

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

Efeito da redução da salinidade sobre os estágios de muda durante o processo de aclimação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*

Márcio Fabiano de Souza

Florianópolis / SC

2005

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

Efeito da redução da salinidade sobre os estágios de muda durante o processo de
aclimatação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*

Márcio Fabiano de Souza

Dissertação apresentada ao programa de
Pós-graduação em Aqüicultura do Centro
de Ciências Agrárias da Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
parcial à obtenção do título de Mestre em
Aqüicultura

Orientador:

Prof. Dr. Edegar Roberto Andreatta

Florianópolis / SC

2005

Efeito da redução da salinidade sobre os estágios de muda durante o processo de aclimação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*

Por

MÁRCIO FABIANO DE SOUZA

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQÜICULTURA

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

Profa. Débora Machado Fracalossi, Dra.
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Edemar Roberto Andreatta - *Orientador*

Dra. Mônica Yumi Tsuzuki

Dr. Wilson Francisco Britto Wasielesky Junior

de Souza, Marcio Fabiano

Efeito da redução de salinidade sobre os estágios de muda durante o processo de aclimação de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*

28 páginas.

Dissertação de Mestrado em Aqüicultura.
Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

2004

Orientador: Edemar Roberto Andreatta.

Palavras-chave: *Litopenaeus vannamei*, pós-larva, aclimação, estágio de muda.

Ao meu pai
Adauto de Souza

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por eu ter tido saúde e disposição para concluir este trabalho. Gostaria de agradecer ainda:

À minha família, por estar sempre comigo, me apoiando em todos os momentos.

A Glauca e sua família pelo carinho e companhia durante todo o tempo que passei neste curso.

Ao Prof. Dr. Edegar Roberto Andreatta pela orientação e confiança durante todas as etapas mestrado.

Aos pesquisadores do Laboratório de Camarões Marinhos da UFSC, Rodrigo Schweitzer e Frank Belletini pelo apoio e pelas valiosas contribuições no direcionamento deste trabalho.

A todos funcionários e estagiários do Laboratório de Camarões Marinho da UFSC pelos auxílios no experimento e pela amizade ao longo do tempo.

A todos colegas, professores e funcionários do programa de Pós-Graduação em Aqüicultura pela convivência, amizade e pelos momentos de descontração.

Sumário

Resumo.....	viii
Abstract.....	ix
1 – Introdução.....	01
2 - Objetivo Geral.....	06
2.1 - Objetivo Específico.....	06
3 - Materiais e Método.....	07
4 - Resultados e Discussão.....	10
4.1 - Resultados do Experimento com PL15.....	13
4.2 - Resultados do Experimento com PL20.....	15
4.3 - Resultados do Experimento com PL25.....	17
5 – Conclusão.....	21
6- Referências Bibliográficas.....	22
Considerações finais.....	24
Referências Bibliográfica da Introdução.....	25

Resumo

Os efeitos da redução de salinidade durante a aclimação no preparo de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* para o transporte, foram avaliados através de três experimentos. Foram testadas três idades diferentes de pós-larvas, PL15, PL20 e PL25. As pós-larvas foram submetidas a dois tratamentos, aclimação com redução de salinidade e controle com salinidade constante. Cada experimento teve duração de três dias, sendo que o tratamento de aclimação teve redução de salinidade de 35 para 15 ppmil durante as primeiras 24 horas, seguindo após este período com salinidade constante de 15 ppmil até o fim, o tratamento controle teve salinidade constante de 35 ppmil durante os três dias. A redução de salinidade na aclimação ocorreu com adição de água doce, diminuindo a salinidade em 3 ppmil a cada três horas. Foram utilizadas 4 unidades experimentais de 100 litros para cada tratamento. Cada unidade continha 6000 pls, simulando uma densidade de 60 pls/litro. A cada 6 horas eram coletadas 30 pós-larvas de cada unidade para análise morfológica dos urópodos. Através das análises dos urópodos pode-se observar 3 diferentes estágios no ciclo de muda. O primeiro estágio foi descrito como estágio de pós-muda e intermuda, o segundo como estágio de pré-muda inicial e o terceiro como estágio de pré-muda final. Para as análises estatísticas foi utilizado o estágio de pré-muda final por ser o estágio que precede a muda e durante as 30 primeiras horas de experimento. As análises (ANOVA bifatorial) mostraram que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos (aclimação e controle), entre o tempo de experimento e interação entre os fatores. As maiores porcentagens médias de pós-larvas em pré-muda final dos tratamentos de aclimação e controle para as três idades experimentais foram respectivamente; (PL15) 72,2 % e 46,6 %, (PL20) 87,7 % e 53,3 %, (PL25) 75,5 % e 57,7 %. As maiores porcentagens foram observadas entre 24 e 30 horas após o início do experimento. O período seguro para o transporte das pós-larvas é após 36 horas do início da aclimação. Os experimentos mostraram que a redução da salinidade durante a aclimação influencia nos estágios de muda de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*.

Palavras-chave: *Litopenaeus vannamei*, pós-larvas, aclimação, estágio de muda.

Abstract

Title: Effect of reduction of salinity in the stage molt during the acclimation process of postlarvae *Litopenaeus vannamei*

The effects of salinity reduction during acclimation, on the preparation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae for transport, had been evaluated through three experiments. Three different ages of postlarvae had been tested: PL15, PL20 and PL25. The postlarvae had been submitted to two treatments kinds, acclimation with salinity reduction and control with constant salinity. Each experiment took three days. Acclimation treatment had salinity reduction of 35 to 15 ppt during first 24 hours, proceeding after this period with constant salinity of 15 ppt until the end. The control treatment had constant salinity of 35 ppt during the three days. Salinity reduction on acclimation occurred with freshwater addition, reducing salinity in 3 ppt every three hours. Four experimental units of 100 liters had been used for each treatment. Each unit contained 6000 pls, simulating a density of 60 pls/liter. Thirty postlarvae of each unity were collected every 6 hours for morphologic analysis of uropods. Through uropods analyses it can be observed 3 different periods on molt cycle. The first stage was described as postmolt and intermolt, the second as early premolt stage and the third as late premolt stage. For statistical analyses was used the late premolt stage, for being the stage that precedes the molt and during the 30 first hours of experiment. The analyses (bifactorial ANOVA) had shown that there were significant differences ($p < 0,05$) between treatments (acclimation and control), between experiment time and interaction between factors. The bigger percentage average of postlarvae in late premolt of acclimation and control treatments for the three experimental ages had been respectively; (PL15) 72,2 % and 46,6%, (PL20) 87,7% and 46,6 %, (PL25) 75,5 % and 57,5 %. The biggest percentage average had been observed between 24 and 30 hours experiment. The experiments had shown that salinity reduction during acclimation influenced on *Litopenaeus vannamei* postlarvae molt stages.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, postlarvae, acclimation, molt stages.

