitos do fotoperíodo e intensidade luminosa sobre o desenvolvimento de larvas do caranguejo *Pseudocarcinus gigas*. Araújo e Valenti (2005) investigaram o efeito de quatro intensidades luminosas na sobrevivência, ganho de peso, produtividade e desenvolvimento de larvas recém-eclodidas do camarão de água doce *Macrobrachium amazonicum*. Com larvas da lagosta *Jasus edwardsii* foram avaliados os efeitos da intensidade luminosa e densidade de alimento no crescimento e sobrevivência larval (Moss et al., 1999). E, com larvas desta mesma espécie de lagosta, Bermudes et al. (2008) avaliaram a influência da luz na atividade natatória de larvas recém eclodidas.

Com relação ao fator intensidade de aeração, existem poucos estudos publicados avaliando os efeitos da turbulência provocada por diferentes intensidades de borbulhas na sobrevivência e desenvolvimento de larvas de crustáceos, sobretudo de camarões peneídeos. A maior parte dos trabalhos disponíveis trata dos efeitos da turbulência sobre larvas de peixes marinhos. Com larvas da lagosta *Jasus edwardsii*, Smith e Ritar (2006) avaliaram os efeitos de diferentes níveis de turbulência provocados pela intensidade do fluxo de renovação da água sobre o crescimento e sobrevivência das larvas.

A aeração é essencial durante todo o processo de cultivo larval, para manter uma concentração suficiente de oxigênio dissolvido na água, assegurar a homogeneidade da temperatura por todo o tanque através da turbulência produzida e também para ajudar a reduzir a quantidade de amônia na água (Kungvankij et al., 1985). De acordo com Smith e Ritar (2006), as principais razões para manter as larvas cultivadas dispersas na coluna d'água são evitar o contato com os detritos do fundo e minimizar o contato direto entre as larvas.

Nos tanques de larvicultura do LCM (Laboratório de Camarões Marinhos – UFSC) é aplicada uma intensidade de aeração reduzida durante a metamorfose dos náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I. Isto, porque os náuplios são larvas mais frágeis e uma turbulência mais forte da água poderia induzir um maior contato das larvas com as borbulhas e paredes do tanque, interferindo no sucesso da metamorfose (Belettini, LCM-UFSC, comunicação pessoal).

A partir destas informações, o presente estudo visa estimar as faixas ótimas destes fatores ambientais a serem empregados nos tanques de larvicultura durante a metamorfose dos náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I, que proporcionariam as porcentagens de metamorfose máximas possíveis.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram executados no Laboratório de Camarões Marinhos – UFSC, localizado em Florianópolis, Santa Catarina, nos meses de abril e setembro de 2006. Foram utilizados náuplios no estágio de NIII/NIV, coletados nos tanques de incubação do setor de maturação do LCM, entre 8 e 10 horas após a eclosão. Os náuplios foram oriundos de ovos de múltiplas desovas e incubados sob as mesmas condições ambientais, as quais são praticadas rotineiramente na atividade de produção do setor de maturação do LCM. O procedimento aplicado foi o mesmo empregado pelo setor para a coleta dos náuplios a serem transferidos para o setor de larvicultura. A aeração era desligada e a incubadora era escurecida com uma tampa, sendo acesa uma lâmpada de 12 W no orifício contido no centro da tampa. Como apresentam fototaxia positiva, os náuplios migram em direção ao foco luminoso, formando “nuvens” sob a luz. Após um tempo de migração de 10 a 15 minutos, os náuplios concentrados sob a luz eram coletados e transferidos para o recipiente de aclimação. Uma amostra destes náuplios era submetida a uma avaliação de sua qualidade, através da observação de um número entre 30 e 50 indivíduos sob um microscópio óptico. A esta amostra era atribuída uma pontuação de acordo com a adequação dos náuplios a sete características pré-estabelecidas para qualificação dos náuplios, extraídas da tabela empregada na larvicultura do LCM para avaliação dos náuplios antes do povoamento. Estas características foram: atividade natatória,

coloração, expansão dos cromatóforos, reserva de lipídeos, fototaxia, deformidades e grau de partículas aderidas.

Os náuplios utilizados nos experimentos foram provenientes de um “pool” das desovas diárias da maturação do LCM. Ou seja, foram coletados ao acaso, náuplios de todas as fêmeas que haviam desovado na noite anterior (entre 30 e 60 fêmeas). Por isso, o mesmo experimento (com duração de três dias) foi repetido no tempo por cinco vezes para o experimento de aeração e seis vezes para intensidade luminosa, utilizando diferentes desovas, a fim de eliminar a interferência de possíveis diferenças genéticas entre os náuplios utilizados nos testes.

### **Experimento de Intensidade Luminosa**

Os tratamentos foram compostos por três intensidades luminosas contínuas (5.000, 10.000 e 15.000 lux) e escuridão contínua (0 lux). O intervalo de luminosidades foi definido com base na intensidade média registrada na larvicultura do LCM. O tratamento com escuridão total foi baseado na condição aplicada aos náuplios no setor de maturação, antes da transferência para a larvicultura.

Como unidades experimentais (UEs) foram utilizadas garrafas plásticas com volume útil de 1L. Estas foram pintadas externamente de preto, de modo que a luminosidade no seu interior penetrasse apenas pela superfície, impedindo a interferência de luz pelas suas laterais e fundo. As UEs foram colocadas em banho-maria dentro de uma caixa de poliuretano preta (80 x 80 x 50 cm), contendo água doce até um nível em que as garrafas permanecessem estáveis. Esta caixa foi dividida em quatro compartimentos por divisórias de plástico preto, nos quais foram dispostas as três repetições de cada tratamento. A temperatura da água foi mantida em 29°C ( $\pm 0,2^\circ\text{C}$ ) através de quatro aquecedores elétricos de 50 W controlados por termostato. Junto de cada aquecedor foi colocada uma pedra porosa de aeração, a fim de propiciar uma distribuição uniforme da água aquecida entre os compartimentos da caixa. Dentro de cada UE foi aplicada uma intensidade de aeração moderada.

As diferentes intensidades luminosas foram obtidas através do uso de lâmpadas fluorescentes compactas de 26 W, colocadas dentro de luminárias para permitir um maior aproveitamento e direcionamento da luminosidade produzida pela lâmpada. Para obter as intensidades desejadas, variou-se o tipo de luminária ou distância desta à superfície da água. Nos tratamentos com 5.000 lux e 10.000 lux foi colocada uma luminária contendo uma única lâmpada sobre cada UE, distanciadas da superfície da água de aproximadamente 15 cm e 8 cm, respectivamente. As três repetições do tratamento com 15.000 lux foram iluminadas pela mesma luminária, contendo quatro lâmpadas, disposta a aproximadamente 10 cm das UEs. No tratamento de escuridão contínua não foi colocada nenhuma luminária e, para evitar a intervenção da luminosidade dos outros tratamentos por cima das divisórias, foi colocada uma cobertura do mesmo material acima das UEs.

Antes do povoamento das UEs, os náuplios eram aclimatados à salinidade do experimento. Esta variou de 31 a 32‰ nas seis repetições do experimento realizadas no tempo, pois era a salinidade da água do mar que estava sendo bombeada pelo laboratório no dia. Para a aclimação se utilizou um recipiente com volume de cerca de 8L. Este aclimatador continha inicialmente água na

mesma salinidade e temperatura do tanque de incubação onde estavam os náuplios. Durante o processo, era adicionada ao aclimatador água na salinidade em que seria realizado o experimento, numa vazão que propiciasse uma taxa de aclimação de 2‰/hora. A temperatura foi mantida em 29°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) durante todo o processo.

Após a aclimação, os náuplios eram contados utilizando uma pipeta de vidro transparente de 10 mL, visualizada sob uma lâmpada. Eram colocados 300 náuplios em cada UE, proporcionando uma densidade de 300 náuplios por litro, que é em média, a utilizada nas larviculturas em grande escala. Após o povoamento, as lâmpadas eram acesas e a intensidade luminosa dos tratamentos era conferida por meio de um luxímetro, sendo ajustada através do posicionamento das garrafas sob as luminárias.

Entre 16 e 17 horas após o início do experimento, eram adicionadas microalgas da espécie *Chaetoceros muellerie*, provenientes do cepário do setor de microalgas do laboratório. Foi empregada uma densidade de  $2 \times 10^4$  células/mL, a fim de facilitar a medição do parâmetro taxa de virada. As microalgas eram adicionadas no fim do estágio de NV, aproximadamente 15 horas antes do fim do experimento, a fim de reduzir o período em que estariam submetidas à escuridão contínua de um dos tratamentos e às três diferentes intensidades luminosas dos demais. Essa diferença poderia afetar o seu crescimento, interferindo nos resultados do teste.

O experimento era encerrado entre 31 e 33 horas após o povoamento, sendo realizada a contagem das protozoas contidas em cada UE, para determinar a taxa de metamorfose dos náuplios inicialmente estocados. Durante a contagem era separada uma amostra de larvas de cada unidade experimental, para a posterior avaliação da qualidade das larvas. Para cada amostra, esta avaliação foi efetuada através da observação do comportamento das larvas no recipiente da amostra sob uma lâmpada e da análise de 15 a 30 larvas sob um microscópio óptico, sendo atribuída uma pontuação de acordo com a adequação a 11 características pré-estabelecidas para a qualificação das larvas. As características foram: taxa de virada, atividade natatória, fototaxia, reserva de lipídeos no hepatopâncreas, coloração do hepatopâncreas, conteúdo intestinal, presença de cordões fecais, deformidades, epibiontes, necroses e grau de partículas aderidas. Estes parâmetros foram extraídos da tabela utilizada para avaliação das larvas no estágio de protozoa I no setor de larvicultura do LCM.