1 - Introdução

Devido à violenta explosão demográfica, ao aumento da pobreza e a quase estagnação da pesca no seu limite máximo de captura que ocorre nos dias de hoje, novas alternativas terão que ser encontradas para atender às necessidades de proteína animal neste novo século. Segundo a (FAO 2004), espera-se que a aquicultura contribua significativamente para a segurança alimentar e diminuição da pobreza no planeta.

Com o crescimento da aquicultura, novos investimentos em tecnologias de cultivo para diferentes espécies têm surgido, destacando-se o cultivo de camarões marinhos (carcinicultura marinha), sendo *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon*, *Fenneropenaeus chinensis* as três espécies de camarões mais cultivadas no mundo (FAO, 1998).

No Brasil o crescimento da aquicultura se deve em parte a carcinicultura marinha, que nos últimos anos vem registrando elevados índices de expansão (ABCC, 2002).

A carcinicultura em Santa Catarina nos últimos anos vem apresentando grande crescimento e avanços tecnológicos, destacando-se como importante atividade de produção de alimento no estado, através da geração de empregos e renda, além de estimular o desenvolvimento de outras atividades como indústrias de insumos, ração, equipamentos e processamento de pescados (CEPA/SC, 2001).

O avanço na produção se deve a introdução da espécie *Litopenaeus vannamei* e ao pacote tecnológico desenvolvido para ela, incluindo a formulação de ração balanceada, assim como a aceitação desta espécie no mercado interno (Rocha e Maia, 1998).

O domínio e o aperfeiçoamento das técnicas de maturação, reprodução e larvicultura tem sido essenciais, não somente para assegurar a existência do cultivo de camarões no país, mas também, para permitir o fornecimento de pós-larvas de boa qualidade às fazendas de engorda, o que vem garantindo os excelentes resultados de produtividade e de produção alcançados pela carcinicultura brasileira (Panorama da Aquicultura, 2004).

O crescimento dos camarões não acontece de forma contínua, eles precisam trocar de carapaça para promover seu crescimento. Este processo chamado de ecdise influencia diretamente na fisiologia, na morfologia e no comportamento do animal que a cada evento precisa expelir e formar uma nova carapaça (Lee and Wickins, 1997).

Todo o esforço realizado nos diferentes setores de um laboratório de produção de pós-larvas de camarões marinhos para garantir a produção de pós-larvas de qualidade e com altos níveis de sobrevivência pode ser comprometido caso o transporte das pós-larvas seja feito de maneira inadequada (Moraes, 2004).

O conhecimento e a habilidade de se determinar os estágios do ciclo de muda (ecdise) nas populações cultivadas é uma importante ferramenta de manejo para a execução da transferência segura das pós-larvas dos laboratórios para as fazendas de engorda. Olin and Fast, (1992) citam que condições inadequadas no transporte podem comprometer a sobrevivência das larvas.

Geralmente os fisiologistas separam em quatro os estágios do ciclo de muda dos camarões como sendo, pré-muda, muda, pós-muda e intermuda. Pré-muda é a fase preparatória, marcada pela contínua acumulação de reservas alimentares e aumento da concentração de cálcio na hemolinfa, provavelmente decorrente da digestão e reabsorção de parte da carapaça. Também é marcada pelo aumento da concentração do hormônio de muda na hemolinfa. A ecdise deve ocorrer rapidamente com a separação da carapaça. Durante a pós-muda a cutícula secretada é calcificada, nesta fase há absorção de água e aumento do volume da hemolinfa. Nos primeiros momentos de pós-muda o camarão não se alimentará, mas aumentará de tamanho pela absorção de água. A intermuda é marcada pelo acúmulo de reservas, onde o animal se preparará para o próximo evento de muda (Barnes, 1984).

Segundo Chan *et al.*, (1988) os camarões *Litopenaeus vannamei* apresentam seis estágios de muda definidos de acordo com a retração do epitélio dos urópodos. Os estágios foram classificados como A e B para os estágios de pós-muda (cedo e tarde respectivamente), C para intermuda, D₀, D₁, e D₂, para os estágios de pré-muda onde D₂ foi considerado o último estágio de pré-muda onde há a máxima retração do epitélio e a formação das novas setas.

Para Zilli *et al.*, (2003), os estágios de muda são divididos em seis, A e B para o estágio de pós-muda (cedo e tarde respectivamente), C para o estágio de intermuda, D₀ – D₁, para o estágio de pré-muda (cedo) e D₂ - D₃, para o estágio de pré-muda (tarde) e E para o estágio de muda.

Robertson *et al.*, (1987) descreveram um método para a determinação dos estágios de muda. O método é baseado na variação morfológica dos urópodos durante os estágios de muda.

A muda nos camarões peneídeos pode apresentar um intervalo de horas a semanas. Segundo Fast and Lester, (1992) para larvas e pós-larvas de peneídeos os estágios e subestágios de muda podem ocorrer em questão de horas, enquanto os camarões adultos podem apresentar

uma duração de três semanas para completar o ciclo, isso se a temperatura for considerada ótima para seu desenvolvimento.

Fast and Lester, (1992) trabalhando com camarões adultos entre 27 e 29⁰C (*L. setiferus* y *L. stylirostris*) observaram que a duração do ciclo de muda foi de 11,5 a 13,5 dias respectivamente para cada espécie. Em *L. vannamei*, Charmantier *et al.* (1994) y Betancourt *et al.* (1993) observaram a duração do ciclo de muda de 14 dias para juvenis de 10 a 11g a 28⁰C. Molina and Cadena (2001) observaram um ciclo de muda de 11,03

(217 ± 17 mosm kg^{-1}) no estágio C e valores mínimos nos estágios B (165 ± 16 mosm kg^{-1}), D₀ (181 ± 18 mosm kg^{-1}), D₁ (146 ± 20 mosm kg^{-1}) e D₂ (135 ± 13 mosm kg^{-1}).

Castille and Lawrence, (1981) reportam que os camarões *Litopenaeus vannamei* são hiperosmóticos em salinidades baixas e hiposmóticos em salinidades altas. Bray *et al.*, (1994) destacam que salinidades entre 15 e 25 ppmil são as ideais para o crescimento dos camarões, salinidade que diminui os gastos energéticos dos camarões para manter a osmorregulação.