### **Experimento de Intensidade de Aeração**

Os tratamentos foram compostos por quatro diferentes intensidades de aeração: estático (sem aeração), aeração fraca, média e forte. Os diferentes níveis eram ajustados visualmente em função da intensidade de borbulhas promovida pelas pedras porosas de aeração. Estas pedras de aeração estavam conectadas ao sistema de ar atmosférico sob pressão do laboratório, através de divisores de ar (nos quais os fluxos eram regulados). Nas UEs do tratamento estático não foram colocadas pedras de aeração.

As UEs utilizadas foram garrafas plásticas transparentes, com volume útil de 1L, colocadas em banho-maria numa caixa de poliuretano preta, semelhante à utilizada no experimento de

intensidade luminosa. A temperatura da água foi mantida em 29°C ( $\pm 0,2^\circ\text{C}$ ) através de dois aquecedores elétricos de vidro de 100 W, controlados por um mesmo termostato.

Cada tratamento foi composto por três repetições, sendo as UEs distribuídas ao acaso na parte central da caixa do banho-maria. Sobre a caixa foi pendurada uma luminária contendo uma lâmpada fluorescente compacta de 26 W. A distância entre a luminária e o nível da superfície da água das UEs foi de cerca de 80 cm, proporcionando uma intensidade luminosa de aproximadamente 300 lux. O regime de fotoperíodo aplicado foi de 12L/ 12E (12 horas de luz e 12 horas de escuro).

Para a aclimação dos náuplios à salinidade do experimento, que foi de 33‰ nas cinco repetições realizadas no tempo, assim como para a contagem dos náuplios e povoamento das UEs, foram empregados os mesmos procedimentos já descritos para o experimento de intensidade luminosa.

Entre 13 e 14 horas após o início do experimento, eram adicionadas microalgas da espécie *Chaetoceros muellerie*, provenientes do cepário do setor de microalgas do laboratório. Foi empregada uma densidade de  $2 \times 10^4$  células/mL, a fim de facilitar a medição do parâmetro taxa de virada.

O experimento era encerrado entre 32 e 33 horas após o povoamento. Para a avaliação da taxa de metamorfose e qualidade das larvas, aplicou-se o mesmo procedimento e parâmetros de classificação descritos para o experimento de intensidade luminosa.

### **Análise estatística**

Os modelos de regressão linear com os dados de taxa de metamorfose e qualidade das larvas dos diferentes “pools” de cada experimento e, a comparação entre as inclinações dos “pools” relativos ao mesmo experimento, foram executados através do programa estatístico PRISM 4.0. Antes das análises estatísticas, os dados de sobrevivência e qualidade foram submetidos às transformações do arco seno e da raiz quadrada (Steel & Torrie, 1980), respectivamente.

## **RESULTADOS**

### **Experimento de intensidade luminosa**

Os valores de taxa de metamorfose (%) obtidos em cada tratamento (média de três repetições), nos diferentes “pools” que formaram o experimento, podem ser visualizados na tabela 1A. Como todos os “pools” do experimento apresentaram um valor de coeficiente de regressão ( $\beta$ ) não significativamente diferente de zero ( $p > 0,05$ ), não houve relação de regressão entre a taxa de metamorfose e a faixa de intensidade de luz aplicada. Os modelos de regressão destes dados são apresentados no gráfico 1A, com os valores de taxa de metamorfose (transformados através do arco seno) em função dos níveis de intensidade luminosa testados.

Tabela 1A – Experimento de Intensidade Luminosa – Taxa de metamorfose  $\pm$  desvio padrão (%) (n=3)

Intens. Luz	0 lux (escuro)	5.000 lux (fraco)	10.000 lux (médio)	15.000 lux (forte)	$\beta$ signif $\neq$ de zero? ( $p < 0,05$ )
Pool 1	99,33 $\pm$ 1,33	95,77 $\pm$ 4,48	97,33 $\pm$ 1,46	95,99 $\pm$ 4,33	Não
Pool 2	90,99 $\pm$ 10,97	97,99 $\pm$ 1,77	100,32 $\pm$ 1,53	98,77 $\pm$ 0,39	Não
Pool 3	98,21 $\pm$ 2,88	98,55 $\pm$ 1,71	97,21 $\pm$ 0,77	93,88 $\pm$ 5,74	Não
Pool 4	99,44 $\pm$ 0,51	99,33 $\pm$ 1,46	99,00 $\pm$ 1,00	97,77 $\pm$ 0,77	Não
Pool 5	97,55 $\pm$ 1,35	99,33 $\pm$ 1,53	98,99 $\pm$ 0,67	96,99 $\pm$ 1,86	Não
Pool 6	96,66 $\pm$ 4,37	99,10 $\pm$ 1,57	98,77 $\pm$ 1,35	97,88 $\pm$ 1,50	Não

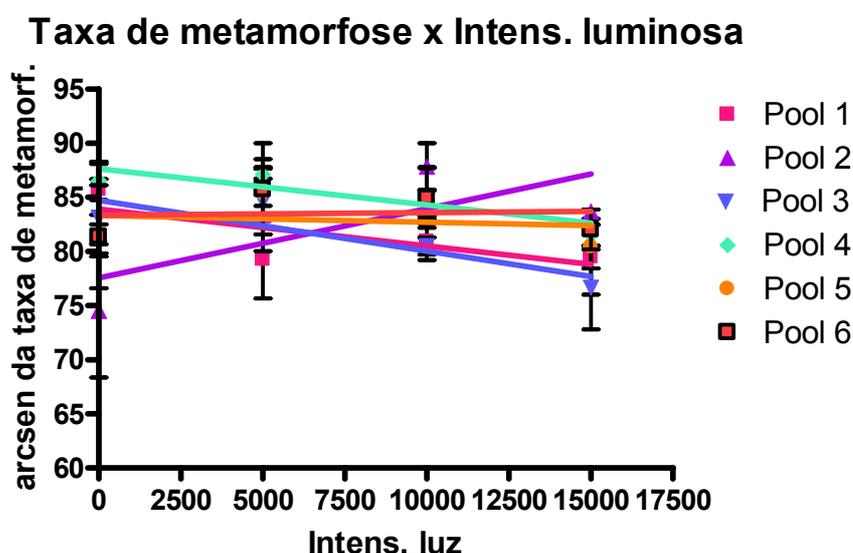


Gráfico 1A – Modelos de regressão para a taxa de metamorfose (dados transformados) – Experimento de Intensidade Luminosa

Por outro lado, a qualidade das larvas apresentou uma relação de regressão linear positiva com a intensidade luminosa aplicada. Ou seja, a pontuação da qualidade aumentou linearmente com o aumento da intensidade de luz, dentro da faixa de valores testada. Na tabela 1B são mostrados os dados de pontuação da qualidade das larvas obtidos para cada tratamento (média de três repetições) nos “pools” deste experimento. Houve relação de regressão porque a maioria dos “pools” (quatro de seis) apresentou um valor de  $\beta$  significativamente diferente de zero ( $p < 0,05$ ). Os modelos de regressão desses dados são exibidos no gráfico 1B, com os valores de pontuação da qualidade das larvas (transformados através da raiz quadrada) em função dos níveis de intensidade luminosa testados.

Como as diferenças entre as inclinações dos diferentes “pools” não foram significativas ( $p > 0,05$ ), foi possível calcular um único coeficiente de regressão ( $\beta$ ), de  $4,292 \times 10^{-5}$ , para representar a todos simultaneamente. No entanto, como os valores de  $\alpha$  (interceptação da reta de regressão com o eixo Y) diferiram significativamente entre os “pools” deste experimento ( $p < 0,01$ ), não pôde ser estabelecida uma única equação de regressão para representar a todos. Desse modo, as equações

dos modelos em que houve relação e os valores dos seus coeficientes de determinação ( $r^2$ ), podem ser visualizados na tabela e gráfico 1B.

Tabela 1B – Experimento de Intensidade Luminosa – Pontuação da qualidade das larvas  $\pm$  desvio padrão (score) (n=3)

Inten Luz	0 lux (escuro)	5.000 lux (fraco)	10.000 lux (médio)	15.000 lux (forte)	$\beta$ signif $\neq$ de zero? ( $p < 0,05$ )	Equação de regressão ( $Y = \alpha + \beta X$ )	$r^2$
Pool 1	86,66 $\pm$ 10,41	98,33 $\pm$ 10,41	98,33 $\pm$ 10,41	103,33 $\pm$ 2,89	sim	9,43+0,000052X	0,34
Pool 2	105,00 $\pm$ 0,00	116,66 $\pm$ 2,89	111,66 $\pm$ 5,77	118,33 $\pm$ 2,89	sim	10,37+0,000033X	0,43
Pool 3	103,33 $\pm$ 2,89	98,33 $\pm$ 7,64	106,66 $\pm$ 7,64	100,00 $\pm$ 13,23	não	-	-
Pool 4	83,33 $\pm$ 7,64	93,33 $\pm$ 7,64	98,33 $\pm$ 7,64	98,33 $\pm$ 16,07	não	-	-
Pool 5	85,00 $\pm$ 5,00	101,66 $\pm$ 5,77	101,66 $\pm$ 5,77	110,00 $\pm$ 5,00	sim	9,40+0,000076X	0,69
Pool 6	95,00 $\pm$ 5,00	108,33 $\pm$ 2,89	106,66 $\pm$ 10,41	111,66 $\pm$ 7,64	sim	9,90+0,000047X	0,40