A idade das pós-larvas influencia na capacidade de osmorregulação (Barbieri e Ostrensky, 2002). Artilles *et al.*, (1999) em experimento com *L. schimitii* utilizaram a contagem de ramificações nos filamentos branquiais para determinar o nível de desenvolvimento branquial das pós-larvas. Os experimentos indicaram um menor desenvolvimento branquial na idade de PL12 em relação à PL16, foram observadas entre 3 a 7 ramificações no último filamento branquial das PL12, enquanto que nas PL16 foram observados sempre mais de 8 ramificações no último filamento. Pós-larvas de peneídeos de idades entre 10 a 20 apresentam grande capacidade de fazer balanço iônico em relação ao seu peso (Mantel and Former, 1983). Segundo Charmantier *et al.*, (1988), a tolerância a variações de salinidade em larvas de peneídeos aumenta até PL12 e continuam a aumentar em menor taxa por mais dez dias. Villalon (1991), destaca a importância de um período maior para aclimação de pls ≤ 6 em relação a PLs ≥ 6 .

Outros estudos reportam a importância da idade das pós-larvas, quando aclimatadas a salinidades de 24 a 1 ppmil (Macgraw *et al.*, 2002). Macgraw *et al.*, (2004) observaram altas sobrevivência em pós-larvas (15 a 20) quando aclimatadas a salinidades de 24 a 1 ppmil com redução de salinidade de 47 % em 1 hora. Samocha *et al.*, (1998) em experimento de estresse com salinidade em diferentes idades de pós-larvas encontraram uma maior tolerância de pós-larvas 7 em relação às pós-larvas 1 para *Litopenaeus vannamei*.

Em razão da grande diferença de salinidade das larviculturas (35 ppmil) para as salinidades dos viveiros (10 a 15 ppmil) é freqüente a ocorrência de ecdises sincronizadas durante o processo de transporte, devido ao estresse que passam as pós-larvas durante estes procedimentos de preparação de transferência do laboratório para as fazendas, o que traz problemas para a aclimação nas fazendas e em alguns casos mortalidades durante o transporte e aclimação. Como conseqüências além da reposição de pós-larvas que são impostas ao laboratório, o que certamente gera prejuízo ao laboratório, há uma incerteza para os produtores quanto à sobrevivência nos viveiros de engorda.

Desta forma este trabalho procura estabelecer através de três experimentos um limite de segurança para o transporte de pós-larvas de *Litopennaeus vannamei*, fundamentado na determinação dos estágios de muda e no efeito da redução da salinidade sobre os estágios de muda durante a aclimação.

2 - Objetivo Geral

Contribuir para o melhoramento das condições de aclimação de salinidade transporte das pós-larvas produzidas nos laboratórios de camarões marinhos.

2.1 - Objetivo Especifico

Avaliar o efeito da redução de salinidade da água durante o processo de aclimação sobre os estágios de muda de pós-larvas de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*.

3 – Materiais e Método

O presente trabalho teve seus experimentos e análises realizadas no Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LCM – UFSC), Barra da Lagoa, Florianópolis, Santa Catarina.

Três experimentos foram realizados com diferentes idades de pós-larvas, PL15, PL20 e PL25. As larvas utilizadas foram produzidas no LCM, coletadas nos berçários do laboratório. Segundo Moraes (2004) em experimento realizado com idades e densidades de transporte no LCM é recomendável a realização da transferência de pós-larvas para os viveiros de engorda preferencialmente em idades superiores a PL12.

Para cada idade foram utilizadas 8 unidades experimentais, 4 (replicas) para cada tratamento, (aclimatação à salinidade e controle sem aclimatação). As unidades experimentais (caixas pretas de plástico de 200L) foram completadas com 100 litros de água salgada, sendo 80 litros de água marinha filtrada e 20 litros de água marinha contendo cultura de microalgas (*Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis*) para cada unidade.

As unidades receberam 6000 pós-larvas (60 pl/L) coletadas dos tanques berçários do laboratório. A rotina de alimentação foi a mesma utilizada nos berçários, onde a alimentação a base de ração granulada era adicionada a cada 2 horas além da manutenção da densidade de microalgas para alimentação e controle da qualidade da água.

As unidades experimentais foram equipadas com aeração constante (2 pedras bastão) mantendo a saturação de oxigênio nas caixas e dois aquecedores de 100W para cada unidade, ligados a um termostato programado para manter a temperatura em torno de 28^oC.

O tratamento consistiu em aclimatar (diminuir a salinidade) as unidades experimentais (4) partindo da salinidade de 35 para 15 ppmil durante 24 horas com a adição de água doce baixando de 2,5 a 3 ppmil a cada 3 horas. As unidades controle mantiveram a salinidade constante de 35 ppmil.

Durante o experimento foram coletadas 30 pós-larvas de cada unidade a cada 6 horas durante 3 dias. As pós-larvas após a coleta foram condicionadas em recipientes (copos plásticos) com gelo para fixá-las e logo levadas para análise. As análises foram realizadas com auxílio de um microscópico óptico (objetiva de 10x) equipado com câmera fotográfica. Foram analisadas as morfologias dos urópodos para classificação dos estágios do ciclo de muda.

Devido ao tamanho e ao tempo do ciclo de muda das pós-larvas, foram determinados para a classificação 3 diferentes estágios conforme as figuras seguintes.

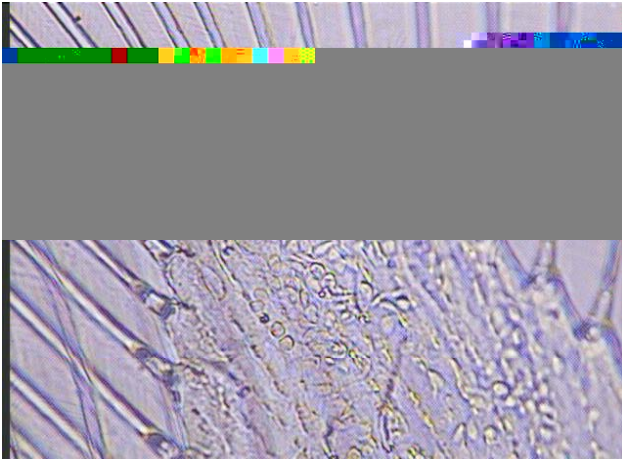


Fig. 1- Estágio 1, corresponde aos períodos de pós-muda e intermuda (PM-I), caracterizado pela presença da cutícula junta a matrix celular (epiderme).

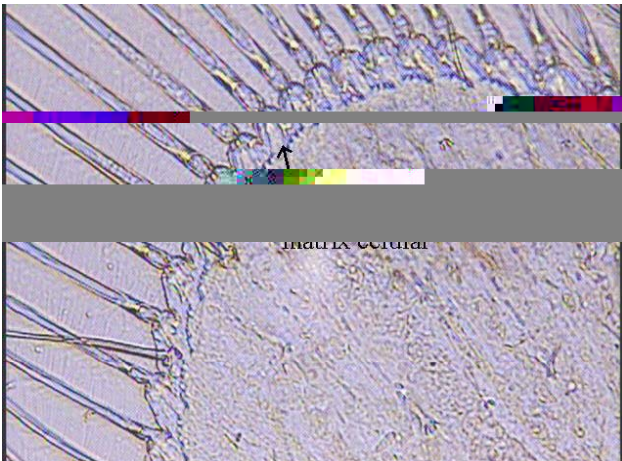


Fig. 2- Estágio 2, corresponde ao período de pré-muda inicial (PrMI), caracterizado pelo início da retração da matrix celular (epiderme) e descolamento da cutícula.

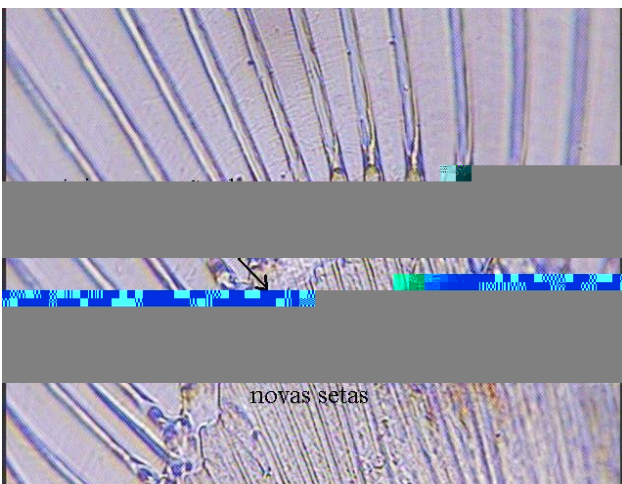


Fig. 3- Estágio 3, corresponde ao período de pré-muda final (PrMF), caracterizado pela máxima retração da matrix celular (epiderme) e o início da formação das novas setas.

A classificação dos estágios de muda foi elaborada conforme as características descritas por Barnes (1984). Para a determinação dos estágios foram utilizadas análises morfológicas dos urópodos (Robertson *et. al.*, 1987 e Zilli *et. al.*, 2003).

O primeiro estágio é o de pós-muda e intermuda (PM-I), é caracterizado pela presença da cutícula junta da matrix celular, sendo este o estágio que precede a muda. O segundo estágio é o de pré-muda inicial (PrMI), caracterizado pela presença do fluido de muda, iniciando o desprendimento da cutícula da matrix celular. Neste estágio já pode-se observar a retração da matrix celular marcado pela formação de uma linha que delimita a epiderme. O terceiro estágio é o de pré-muda final (PrMF) caracterizado pelo máximo afastamento da cutícula da matrix celular. Este estágio é marcado pela máxima retração da matrix celular e a formação das novas setas que já estão visíveis em microscópio. Zilli *et al.*, (2003) em experimento com *Marsupenaeus japonicus* adultos encontraram 6 estágios de muda, sendo que os estágios de pré-muda também foram caracterizados pela retração da matrix celular e pelo aparecimento das novas setas no estágio de pré-muda mais avançado.

Parâmetros físico-químicos da água como temperatura, oxigênio (oxímetro YSI 55), pH e salinidade (refratômetro digital) foram coletados pela manhã e pela tarde em cada unidade.

As análises da variável pré-muda final foram realizadas através de teste paramétrico de análise de variância com 2 fatores (ANOVA bifatorial) (Zar, 1996). A variável pré-muda final foi escolhida para os testes estatísticos devido a sua importância no planejamento das despescas. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa statistic 5.0, e o programa excel para plotagem de gráficos.

4 – Resultados e Discussão

Os parâmetros físico-químicos da água monitorados nas unidades experimentais durante o tempo de experimento não apresentaram grandes variações conforme as tabelas 1, 2 e 3. Os níveis de oxigênio mantiveram-se constantes, acima ou próximos à saturação.

Tabela 1 – Temperatura, pH e salinidade das unidades experimentais em PL15, aclimatadas e não aclimatadas a salinidade. (Dados apresentados em médias e desvio padrão).

Dia/hora	pH		Temperatura (T°C)		Salinidade (ppt)	
	aclimação	controle	aclimação	controle	aclimação	controle
1- 18:00	8,3±0,09	8,3±0,07	27,5±			

Tabela 3 – Temperatura, pH e salinidade das unidades experimentais em PL25, aclimatadas e não aclimatadas a salinidade. (Dados apresentados em médias e desvio padrão).

Dia/hora	pH		Temperatura (T°C)		Salinidade (ppt)	
	aclimação	controle	aclimação	controle	aclimação	controle
1- 18:00	8,3±0,09	8,3±0,07	27,5±0,2	27,5±0,3	35	35
1- 6:00	8,3±0,09	8,3±0,07	27,9±0,25	28,2±0,3	20	35
2- 18:00	8,2±0,1	8,3±0,09	28,2±0,22	28,1±0,25	15	35
2- 6:00	8,2±0,09	8,3±0,08	28,3±0,35	28,1±0,4	15	35
3- 18:00	8,1±0,1	8,3±0,07	28±0,2	27,9±0,2	15	35
3- 6:00	8,1±0,12	8,3±0,09	28,±0,3	28±0,3	15	35

De maneira geral os parâmetros físico-químicos estiveram dentro dos níveis aceitáveis para camarões peneídeos (Boyd and Fast, 1992) e não apresentaram diferença significativa ao longo dos experimentos.

Os níveis de pH médios das unidades experimentais apresentaram poucas variações durante todos os experimentos (PL15, PL20 e PL25). As unidades de aclimação apresentaram maior variação em relação às unidades controle. Ambas as unidades começaram com pH (18hs) médios em torno de 8,3, as unidades de aclimação apresentaram uma queda no pH a medida em que a água doce era adicionada diminuindo à aproximadamente 8,1 após as primeiras 24 horas e mantendo este valor até o final do experimento. As unidades controle mantiveram os valores de pH médios em torno 8,3 durante todo o experimento. Os desvios padrões em torno das médias apresentaram valores inferiores a 0,11 indicando pequena variação entre as unidades experimentais. Os valores encontrados estão dentro dos limites ideais para o crescimento dos camarões Boyd (1990), que ainda destaca que os valores de pH para águas marinhas devem ser de 8 a 9 e em águas doces devem ser de 6 a 9. Moraes (2004) em experimento com densidades de transporte com pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* encontrou valores de pH entre 7,7 e 7,8.