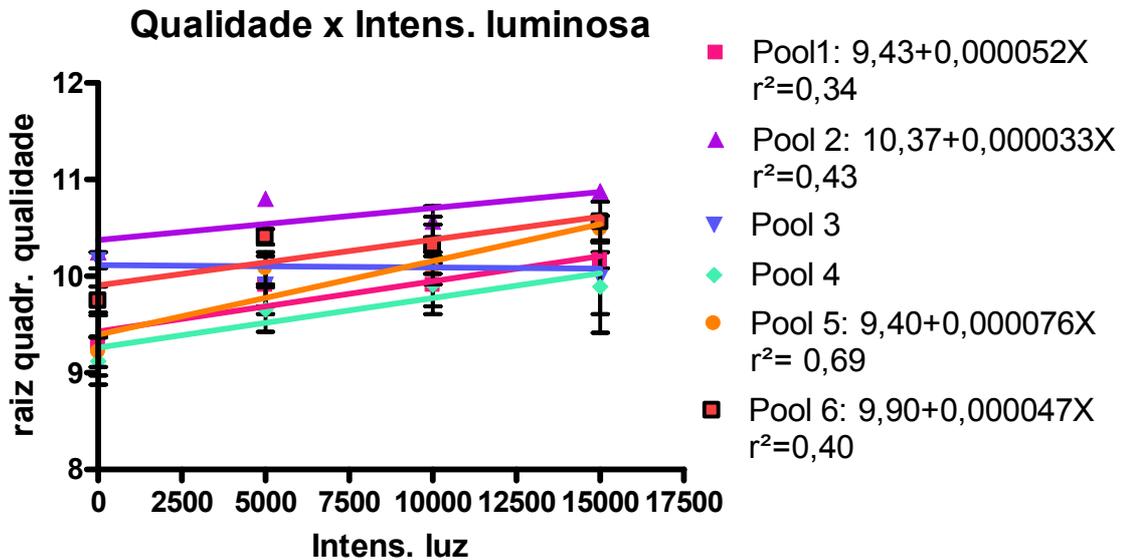


Gráfico 1B – Modelos de regressão para a qualidade das larvas (dados transformados) – Experimento de Intensidade Luminosa

### Experimento de intensidade de aeração

As taxas de metamorfose (%) obtidas em cada tratamento (média de três repetições), nos “pools” que formaram este experimento, podem ser visualizadas na tabela 2A. Como os valores do  $\beta$  não foram significativamente diferentes de zero ( $p > 0,05$ ), não foi verificada relação de regressão entre a taxa de metamorfose e os níveis de intensidade de borbulhas testados. No gráfico 2A estão representados os modelos de regressão destes dados, com os valores de taxa de metamorfose (transformados através do arco seno) em função das intensidades de aeração testadas.

Tabela 2A – Experimento de Intensidade de Aeração – Taxa de metamorfose  $\pm$  desvio padrão (%) (n=3)

Intens. de Aeração	0 (estático)	1 (fraco)	2 (médio)	3 (forte)	$\beta$ signif $\neq$ de zero? (p<0,05)
Pool 1	98,44 $\pm$ 0,96	98,33 $\pm$ 1,00	98,77 $\pm$ 0,69	96,22 $\pm$ 3,47	não
Pool 2	99,33 $\pm$ 1,34	99,33 $\pm$ 2,73	99,22 $\pm$ 0,39	98,44 $\pm$ 2,99	não
Pool 3	99,00 $\pm$ 2,90	100,89 $\pm$ 2,11	99,11 $\pm$ 1,65	99,44 $\pm$ 1,95	não
Pool 4	98,44 $\pm$ 4,73	95,89 $\pm$ 7,71	98,00 $\pm$ 2,41	95,66 $\pm$ 4,37	não
Pool 5	97,33 $\pm$ 1,73	100,44 $\pm$ 3,02	98,77 $\pm$ 5,01	98,55 $\pm$ 1,83	não

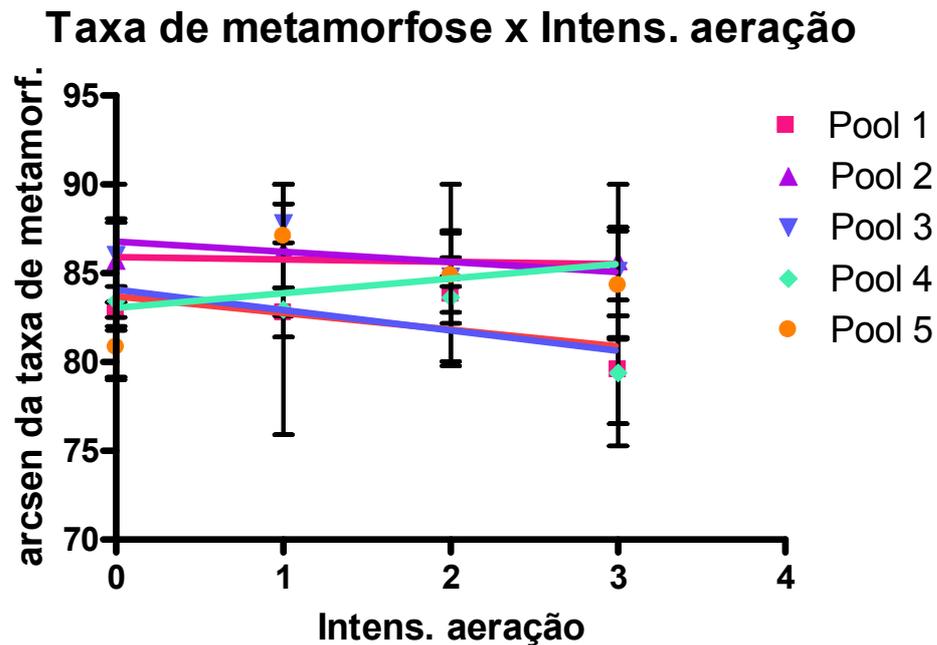


Gráfico 2A - Modelos de regressão para a taxa de metamorfose (dados transformados) – Experimento de Intensidade de Aeração

A tabela 2B mostra os resultados de pontuação da qualidade das larvas verificados em cada tratamento (média de três repetições). Como o valor do coeficiente de determinação ( $\beta$ ) não foi significativamente diferente de zero em todos os “pools” do experimento ( $p > 0,05$ ), não houve relação de regressão entre a qualidade das larvas e a intensidade de aeração aplicada. Os modelos de regressão destes dados são apresentados no gráfico 2B, com os valores de pontuação da qualidade das larvas (transformados através da raiz quadrada) em função dos níveis de aeração testados.

Tabela 2B – Experimento de Intensidade de Aeração – Pontuação da qualidade das larvas  $\pm$  desvio padrão (score) (n=3)

Intens. de Aeração	0 (estático)	1 (fraco)	2 (médio)	3 (forte)	$\beta$ signif $\neq$ de zero? ( $p < 0,05$ )
Pool 1	110,00 $\pm$ 8,66	53,33 $\pm$ 2,89	53,33 $\pm$ 2,89	101,66 $\pm$ 7,64	não
Pool 2	110,00 $\pm$ 10,00	113,33 $\pm$ 7,64	110,00 $\pm$ 5,00	110,00 $\pm$ 5,00	não
Pool 3	83,33 $\pm$ 20,82	55,00 $\pm$ 5,00	105,00 $\pm$ 8,66	106,66 $\pm$ 2,89	não
Pool 4	90,00 $\pm$ 13,23	60,00 $\pm$ 10,00	96,66 $\pm$ 12,58	78,33 $\pm$ 7,64	não
Pool 5	86,66 $\pm$ 10,41	76,66 $\pm$ 27,54	98,33 $\pm$ 2,89	90,00 $\pm$ 5,00	não

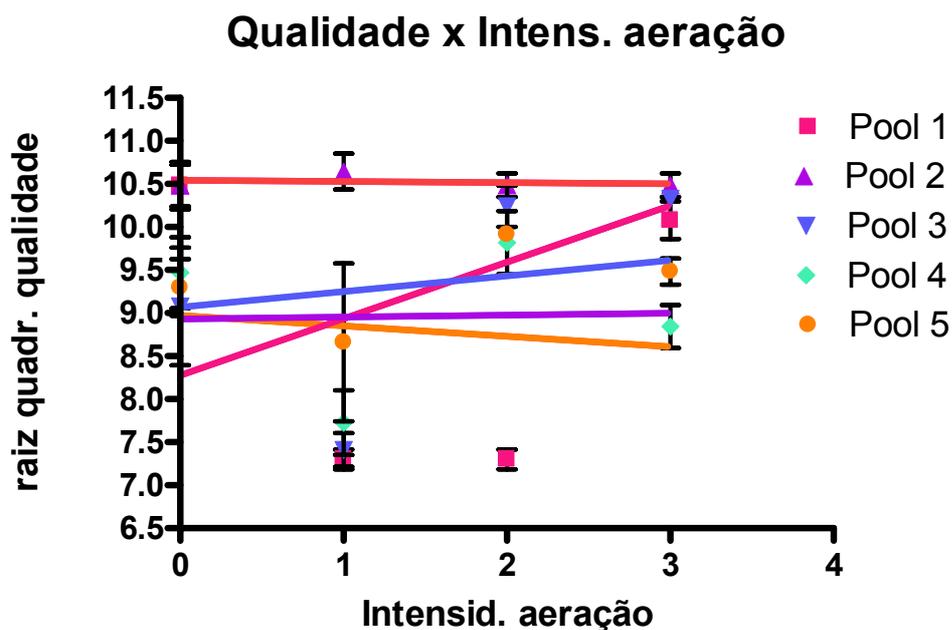


Gráfico 2B – Modelos de regressão para a qualidade das larvas (dados transformados) – Experimento de Intensidade de Aeração