As temperaturas nas unidades variaram pouco durante os experimentos (PL15, PL20 e PL25) devido à utilização de um termostato programado para manter a temperatura em torno de 28°C. Todas as unidades experimentais começaram com temperaturas médias em torno de 27,5°C chegando no máximo a 28,4°C. Os desvios padrões das médias tiveram valores inferiores a 0,5 e a diferença entre a menor média e a maior foi de 0,9°C durante todo o experimento. Vega e De la Cruz (1988) estabeleceram limites de temperaturas para cultivo de larvas de *Penaeus schimitti* que variam de 25 a 30,5°C, que na verdade, são limites para manter altas taxas de

sobrevivência. Temperaturas entre 25 e 32°C são ideais para cultivo de espécies tropicais (Boyd, 1990). As temperaturas deste experimento estiveram dentro dos níveis de segurança para o cultivo de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*.

As salinidades nos três experimentos apresentaram as mesmas variações. Nas unidades de aclimatação a salinidade variou de 35 ppmil no início a 15 ppmil após 24 horas de aclimatação devido à adição de água doce, se mantendo em 15 ppmil até o final do experimento. As salinidades nas primeiras 24 horas de experimento variaram de 2,5 a 3 ppmil a cada 3 horas. As unidades controle mantiveram a salinidade em 35 ppmil durante todo o tempo. As larvas de camarão são produzidas em laboratório com salinidades em torno de 28 a 35 ppmil e o ritmo de aclimatação na preparação das pós-larvas para os viveiros de engorda não deve ser exceder de 1 a 2 ppmil por hora conforme Boyd (1989).

4.1 - Resultados do experimento com PL15

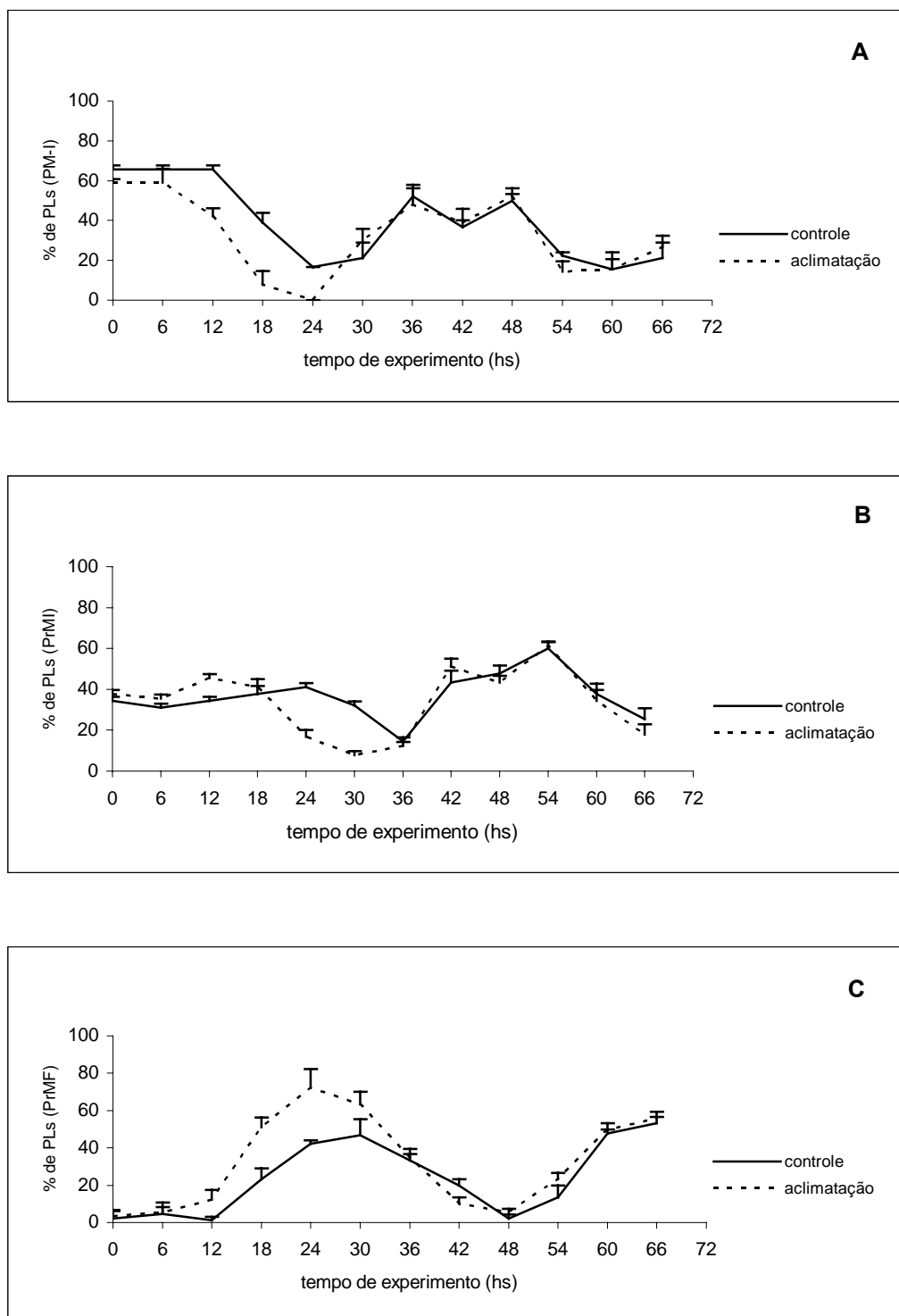


Fig. 4- Porcentagens médias e desvio padrões dos estágios de muda (A – pós-muda e intermuda, B – pré-muda inicial, C – pré-muda final) nos tratamentos de aclimação e controle durante os três dias de experimentos.

Na figura 4 podemos observar a variação das frequências médias de pós-larvas nos estágios de pós-muda e intermuda (PM-I), pré-muda inicial (PrMI) e pré-muda final (PrMF) durante o tempo de experimento. A porcentagem média de pós-larvas em PrMF na aclimação aumentou a partir do início do experimento chegando a 72,2 % de pls neste estágio após 24 horas. Ao chegar a 48 horas a porcentagem média de pós-larvas em PrMF diminuiu a 5,5 %, para posteriormente aumentar até o final do experimento. No controle a maior porcentagem média de pós-larvas em PrMF foi de 46,6 %, com 30 horas de experimento. Com 48 horas a porcentagem média do controle foi a menor 2,2 %. Os tratamentos (controle e aclimação) apresentaram padrão semelhante ao longo do experimento, porém a maior diferença observada foi em relação às frequências de pós-larvas principalmente no estágio de PrMF. O tratamento de aclimação apresentou maior porcentagem de pls em PrMF entre 24 e 30 horas de experimento em relação ao controle. Após as 48 horas as médias dos tratamentos aumentam até o final do experimento.

Para o estágio PrMI podemos constatar que a maior porcentagem de pós-larvas neste estágio, 61,1% na aclimação, foi em torno de 54 horas após o início do experimento.

Após o período de aclimação observamos que o pico de pós-larvas em PM-I alcançou a maior porcentagem, cerca de 53,3 % após 36 horas de experimento. Através destes dados podemos estabelecer um tempo de segurança para início do transporte de PL15. Após 36 horas do início da aclimação a maioria das pós-larvas já trocou de carapaça e apresentam mais resistência para o transporte, conforme os dados apresentados pela figura acima.

A tabela seguinte refere-se à análise estatística aplicada neste experimento. Para esta análise foram utilizados os dados das primeiras 30 horas.

Tabela 4- Análise de ANOVA bifatorial aplicada ao estágio de PrMF.

Causa de variação	F calculado	F tabelar
tempo	122,82	2,62
tratamento	60,009	4,26
interação	7,39	2,62

$\alpha = 0,05$

A ANOVA bifatorial teve como fatores o tratamento e o tempo de experimento. Podemos observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, ao longo do tempo do experimento e na interação entre os fatores analisados, pois os valores de F calculado foram maiores que os valores de F da tabela, Zar (1996).

4.2 - Resultados do experimento com PL20

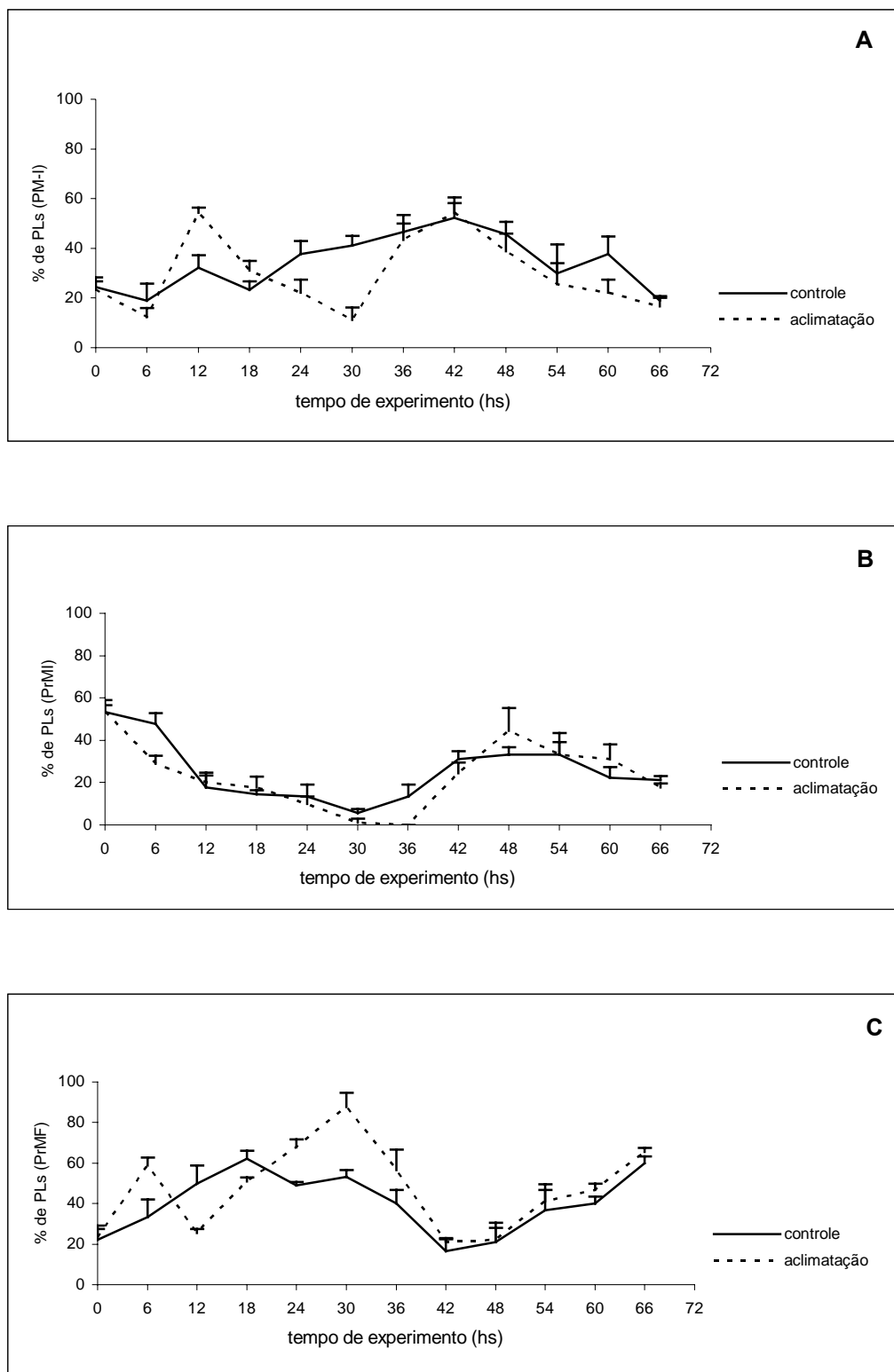


Fig. 5- Porcentagens médias e desvio padrões dos estágios de muda (A – pós-muda e intermuda, B – pré-muda inicial, C – pré-muda final) nos tratamentos de aclimação e controle durante os três dias de experimentos.

A figura 5 trás a variação das porcentagens médias de pós-larvas nos estágios de PM-I, PrMI e PrMF ao longo do experimento. No tratamento de aclimatação podemos observar que a máxima porcentagem média de pls em PrMF foi de 87,7 % e ocorreu com 30 horas de experimento, ou seja, 6 horas após o término da aclimatação. Após este período a média diminuiu a 21,1 % quando o experimento alcançou 42 horas de duração. No tratamento de controle a máxima porcentagem média foi de 62,2 %, com 18 horas de experimento. Após as 18 horas a média de pls neste estágio diminuiu a 16,6 %. Após 42 horas as médias de ambos os tratamentos aumentaram até o final do experimento. Durante as 30 primeiras horas os tratamentos apresentaram padrões e freqüências diferentes de pls em PrMF. Após 42 horas de experimento os tratamentos apresentaram padrão e freqüência semelhante.