## DISCUSSÃO

### Experimento de Intensidade Luminosa

De acordo com os resultados do presente trabalho, a taxa de metamorfose dos náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa não foi influenciada pela intensidade luminosa, dentro da faixa de 0 a 15.000 lux. As porcentagens obtidas foram relativamente altas e uniformes, acima de 90%, independentemente do tratamento aplicado. Isto indica que as larvas foram capazes de efetuar com sucesso a transição do estágio com alimentação endógena (náuplio) para a fase com alimentação a partir do meio de cultivo, tanto sob condição de escuridão total, quanto nas diferentes intensidades luminosas aplicadas. Resultados semelhantes foram obtidos em estudos com larvas de outras espécies de crustáceos. Gardner e Maguire (1998) não verificaram efeito das intensidades luminosas de 2 e 500 lux na sobrevivência de larvas do caranguejo *Pseudocarcinus gigas*. Porém, os autores destacaram que maiores pesquisas são requeridas para esclarecer o efeito da intensidade de luz na sobrevivência larval, principalmente com intensidades maiores do que as testadas no experimento. Larvas de *Macrobrachium amazonicum* entre os estágios de protozoa I e pós-larva, não exibiram diferenças significativas na sobrevivência sob intensidades luminosas de aproximadamente 140 lux, 270 lux, 400 lux e escuridão total (Araújo e Valenti, 2005). E, com juvenis de *Penaeus merguensis*, também não foram verificadas diferenças significativas na sobrevivência sob intensidades de 75 e 750 lux (Hoang et al., 2003).

Por outro lado, a influência da luminosidade na sobrevivência de peneídeos já foi verificada em diferentes estágios do ciclo de desenvolvimento. Olin e Fast (1992) observaram que larvas de *Litopenaeus vannamei* submetidas a luzes de diferentes cores exibiram a maior taxa de sobrevivência sob luz verde (69%) e a menor sob escuridão total (32%). E, com juvenis de *Penaeus semisulcatus*, Al-Ablani e Farmer (1986) verificaram que a sobrevivência diminuiu com a redução da intensidade de luz, determinando como ótima para o cultivo de juvenis da espécie a faixa de 23.000 a 32.000 lux.

Apesar de não ter interferido na taxa de metamorfose, a condição de luz exerceu uma influência significativa sobre a qualidade das protozoas. Foi verificado um aumento da pontuação da qualidade das larvas em função do aumento da intensidade de luz aplicada, dentro da faixa de valores de 0 a 15.000 lux. Porém, suspeita-se que esta maior pontuação da qualidade tenha sido influenciada pela maior densidade de microalgas na água de cultivo, pois o crescimento das microalgas teria sido estimulado pelo aumento da intensidade luminosa. De acordo com Kraul (1983), a alta intensidade luminosa pode aumentar grandemente a produção de algas e zooplâncton no tanque de cultivo e, assim, aumentar a sobrevivência de larvas de peixes. De forma semelhante, num meio com maior disponibilidade de alimento, as protozoas teriam se alimentado mais, o que poderia ter influenciado itens como coloração do hepatopâncreas, nível de preenchimento intestinal e presença de cordões fecais, presentes na tabela utilizada para a avaliação da qualidade das larvas. Seguindo esta suspeita, a influência positiva do aumento da intensidade de luz na qualidade das larvas teria ocorrido de forma indireta, ou secundária, agindo primeiramente sobre as microalgas e não influenciando diretamente o comportamento das larvas.

No entanto, não se deve desconsiderar a hipótese de que a presença de larvas com uma coloração do hepatopâncreas mais escura e intestino mais cheio, indicando uma maior taxa de alimentação, tenha ocorrido em função de um estímulo à alimentação causado pela maior luminosidade. Por isso, a contagem da densidade de microalgas em cada tratamento teria sido fundamental para esclarecer este resultado verificado na qualidade das larvas do presente estudo.

Alguns estudos já comprovaram o efeito da intensidade luminosa diretamente sobre a atividade natatória e metabolismo de crustáceos, em diferentes fases do ciclo de vida. Gardner e Maguire (1998) observaram que larvas do caranguejo *Pseudocarcinus gigas* se mostraram consideravelmente mais ativas sob condição de escuro, concluindo que este maior dispêndio de energia pode ter resultado no menor tamanho das larvas submetidas à condição de escuridão contínua. Entre os estudos com peneídeos, Matthews et al. (1992) observaram que a atividade natatória de pós-larvas de *Penaeus aztecus* aumenta com a redução da intensidade luminosa aplicada e diminui em resposta ao seu aumento. De forma semelhante, juvenis de *Penaeus merguensis* exibiram menor motilidade sob intensidade luminosa de 750 lux do que sob 75 lux (Hoang et al., 2003). Pontes et al. (2006), com juvenis de *Litopenaeus vannamei*, observaram uma maior frequência de atividade natatória na fase de escuro (1 lux) do que na fase com iluminação (57 lux), bem como uma maior ocorrência de camarões inativos sob condição de luminosidade. E, num estudo com juvenis de *Fenneropenaeus chinensis*, Wang et al. (2004) verificaram que os camarões submetidos à intensidade luminosa mais alta aplicada (5.500 lux), gastaram muito mais energia em respiração, excreção e exúvias, destinando menos energia para o crescimento. Ao contrário, os camarões submetidos aos tratamentos com intensidades luminosas menores (0, 50, 300 e 1.300 lux) destinaram mais energia para o crescimento e gastaram menos em respiração e excreção.

Um outro fator que poderia interferir na atividade natatória e, conseqüentemente no gasto energético, de larvas mantidas sob condições de luminosidade crescentes é a fototaxia que as larvas apresentam nos estágios iniciais do ciclo de desenvolvimento. Bermudes et al. (2008) testaram o efeito da intensidade de luz na atividade natatória de larvas recém eclodidas da lagosta *Jasus edwardsii*, que apresentam uma forte fototaxia positiva. Foi observado que a velocidade de natação das larvas em direção a uma fonte luminosa aumentou logaritmicamente com o aumento da intensidade de luz, tendendo ao máximo na maior intensidade aplicada. Os autores destacaram que esta influência da luminosidade na atividade natatória das larvas pode ter implicações energéticas, como redução do crescimento e sobrevivência em condições de maior luminosidade. Isto foi verificado num estudo realizado por Moss et al. (1999), com a mesma espécie de lagosta, no qual as larvas exibiram maior crescimento em baixa intensidade de luz no que nas intensidades mais altas testadas. Como não obtiveram efeito da intensidade luminosa na taxa de ingestão de alimento, os autores concluíram que as maiores taxas de crescimento observadas sob baixa luminosidade poderiam primariamente ser explicadas pelo maior gasto de energia induzido pelo aumento da intensidade luminosa. De acordo com Andreatta e Beltrame (2004), durante a fase naupliar as larvas de camarões apresentam um fototaxismo positivo muito importante, relacionado às camadas superficiais do mar, onde há uma maior abundância de fitoplâncton, que constitui o alimento fundamental para as larvas no estágio de protozoa. No entanto, tais feitos do aumento da

luminosidade no desempenho das larvas através da sua fototaxia, verificados com as larvas de *Jasus edwardsii*, não foram confirmados com as larvas de *Litopenaeus vannamei* no presente estudo. Isto, porque não foram obtidas diferenças significativas nas porcentagens de metamorfose dos náuplios submetidos às diferentes intensidades de luz testadas.

Desse modo, o fator intensidade de luz exige maiores estudos, a fim de esclarecer seus efeitos indiretos na qualidade das protozoelas e buscar suas possíveis influências diretamente no comportamento das larvas. No entanto, as microalgas são indispensáveis no tanque de cultivo na fase de metamorfose dos náuplios para protozoela I, quando iniciam a alimentação exógena (primeiramente herbívora). Portanto, o resultado verificado na qualidade das larvas com o aumento da luminosidade no presente experimento, mesmo que indireto, é extremamente desejável no cultivo de larvas, evidenciando uma vantagem da aplicação de uma maior intensidade de luz nos tanques de larvicultura nesta fase do desenvolvimento larval.

### **Experimento de Intensidade de Aeração**

A maior parte dos trabalhos publicados avaliando a influência de diferentes intensidades de aeração na sobrevivência e desenvolvimento de larvas de organismos aquáticos se concentra em peixes marinhos. Existe uma carência por estudos avaliando os efeitos deste fator sobre larvas de crustáceos, principalmente de camarões peneídeos. E, mesmo entre os trabalhos realizados com larvas de peixes, conforme Mangino e Watanabe (2006), comparações precisas são difíceis de serem realizadas, em função das variações entre as condições experimentais aplicadas, particularmente no tamanho e configuração do tanque.

No presente experimento, os diferentes níveis de intensidade de borbulhas aplicados (de estático a aeração forte) não exerceram uma influência significativa na taxa de metamorfose e qualidade de larvas de *Litopenaeus vannamei*. Foram obtidas taxas de metamorfose relativamente altas e uniformes, acima de 95% em todos os tratamentos e repetições do experimento realizadas no tempo. De forma semelhante, a sobrevivência de larvas da lagosta *Jasus edwardsii* não foi significativamente influenciada pelas turbulências produzidas por duas velocidades de fluxo de renovação de água (lento e rápido), mas houve influência no crescimento das larvas, sendo que os melhores resultados foram verificados sob a velocidade de fluxo lenta (Smith e Ritar, 2006).