O estágio de PrMI a maior porcentagem foi de 44,4 % de pls neste estágio no tratamento de aclimatação com 48 horas de experimento.

Após a aclimatação que durou 24 horas, a maior porcentagem média de pós-larvas em PM-I, 54,4 %, ocorreu com 42 horas de experimento. Portanto após 42 horas do início da aclimatação, a maioria das PL20 estão em PM-I, neste caso apresentando maior resistência a variações climáticas, sendo portanto o período mais apropriado para o transporte.

A tabela seguinte se refere à análise estatística aplicada neste experimento. Para esta análise foram utilizados os dados das primeiras 30 horas.

Tabela 5- Análise de ANOVA bifatorial aplicada ao estágio de pré-muda final.

Causa de variação	F calculado	F tabelar
tempo	62,55	2,62
tratamento	17,97	4,26
interação	28,27	2,62

$\alpha = 0,05$

A ANOVA bifatorial teve como fatores o tratamento e o tempo de experimento. Podemos observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, ao longo do tempo de experimento e na interação entre os fatores analisados, pois os valores de F calculado foram maiores que os valores de F da tabela, Zar (1996).

4.3 - Resultados do experimento com PL25

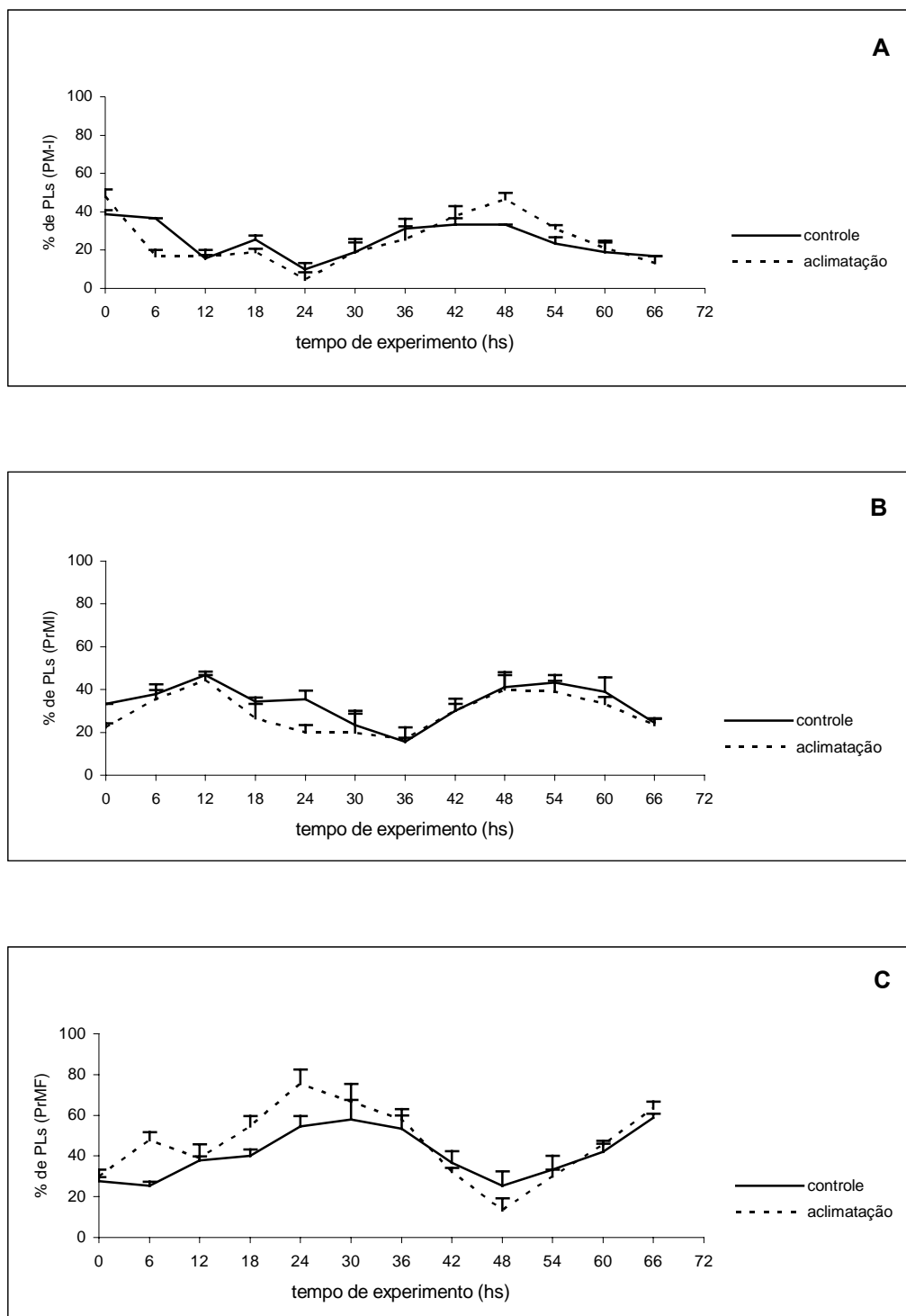


Fig. 6- Porcentagens médias e desvio padrões dos estágios de muda (A – pós-muda e intermuda, B – pré-muda inicial, C – pré-muda final) nos tratamentos de aclimação e controle durante os três dias de experimentos.

Através da figura 6 podemos observar o comportamento das pós-larvas 25 nos estágios de PM-I, PrMI e PrMF ao longo dos três dias de experimento. Os tratamentos apresentaram um padrão semelhante, porém com frequências diferentes. A maior porcentagem média de pós-larvas em PrMF encontrada no tratamento de aclimatação, 75,5 % ocorreu com 24 horas após o início da aclimatação. Após este período a porcentagem média diminuiu chegando a 13,3 %, quando o experimento alcançou 48 horas de duração. No tratamento controle a maior porcentagem de pós-larvas em PrMF foi de média 57,7 % e ocorreu com 30 horas de experimento, diminuindo em seguida chegando a 25,5 % quando o experimento alcançou 48 horas. Após 48 horas as médias de ambos tratamentos começam a aumentar até o final do experimento.

Para o estágio de PrMI a maior porcentagem da aclimatação foi de 40% com 48 horas de experimento.