Apesar de a condição estática testada no experimento não ter interferido nos resultados de taxa de virada e qualidade das larvas, indicando que o sucesso da metamorfose dos náuplios independe da movimentação da água de cultivo, não significa que a aeração possa deixar de ser aplicada nos tanques de larvicultura. Isto porque a aeração propicia a circulação da água dentro do tanque, impedindo o acúmulo de matéria orgânica e resíduos metabólicos, mantém as células de microalgas e partículas alimentares em suspensão, além de oxigenar a água de cultivo, gerando uma desejável condição de aerobiose dentro do tanque.

Na fase de pré-testes deste experimento, foram medidos os níveis de saturação do oxigênio nas unidades experimentais de todos os tratamentos, a fim de verificar possíveis interferências dos níveis de oxigênio dissolvido (promovido pelas diferentes intensidades de borbulhas aplicadas) nos

resultados do experimento. Isto poderia mascarar os efeitos físicos das borbulhas e da turbulência da água no desempenho das larvas, que se desejava testar. No momento correspondente ao fim do experimento, registrou-se um valor de saturação do OD significativamente menor no tratamento estático, em relação aos demais tratamentos com aeração (entre os quais não houve diferenças significativas). Porém, essa diferença de níveis de OD não interferiu nos resultados de taxa de metamorfose e qualidade das larvas do experimento. Isto, possivelmente porque os valores registrados em todos os tratamentos estavam dentro dos níveis recomendados, inclusive no tratamento estático.

A partir dos resultados de taxa de metamorfose e qualidade das larvas obtidos no presente estudo, observou-se que a mudança de estágio dos náuplios não foi prejudicada pela turbulência produzida pela intensidade de aeração forte. Desse modo, poder-se-ia concluir que a fase de metamorfose dos náuplios para protozoa não exige a aplicação de uma intensidade de aeração reduzida ao tanque de larvicultura, mesmo se considerando que os náuplios são larvas frágeis e que seu contato com as bolhas de ar ou paredes do tanque poderia alterar a normalidade da metamorfose. Smith e Ritar (2006), ao submeterem larvas da lagosta *Jasus edwardsii* a um fluxo de renovação de água rápido, observaram a ocorrência de 10 a 20% de larvas com deformidades após a metamorfose, as quais, no entanto, não afetaram a sobrevivência das larvas. Similarmente, com larvas de peixes, Ellis et al. (1997) destacaram que a alta turbulência da água pode aumentar o contato das larvas com as paredes do tanque e fluxo de aeração central, causando danos às larvas. No entanto, tais efeitos da alta turbulência da água não se comprovaram com as larvas de *Litopenaeus vannamei*.

Por outro lado, nos tratamentos com intensidades de borbulhas fraca (principalmente) e média, verificou-se a ocorrência de larvas paradas, com atividade natatória lenta ou dispersas no fundo do recipiente da amostra. Este comportamento anormal não interferiu nos resultados de taxa de metamorfose e qualidade das larvas, mas poderia afetar seu desempenho durante os estágios seguintes do cultivo larval. O motivo que causou tal comportamento lento nos tratamentos com intensidades de aeração fraca e média e, a observação de larvas mais ativas nas condições estática e forte, não foi esclarecido no presente estudo.

No entanto, deve-se destacar que as diferenças de formato entre as unidades experimentais (forma cilíndrica com fundo arredondado) e os tanques de larvicultura (meio cilindro com fundo em forma de "U") provavelmente proporcionam diferentes padrões de circulação da água em resposta à intensidade de aeração aplicada. Essas diferenças poderiam induzir respostas diferentes das obtidas no presente experimento, dificultando a extrapolação dos resultados, de modo que a influência da turbulência provocada pela intensidade de aeração aplicada exige pesquisas mais aprofundadas.

Assim, a variação da intensidade de aeração não interferiu no sucesso da metamorfose dos náuplios, pois não houve influência significativa nos resultados de taxa de virada e qualidade das larvas. Porém, em função das diferenças de formato entre os tanques experimentais e os de larvicultura, da subjetividade na diferenciação das intensidades de borbulhas referentes aos tratamentos (que foi visual) e necessidade de uma melhor caracterização dos padrões de qualidade

larval a serem avaliados como resposta, pondera-se que este fator exija maiores investigações, a fim de obter informações mais conclusivas a respeito de sua influência na metamorfose dos náuplios.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Ablani, S.A.; Farmer, A.D.D. 1986. The effect of different levels of illuminance on the survival and growth of the shrimp *Penaeus semisulcatus*. Kuwait Bull. Mar. Sci. 2, 165-172.
- Andreatta, E.R.; Beltrame, E. 2004. Cultivo de Camarões Marinhos. Aqüicultura: experiências brasileiras. Poli, C.R.; Poli, A.T.B.; Andreatta, E.R.; Beltrame, E. (Organizadores). Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aqüicultura. Florianópolis, SC, Brasil. pp.199-220.
- Araújo, M.C.; Valenti, W.C. 2005. Efeitos da salinidade, luminosidade e alimentação na larvicultura do camarão-da-amazônia, *Macrobrachium amazonicum*. Tese de Doutorado em Aqüicultura – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP. 87p.
- Bermudes, M.; Ritar, A.J.; Carter, C.G. 2008. The ontogeny of physiological response to light intensity in early stage spiny lobster (*Jasus edwardsii*) larvae. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 150, 40-45.
- Chen, Y-H.; Chen, I-M. 2002. Effects of temperature and salinity on the metamorphosis of nauplius of a planktonic shrimp *Acetes intermedius* Omori, 1975. Fisheries Science 68, 117-122.
- Ellis, E.P.; Watanabe, W.O.; Ellis, S.C.; Ginoza, J.; Moriwake, A. 1997. Effects of turbulence, salinity and light intensity on hatching rate and survival of larval Nassau Grouper, *Epinephelus striatus*. Journal of Applied Aquaculture 7 (3), 33-43.
- Emmerson, W.D.; Hayes, D.P.; Ngonyame, M. 1983. Growth and maturation of *Penaeus indicus* under blue and green light. South African Journal of Zoology 18 (2), 71-75.
- Gardner, C.; Maguire, G.B. 1998. Effect of photoperiod and light intensity on survival, development and cannibalism of larvae of the Australian giant crab *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). Aquaculture 165, 51-63.
- Hoang, T.; Lee, S.Y.; Keenan, C.P.; Marsden, G.E. 2002. Ovarian maturation of the banana prawn, *Penaeus merguensis* (de Man) under different light intensities. Aquaculture 208, 159-168.
- Hoang, T.; Barchiesi, M.; Lee, S.Y.; Keenan, C.P.; Marsden, G.E. 2003. Influences of light intensity and photoperiod on moulting and growth of *Penaeus merguensis* cultured under laboratory conditions. Aquaculture 216, 343 – 354.
- Kraul, S. 1983. Results and hypothesis for the propagation of the grey mullet, *Mugil cephalus* L. Aquaculture 30, 273-284.
- Kungvankij, P.; Tiro, L.B.Jr.; Pudadera, B.J.Jr.; Potestas, I.O.; Corre, K.G.; Borlongan, E.; Talean, G.A.; Bustilo, L.F.; Tech, E.T.; Unggui, A.; Chua, T.E. 1985. Shrimp Hatchery Design, Operation and Management - Training Manual. FAO Corporate Document Repository. Fisheries and Aquaculture Department. Network of Aquaculture Centres in Asia. Bangkok, Thailand. 95p.
- Mangino, A.J.; Watanabe, W.O. 2006. Combined effects of turbulence and salinity on growth, survival and whole-body osmolality of larval Southern flounder. Journal of the World Aquaculture Society 37 (4), 407-420.
- Matthews, T.R.; Schroeder, W.W.; Stearns, D.E. 1992. Endogenous rhythm, light and salinity effects on postlarval brown shrimp *Penaeus aztecus* lves recruitment to estuaries. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 154 (2), 177-189.
- Moss, G.A.; Tong, L.J.; Illingworth, J. 1999. Effects of light intensity and food density on the growth and survival of early-stage phyllosoma larvae of the rock lobster *Jasus edwardsii*. Marine and Freshwater Research 50 (2), 129-134.
- Olin, P.G.; Fast, A.W. 1988. Effects of light spectrum and intensity on growth and survival of larval *Penaeus vannamei*. Journal of the World Aquaculture Society 19 (1) 55A.
- Olin, P.G.; Fast, A.W. 1992. Penaeid PL harvest, transport, acclimation and stocking. Fast, A.W.; Lester, J.L. (Editors). Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. Elsevier, Amsterdam, pp.301-320.
- Pontes, C.S.; Arruda, M.F.; Menezes, A.A.L.; Lima, P.P. 2006. Daily activity pattern of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) juveniles under laboratory conditions. Aquaculture Research 37 (10), 1001-1006.