Podemos observar nesta figura que após o período de aclimatação a maior porcentagem média de pós-larvas em PM-I, 46,6 % é encontrada com 48 horas após o início do experimento. Os dados mostram que o período de maior segurança para o transporte de PL25 é em torno de 40 e 50 horas após o início da aclimatação, quando as pós-larvas neste estágio apresentam maior resistência a variações climáticas.

Tabela 6- Análise de ANOVA bifatorial aplicada ao estágio de pré-muda final.

Causa de variação	F calculado	F tabelar
tempo	41,76	2,62
tratamento	40,09	4,26
interação	4,09	2,62

$\alpha = 0,05$

A tabela 6 se refere à análise de variância, podemos observar através dos dados que existe diferença significativa ($p < 0,05$), nos tratamentos, ao longo do tempo, assim como na interação entre os fatores, pois os valores de F calculado foram maiores que os valores de F da tabela, Zar (1996), o mesmo que já havia ocorrido com as outras idades experimentais.

Conforme constatado a interação entre os fatores aplicou-se o teste paramétrico de comparação de média Tukey HSD para as três idades analisadas. Os resultados com PL15 mostram que as porcentagens médias das 12 primeiras horas de experimento foram significativamente iguais em ambos os tratamentos, destaque também para porcentagem média

da aclimação com 24 horas de experimento que foi significativamente igual à porcentagem média da aclimação com 30 horas, porém diferente das demais médias. Em PL20 é importante destacar a porcentagem média da aclimação com 30 horas de experimento que foi superior e significativamente diferente ($p < 0,05$) das demais porcentagens médias. Com PL25 o destaque foi a maior porcentagem média observada na aclimação com 24 horas de experimento, sendo igual somente à porcentagem média da aclimação com 30 horas e diferente significativamente ($p < 0,05$) das demais porcentagens.

Devido ao fato de a muda ser um processo que ocorra muito rápido, em poucos minutos, optou-se por trabalhar na análise de variância com o estágio de PrMF como variável por ser o estágio que precede a muda.

Na análise de variância o fator tempo de experimento teve como intervalo às 30 primeiras horas, devido às porcentagens médias de PrMF terem alcançado os máximos valores entre 24 e 30 horas de experimento.

Ao longo das análises podemos observar uma padronização dos dados obtidos nos três experimentos (PL15, PL20 e PL25). Os picos máximos de pós-larvas no estágio de PrMF ocorrem em torno de 24 e 30 horas de experimento, diminuindo com 48 horas para depois aumentar até o final. A diferença entre a aclimação com redução de salinidade nas 24 primeiras horas para o controle com salinidade constante esteve basicamente nas frequências médias de pls em PrMF e nos períodos de pico de pós-larvas em PM-I. De modo geral o tratamento de aclimação apresentou maiores frequências de pós-larvas em PrMF ao longo das primeiras 30 horas.

O período mais indicado para o transporte é quando a maioria das pós-larvas estiver no estágio de PM-I, pois neste período provavelmente ocorrerá um menor número de muda nas caixas de transporte.

Possivelmente a redução de salinidade tenha homogeneizado os lotes de pós-larvas amostrados. A homogeneização das pós-larvas pode ter sido uma resposta às modificações da qualidade de água, a tendência da maioria das pós-larvas de estarem no estágio de pré-muda final no final do processo de aclimação pode ter sido uma adaptação fisiológica a um período de estresse.

Trabalhos e publicações referentes ao processo de muda nos camarões, pouco investigam os fatores ambientais que influenciam a muda, apenas destacam a importância e a influência dos fatores ambientais no processo de muda.

Segundo Barnes (1984) a regulação dos hormônios da muda, portanto a regulação o ciclo da muda, dependem de estímulos que operam no sistema nervoso central. A frequência de muda pode esta relacionada às condições ambientais (Barbieri e Ostrensky, 2002).

Withers (1992) e Wyban and Sweeney (1990) destaca a importância de fatores externos como fotoperíodo, temperatura, salinidade e viabilidade de alimento como fatores que podem exercer influência sobre o controle hormonal da muda.

Vernberg and Vernberg (1983) e Abele (1982) destacam que a salinidade exerce menos influência ao processo de muda em crustáceos se comparado com a temperatura e o fotoperíodo.

Para camarões cultivados em viveiros o ciclo lunar e a troca de água exercem influência sobre o processo de muda, Lee and Wickins (1992). É conhecido que condições ambientais como as fases lunares influenciam a fisiologia dos crustáceos. Dall *et al.*, (1990) encontraram sincronia entre a muda e o ciclo lunar, sendo que a maioria dos camarões mudou de cutícula nas luas cheia e nova. Porém o ciclo lunar não deve influenciar o processo de muda das pós-larvas devido à taxa de crescimento ser alta, pois pós-larvas (15 a 25) realizam a muda em torno de 48 horas conforme o observado neste experimento.

Fatores que influenciam o processo de muda devem afetar somente uma parcela e não todas as pós-larvas, conforme observado nestes experimentos.

Através dos resultados observamos a influência da salinidade no processo de muda das pós-larvas, no entanto é preciso que a identificação dos estágios de muda durante a aclimação e a preparação para o transporte ocorra junto com um planejamento para que melhores resultados de sobrevivência sejam obtidos, evitando o sincronismo de muda durante o transporte das pós-larvas para as fazendas de engorda.

5 – Conclusão

Através das análises morfológicas dos urópodos podemos confirmar três diferentes estágios do ciclo de muda das pós-larvas. O primeiro estágio é o de pós-muda e intermuda, o segundo é o de pré-muda inicial e o terceiro é o de pré-muda final.

A redução de salinidade durante a aclimatação influencia no processo de muda das pós-larvas.

Nos picos de pré-muda final as unidades de aclimatação apresentaram médias superiores às médias apresentadas pelas unidades de controle.

As concentrações de pós-larvas no estágio de pré-muda final é maior entre 24 e 30 horas após o início do experimento.

É recomendável que o transporte das pós-larvas seja realizado aproximadamente 40 horas após o início do processo de aclimatação para não coincidir com os picos de pré-muda final, quando as pós-larvas estariam próximas a realizarem a muda, evitando que o evento da muda se realize durante o período de transporte.

6 - Referências Bibliográficas

- ABELE, L. G. **The Biology of Crustacea. Embryology.** Morphology and Genetics. vol. 2. 1982. 440p.
- BARBIERI, R. C. Jr.; OSTRENSKY, A. **Camarões Marinhos . Engorda.** Ed. Aprenda Fácil. Viçosa. 2002. 370p.
- BARNES, R. **Zoologia dos Invertebrados.** 4º