- Primavera, J.H.; Caballero, R.M.V. 1992. Light color and ovarian maturation in unablated and ablated giant tiger prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture* 108 (3-4), 247-256.
- Racotta, I.S.; Palacios, E.; Ibarra, A.M. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. *Aquaculture* 227, 107-130.
- Smith, G.G.; Ritar, A.J. 2006. The influence of animal density and water turbulence on growth and survival of cultured spiny lobster (*Jasus edwardsii*) larvae. *Aquaculture* 258, 404-411.
- Steel, R.D.; Torrie, J.H. 1980. Principles and Procedures of Statistics. 2<sup>a</sup> edição. Mc Graw-Hill, USA, 633 p.
- Sulkin, S.D. 1984. Behavioural basis of depth regulation in the larvae of brachyuran crabs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 15, 181-205.
- Treece, G.D. 2000. Shrimp maturation and spawning. UJNR Technical Report 28, 121-134.
- Zacharia, S.; Kakati, V.S. 2004. Optimal salinity and temperature for early developmental stages of *Penaeus merguensis* De man. *Aquaculture* 232, 373-382.
- Wang, F.; Dong, S.; Huang, G.; Wu, L.; Tian, X.; Ma, S. 2003. The effect of light color on the growth of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture* 228, 351-360.
- Wang, F.; Dong, S.; Dong, S.; Huang, G.; Zhu, C.; Mu, Y. 2004. The effect of light intensity on the growth of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture* 234, 475-483.

## CONCLUSÕES GERAIS

- A taxa de metamorfose de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa não é influenciada pelos fatores temperatura, salinidade, intensidade luminosa e de aeração, dentro das faixas de valores de 25 a 35°C, 29 a 35‰, 0 a 15.000 lux e de uma condição de aeração de estática a forte, respectivamente.

- A qualidade das larvas após a metamorfose para protozoa não é influenciada pelos fatores salinidade e intensidade de aeração, dentro das faixas de valores testadas. Mas melhora linearmente com o aumento da intensidade luminosa aplicada, dentro da faixa de 0 a 15.000 lux e, reduz com o aumento da temperatura, na faixa de 25 a 35°C.

- A faixa de salinidades de 29 a 35‰ foi considerada adequada para a metamorfose dos náuplios.

- Dentro do intervalo de temperaturas entre 25 e 35°C apenas o nível intermediário testado foi considerado adequado à metamorfose. O nível mais baixo aumenta o tempo de desenvolvimento entre os estágios de náuplio e protozoa e o mais alto causa uma indesejável condição de estresse nas larvas, apesar de não interferirem na taxa de metamorfose.

- A faixa de intensidade de luz de 0 a 15.000 lux permite a metamorfose dos náuplios, mas esta não pode ser considerada a faixa ideal para a metamorfose para protozoa I, pois a melhor condição com relação à qualidade das larvas ocorre no nível mais alto do intervalo testado.

- Apesar da faixa de intensidades de aeração testada possibilitar a mudança de estágio com sucesso, exibindo bons resultados de taxa de metamorfose e qualidade das larvas, este fator exige estudos mais aprofundados para estimar a faixa de intensidades ideal para a metamorfose dos náuplios.

- As taxas de metamorfose obtidas nos experimentos foram bem uniformes e superiores às verificadas na larvicultura do LCM durante o ciclo de produção em que foram realizados os estudos, utilizando náuplios de mesma procedência. Desse modo, os fatores salinidade, temperatura, intensidade luminosa e aeração não são os responsáveis pelas baixas taxas de virada ou, pela sua flutuação entre os ciclos de produção, obtidas pelo laboratório.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os náuplios de *Litopenaeus vannamei* são capazes de completar a metamorfose numa ampla faixa de temperaturas (25 a 35°C), porém, a temperatura de 35°C causa uma condição indesejável de estresse nas protozoas, que não ocorre em 25 e 30°C. Portanto, o intervalo de temperaturas entre 30 e 35°C exige estudos mais detalhados de seus efeitos na qualidade das larvas, a fim de estimar o limite superior da faixa ideal para desenvolvimento.

- O fator intensidade luminosa exige maiores estudos, a fim de esclarecer seus efeitos indiretos sobre a qualidade das larvas, através do estímulo ao crescimento das microalgas e, para verificar sua possível influência diretamente sobre o comportamento das larvas de *Litopenaeus vannamei* durante a fase de metamorfose para protozoa.

- A influência do fator intensidade de aeração exige maiores investigações, em função da diferença de formato entre as unidades experimentais e os tanques de larvicultura, da subjetividade do padrão aplicado na diferenciação entre as intensidades de aeração dos tratamentos (visual) e da necessidade de uma melhor caracterização dos padrões de qualidade larval a serem avaliados como resposta.

- A partir dos resultados destes experimentos, concluiu-se que os fatores salinidades, temperatura, intensidade luminosa e de aeração não são os responsáveis pela variação das taxas de virada obtidas pelo LCM entre os ciclos de produção. Estas flutuações, portanto, podem ser atribuídas a outros fatores, como: variação da qualidade dos náuplios, algum problema sanitário específico, algum fator físico-químico ou de manejo que exija maiores investigações ou, principalmente, o método de contagem aplicado aos náuplios na saída da maturação e às protozoas logo após a metamorfose na larvicultura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

- AL-ABLANI, S.A.; FARMER, A.D.D. 1986. The effect of different levels of illuminance on the survival and growth of the shrimp *Penaeus semisulcatus*. **Kuwait Bull. Mar. Sci.** 2, 165-172.
- ALFONSO, E.; COELHO, M.A. 1997. Biología de Camarões Marinhos: Estádios larvais. **II Curso Internacional sobre Produção de Pós-larvas de Camarão Marinho. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo – CYTED**. Florianópolis, SC, Brasil. pp. 07-16.
- ANDREATTA, E.R.; BELTRAME, E. 2004. Cultivo de Camarões Marinhos. **Aqüicultura: experiências brasileiras**. Poli, C.R.; Poli, A.T.B.; Andreatta, E.R.; Beltrame, E. (Organizadores). Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aqüicultura. Florianópolis, SC, Brasil. pp.199-220.
- ARAÚJO, M.C.; VALENTI, W.C. 2005. Efeitos da salinidade, luminosidade e alimentação na larvicultura do camarão-da-amazônia, *Macrobrachium amazonicum*. **Tese de Doutorado em Aqüicultura** – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP. 87p.
- BAMBANG, Y.; CHARMANTIER, G.; THUET, P.; TRILLES, J.P. 1995. Effects of cadmium on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda). **Marine Biology** 123 (3), 443-450.
- BENZIE, J.A.H. 1997. A review of the effect of genetics and environment on the maturation and larval quality of the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. **Aquaculture** 155, 69-85.
- BERMUDES, M.; RITAR, A.J.; CARTER, C.G. 2008. The ontogeny of physiological response to light intensity in early stage spiny lobster (*Jasus edwardsii*) larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A** 150, 40-45.
- BRAY, W.A.; LAWRENCE, A.L.; LEUNG-TRUJILLO, J.R. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHNV virus and salinity. **Aquaculture** 122, 133-146.
- CHARMANTIER-DAURES, M.; THUET, P.; CHARMANTIER, G.; TRILLES, J.P. 1988. Salinity tolerance and osmoregulation in post-larvae of *Penaeus japonicus* e *Penaeus chinensis*. Effects of temperature. **Aquatic Living Resources** 1 (4), 267-276.
- CHEN, J.-C.; TING, Y.-Y.; LIN, J.-N.; LIN, M.-N. 1990. Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. **Marine Biology** 107 (3), 427-431.
- CHEN, J.-C.; LIN, C.-Y. 1992. Lethal effects of ammonia on *Penaeus chinensis* (Osbeck) juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 156 (1), 139-148.
- CHEN, J.-C.; LIN, M.-N.; LIN, J.-L.; TING, Y.-Y. 1992. Effect of salinity on growth of *Penaeus chinensis* juveniles. **Comparative biochemistry and physiology A. Comparative physiology** 102 (2), 343-346.
- CHEN, J.-C.; LIN, J.-N.; CHEN, C.-T.; LIN, M.-N. 1996. Survival, growth and intermolt period of juvenile *Penaeus chinensis* (Osbeck) reared at different combinations of salinity and temperature. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 204, 169-178.
- CHEN, Y.-H.; CHEN, I.-M. 2002. Effects of temperature and salinity on the metamorphosis of nauplius of a planktonic shrimp *Acetes intermedius* Omori, 1975. **Fisheries Science** 68, 117-122.
- CHU, K.H.; SO, B.S.H. 1987. Changes in salinity tolerance during larval development of the shrimp *Metapenaeus ensis* (De Haan). **Asian Mar. Biol.** 4, 41-48.
- COOK, H.L.; MURPHY, M.A. 1969. The culture of larval penaeid shrimp. **Transactions of the American Fisheries Society** 98 (4), 751-754.
- CREGO, M.; De la CRUZ, S.A. 1988. Efecto de la temperatura, la salinidad y el pH sobre las larvas del camarón rosado *Penaeus notialis*. **Revista de Investigaciones Marinas** vol.IX (2), 133-138.
- EMMERSON, W.D.; HAYES, D.P.; NGONYAME, M. 1983. Growth and maturation of *Penaeus indicus* under blue and green light. **South African Journal of Zoology** 18, n.2, 71-75.
- GARDNER, C.; MAGUIRE, G.B. 1998. Effect of photoperiod and light intensity on survival, development and cannibalism of larvae of the Australian giant crab *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). **Aquaculture** 165, 51-63.

- GOPALAKRISHNAN, K. 1976. Larval rearing of red shrimp *Penaeus marginatus* (Crustacea). **Aquaculture** 9, 145-154.
- HERNÁNDEZ, M.R.; BÜCKLE, L.F.R.; PALACIOS, E.; BARÓN, B.S. 2006. Preferential behavior of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) by progressive temperature-salinity simultaneous interaction. **Journal of Thermal Biology** 31 (7), 565-572.
- HEWITT, D.R.; DUNCAN, P.F. 2001. Effect of high water temperature on the survival, moulting and food consumption of *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* (Bate, 1888). **Aquaculture Research** 32 (4), 305-313.
- HOANG, T.; LEE, S.Y.; KEENAN, C.P.; MARSDEN, G.E. 2002. Ovarian maturation of the banana prawn, *Penaeus merguensis* (de Man) under different light intensities. **Aquaculture** 208, 159-168.
- HOANG, T.; BARCHIESIS, M.; LEE, S.Y.; KEENAN, C.P.; MARSDEN, G.E. 2003. Influences of light intensity and photoperiod on moulting and growth of *Penaeus merguensis* cultured under laboratory conditions. **Aquaculture** 216, 343- 354.
- JACKSON, C.J.; BURFORD, M.A. 2003. The effects of temperature and salinity on growth and survival of larval shrimp *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeoidea). **Journal of Crustacean Biology** 23, n.4, 819-826.
- KUMLU, M.; JONES, D.A. 1993. Optimum rearing conditions for rearing *Penaeus indicus* larvae. **Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ.** n.19, p.142.
- KUMLU, M.; JONES, D.A. 1995. Salinity tolerance of hatchery-reared postlarvae of *Penaeus indicus* H. Milne Edwards originating from India. **Aquaculture** 130, 287-296.
- KUMLU, M. 1999. Feeding and digestion in larval decapod crustaceans. **Tr. J. of Biology** 23, 215-229.
- KUMLU, M.; EROLDÖGAN, O.T.; AKTAS, M. 1999. The effect of salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae). **Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh** 51 (3), 114-121.
- KUMLU, M.; EROLDÖGAN, O.T.; AKTAS, M. 2000. Effects of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*. **Aquaculture** 188, 167-173.
- KUMLU, M.; EROLDÖGAN, O.T.; AKTAS, M.; SAGLAMTIMUR, B. 2001 a. Larval growth, survival and development of *Metapenaeus monoceros* (Fabricius) cultured in different salinities. **Aquaculture Research** 32, 81-86.
- KUMLU, M.; EROLDÖGAN, O.T.; SAGLAMTIMUR, B. 2001 b. The effects of salinity and added substrates on growth and survival of *Metapenaeus monoceros* (Decapoda: Penaeidae) post-larvae. **Aquaculture** 196, 177-188.
- KUNGVANKIJ, P.; TIRO, L.B.Jr.; PUDADERA, B.J.Jr.; POTESTAS, I.O.; CORRE, K.G.; BORLONGAN, E.; TALEAN, G.A.; BUSTILO, L.F.; TECH, E.T.; UNGGUI, A.; CHUA, T.E. 1985. Shrimp Hatchery Design, Operation and Management - Training Manual. **FAO Corporate Document Repository**. Fisheries and Aquaculture Department. Network of Aquaculture Centres in Asia. Bangkok, Thailand. 95p.
- LARAMORE, S.; LARAMORE, C.R.; SCARPA, J. 2001. Effect of low salinity on growth and survival of postlarvae and juvenile *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society** 32 (4), 385-392.
- LESTER, L.J.; PANTE, M.J.R. 1992. Penaeid temperature and salinity responses. Fast, A.W.; Lester, J.L. (Editors). **Marine Shrimp Culture: Principles and Practices**. Elsevier, Amsterdam, pp.515-534.
- LIAO, I-C. 1992. Penaeid larviculture: Taiwanese method. Fast, A.W.; Lester, J.L. (Editors). **Marine Shrimp Culture: Principles and Practices**. Elsevier, Amsterdam, pp.193-215.
- LICOP, M.S. 1988. Sodium-EDTA effects on survival and metamorphosis of *Penaeus monodon* larvae. **Aquaculture** 74, 239-247.
- LIN, H.P.; THUET, P.; TRILLES, J.P.; MOUNET-GUILLAUME, R.; CHARMANTIER, G. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various development stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. **Marine Biology** 117 (4), 591-598.

- MAZOTTO, J.; VILANI, F.G.; VINATEA, L.; ANDREATTA, E.R. 2000. Efeito da densidade de estocagem e da temperatura na sobrevivência de larvas de *Litopenaeus vannamei* durante a metamorfose de náuplio para protozoa I. **Anais Aqüicultura Brasil 2000. XI Simpósio Brasileiro de Aqüicultura – SIMBRAQ**. Florianópolis, SC, Brasil. Em CD-ROM.
- MAIR, J.M. 1980. Salinity and water-type preferences of four species of postlarval shrimp (*Penaeus*) from west Mexico. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 45 (1), 69-82.
- MOSS, G.A.; TONG, L.J.; ILLINGWORTH, J. 1999. Effects of light intensity and food density on the growth and survival of early-stage phyllosoma larvae of the rock lobster *Jasus edwardsii*. **Marine and Freshwater Research** 50 (2), 129-134.
- NOOR-HAMID, S.; FORTES, R.D.; PARADO-ESTEPA, F. 1994. Effect of pH and ammonia on survival and growth of the early larval stages of *Penaeus monodon* Fabricius. **Aquaculture** 125 (1-2), 67-72.
- O'BRIEN, C.J. 1994. The effect of temperature and salinity on growth and survival of juvenile tiger prawns *Penaeus esculentus* (Haswell). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 183 (1), 133-145.
- OLIN, P.G.; FAST, A.W. 1988. Effects of light spectrum and intensity on growth and survival of larval *Penaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society** 19 (1) 55A.
- OLIN, P.G.; FAST, A.W. 1992. Penaeid PL harvest, transport, acclimation and stocking. Fast, A.W.; Lester, J.L. (Editors). **Marine Shrimp Culture: Principles and Practices**. Elsevier, Amsterdam, pp.301-320.
- PONCE-PALAFIX, J.; MARTINEZ-PALACIOS, C.A.; ROSS, L.G. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquaculture** 157, 107-115.
- PRESTON, N. 1985 a. The combined effects of temperature and salinity on hatching success and the survival, growth and development of the larval stages of *Metapenaeus bennettiae* (Racek & Dall). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 85, 57-74.
- PRESTON, N. 1985 b. The effects of temperature and salinity on survival and growth of larval *Penaeus plebejus*, *Metapenaeus macleayi* and *M. bennettiae*. Rothlisberg, P.C.; Hill, B.J.; Staples, D.J. (Editors), **Second Australian National Prawn Seminar**. NPS2, Cleveland, Australia, pp.31-40.
- PRIMAVERA, J.H.; CABALLERO, R.M.V. 1992. Light color and ovarian maturation in unablated and ablated giant tiger prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). **Aquaculture** 108 (3-4), 247-256.
- RACOTTA, I.S.; PALACIOS, E.; IBARRA, A.M. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. **Aquaculture** 227, 107-130.
- RAO, K.R. 1985. Pigmentary Effectors. Bliss, D.E.; Mantel, L.H. (Editors). **The Biology of Crustacea**. v.9. Integument, Pigments and Hormonal Processes. pp.395-462.
- ROBERTS, M.H.Jr. 1971. Larval development of *Pagurus longicarpus* (Say) reared in the laboratory. II. Effects of reduced salinity on larval development. **Biol. Bull.** 140 (1), 104-116.
- ROTHLISBERG, P.C. 1998. Aspects of penaeid biology and ecology of relevance to aquaculture: a review. **Aquaculture** 164, 49-65.
- SASTRY, A.N. 1983. Pelagic Larval Ecology and Development. Bliss, D.E.; Vernberg, F.J.; Vernberg, W.B. (Editors). **The Biology of Crustacea**. v.7. Behavior and Ecology. pp.214-282.
- STAPLES, D.J.; HEALES, D.S. 1991. Temperature and salinity optima for growth and survival of juvenile banana prawns *Penaeus merguensis*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 154, 251-274.
- SMITH, G.G.; RITAR, A.J. 2006. The influence of animal density and water turbulence on growth and survival of cultured spiny lobster (*Jasus edwardsii*) larvae. **Aquaculture** 258, 404-411.
- SMITH, D.C. 1930. The effects of temperature changes upon the chromatophores of crustaceans. **Biological Bulletin** 58, 193-202.
- SMITH, L.L.; BIEDENBACH, J.M.; LAWRENCE, A.L. 1992. Penaeid Larviculture: Galveston Method. Fast, A.W.; Lester, J.L. (Editors). **Marine Shrimp Culture: Principles and Practices**. Elsevier, Amsterdam, pp.171-191.

- SOYEL, H.I.; KUMLU, M. 2003. The effects of salinity on postlarval growth and survival of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae). **Turk. Journal of Zool.** 27, 221-225.
- SUÁREZ, J.A.; BADOR, R.F. 1998. *Penaeus vannamei* nauplii and postlarvae quality control: some elements for the evolution from subjective to objective criteria. **Anais do Aquicultura Brasil'98**, v.2. Recife, PE, Brasil.
- SULKIN, S.D. 1984. Behavioural basis of depth regulation in the larvae of brachyuran crabs. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 15, 181-205.
- TREECE, G.D. 2000. Shrimp maturation and spawning. **UJNR Technical Report** 28, 121-134.
- VEGA, A.J.; De la CRUZ, S.A. 1988. Efecto de la temperatura, la salinidad y el pH sobre las larvas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. **Revista de Investigaciones Marinas** vol.IX (1), 125-132.
- VIJAYAN, K.K.; DIWAN, A.D. 1995. Influence of temperatura, salinity, pH and light on molting and growth in the Indian white prawn *Penaeus indicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) under laboratory conditions. **Asian Fisheries Science** 8, 63-72.
- VILLAMAR, D.F.; LAWRENCE, A.L.; NEILL, W. 1988. Temperature and salinity effects on metamorphosis and survival of *Penaeus stylirostris* nauplii. **Journal of the World Aquaculture Society** 19 (1) 72A.
- VILLARREAL, H.; HERNANDEZ-LLAMAS, A.; HEWITT, R. 2003. Effect of salinity on growth, survival and oxygen consumption of juvenile brown shrimp, *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). **Aquaculture research** 34, 187-193.
- VILLARREAL, H.; HERNANDEZ-LLAMAS, A. 2005. Influence of temperature on larval development of Pacific brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis*. **Aquaculture** 249, 257-263.
- WANG, F.; DONG, S.; HUANG, G.; WU, L.; TIAN, X.; MA, S. 2003. The effect of light color on the growth of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. **Aquaculture** 228, 351-360.
- WANG, F.; DONG, S.; DONG, S.; HUANG, G.; ZHU, C.; MU, Y. 2004. The effect of light intensity on the growth of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. **Aquaculture** 234, 475-483.
- WHETSTONE, J.M.; TREECE, G.D.; BROWDY, C.L.; STOKES, A.D. 2002. Opportunities and constraints in marine shrimp farming. [http://www.aquanic.org/publicat/usda\\_rac/efs/srac/2600fs.pdf](http://www.aquanic.org/publicat/usda_rac/efs/srac/2600fs.pdf). Verificado em setembro de 2005.
- YOU, K.; YANG, H.; LIU, Y.; LIU, S.; ZHOU, Y.; ZHANG, T. 2006. Effects of different light sources and illumination methods on growth and body color of shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture** 252, 557-565.
- ZACHARIA, S.; KAKATI, V.S. 2004. Optimal salinity and temperature for early developmental stages of *Penaeus merguensis* De man. **Aquaculture** 232, 373-382.
- ZHANG, P.; ZHANG, X.; LI, J.; HUANG, G. 2006. The effects of body weight, temperature, salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Aquaculture** 256, 579-587.



## ANEXO II

Tabela de avaliação da qualidade das protozoemas no fim do experimento – Experimentos de Intensidade luminosa, Aeração e Salinidade.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS LARVAS			Pontos	UE
Parâmetro		Avaliação		
Avaliação dos náuplios	ótimo	Acima de 55 pontos	10	
	bom	Entre 25 e 55 pontos	5	
	regular	Abaixo de 25 pontos	0	
Taxa de virada (porcentagem)	alta	Acima de 90%	10	
	média	Entre 70 e 90%	5	
	baixa	Abaixo de 70%	0	
Atividade natatória	ativas	Acima de 90%	10	
	lentas	Entre 70 e 90%	5	
	debilitadas	Abaixo de 70%	0	
Fototaxia	positiva	Resposta à luz acima de 90%	10	
	média	Resposta à luz entre 70 e 90%	5	
	negativa	Resposta à luz abaixo de 70%	0	
Reserva de lipídeos	alta	Acima de 90% dos animais amostrados	10	
	média	Entre 70 e 90% dos animais amostrados	5	
	baixa	Abaixo de 70% dos animais amostrados	0	
Coloração do hepatopâncreas	escuro	Animais com hepatopâncreas amarelo escuro a marrom	10	
	pálido	Animais com hepatopâncreas amarelo claro	5	
	transparente	Animais com hepatopâncreas com pouca coloração e áreas vazias	0	
Conteúdo intestinal	cheio	Acima de 70% dos animais amostrados	10	
	parcialmente	Entre 20 e 70% dos animais amostrados	5	
	vazio	Abaixo de 20% dos animais amostrados	0	
Cordões fecais	presente	Acima de 90% dos animais amostrados e abundante na coluna d'água	10	
	médio	Entre 70 e 90% dos animais amostrados e fácil visualização na coluna d'água	5	
	ausente	Abaixo de 70% dos animais amostrados e difícil visualização na coluna d'água	0	
Deformidades	ausência	Não encontrado nos animais amostrados	10	
	moderada	Abaixo de 10% dos animais amostrados	5	
	severa	Acima de 10% dos animais amostrados	0	
Eoibiontes	ausência	Não encontrado nos animais amostrados	10	
	moderada	Temporais ou permanentes, abaixo de 15% dos animais amostrados	5	
	severa	Permanentes, acima de 15% dos animais amostrados	0	
Partículas aderidas – larvas sujas	pouco	Larvas limpas ou com poucas partículas aderidas nas pontas dos apêndices (< 5%) ou em entre 5 a 10% do organismo, abaixo de 25% dos animais amostrados	10	
	moderado	Larvas com poucas partículas aderidas, entre 10 a 40% dos apêndices ou do organismo, entre 25 a 60% dos animais amostrados	5	
	severa	Larvas com partículas aderidas, acima de 40% dos apêndices ou do organismo, superior a 60 % dos animais amostrados	0	
Necroses	ausência	Não encontrado nos animais amostrados	10	
	moderada	Até 15% dos animais amostrados apresentarem alguma necrose	5	
	severa	Acima de 15% dos animais amostrados apresentarem necrose	0	
Total de pontos				

## ANEXO III

Tabela de avaliação da qualidade das protozoemas no fim do experimento – Experimento de Temperatura

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS LARVAS			Pontos	UE
Parâmetro	Avaliação			
Avaliação dos náuplios	ótimo	Acima de 55 pontos	10	
	bom	Entre 25 e 55 pontos	5	
	regular	Abaixo de 25 pontos	0	
Taxa de virada porcentagem)	alta	Acima de 90%	10	
	média	Entre 70 e 90%	5	
	baixa	Abaixo de 70%	0	
Atividade natatória	ativas	Acima de 90%	10	
	lentas	Entre 70 e 90%	5	
	debilitadas	Abaixo de 70%	0	
Fototaxia	positiva	Resposta à luz acima de 90%	10	
	média	Resposta à luz entre 70 e 90%	5	
	negativa	Resposta à luz abaixo de 70%	0	
Reserva de lípidos	alta	Acima de 90% dos animais amostrados	10	
	média	Entre 70 e 90% dos animais amostrados	5	
	baixa	Abaixo de 70% dos animais amostrados	0	
Coloração do hepatopâncreas	escuro	Animais com hepatopâncreas amarelo escuro a marrom	10	
	pálido	Animais com hepatopâncreas amarelo claro	5	
	transparente	Animais com hepatopâncreas com pouca coloração e áreas vazias	0	
Conteúdo intestinal	cheio	Acima de 70% dos animais amostrados	10	
	parcialmente	Entre 20 e 70% dos animais amostrados	5	
	Vazio	Abaixo de 20% dos animais amostrados	0	
Cordões fecais	presente	Acima de 90% dos animais amostrados e abundante na coluna	10	
	médio	Entre 70 e 90% dos animais amostrados e fácil visualização na coluna d'água	5	
	ausente	Abaixo de 70% dos animais amostrados e difícil visualização na coluna d'água	0	
Deformidades	ausência	Não encontrado nos animais amostrados	10	
	moderada	Abaixo de 10% dos animais amostrados	5	
	severa	Acima de 10% dos animais amostrados	0	
Eoibiontes	ausência	Não encontrado nos animais amostrados	10	
	moderada	Temporais ou permanentes. abaixo de 15% dos animais amostrados	5	
	severa	Permanentes, acima de 15% dos animais amostrados	0	
Partículas aderidas – larvas sujas	pouco	Larvas limpas ou com poucas partículas aderidas nas pontas dos apêndices (< 5%); ou em entre 5 a 10% do organismo, abaixo de 25% dos animais amostrados	10	
	moderado	Larvas com poucas partículas aderidas, entre 10 a 40% dos apêndices ou do organismo, entre 25 a 60% dos animais amostrados	5	
	severa	Larvas com partículas aderidas, acima de 40% dos apêndices ou do organismo. superior a 60 % dos animais amostrados	0	
Necroses	ausência	Não encontrado nos animais amostrados	10	
	moderada	Até 15% dos animais amostrados apresentarem alguma necrose	5	
	severa	Acima de 15% dos animais amostrados apresentarem necrose	0	
Presença de cromatóforos	ausência	Não verificado nos animais amostrados	10	
	moderada	Até 15% dos animais amostrados	5	
	severa	Acima de 15% dos animais amostrados	0	
Total de pontos				

## ANEXO IV

## Dados do Teste de Saturação do Oxigênio Dissolvido – Experimento de intensidade de Aeração

Médias\* dos valores de saturação – medidos no fim do experimento (34 horas de teste)

Tratamento	Estático	Fraco	Médio	Forte
Saturação média <sup>(9)</sup>	83,156	87,889	88,222	88,367

\* Médias provenientes de 9 repetições

## Resultados da Análise de Variância do Teste de Saturação do OD – Experimento de Intensidade de Aeração – Programa XLSTAT

Testes de Comparação Múltipla para a variável tratamento:

Tukey (HSD) / Análise das diferenças entre grupos (95% IC)

Categorias	Diferença	Diferença estandardizada	Valor crítico	Significativamente diferente?
F ~ E	4,289	14,029	2,725	Sim
F ~ L	0,427	1,396	2,725	Não
F ~ M	0,137	0,447	2,725	Não
M ~ E	4,152	13,582	2,725	Sim
M ~ L	0,290	0,949	2,725	Não
L ~ E	3,862	12,633	2,725	Sim

Valor crítico de Tukey: 3,853

Legenda:

F – forte

M – médio

L – fraco

E – estático

Categorias	Agrupamento
F	A
M	A
L	A
E	B

Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos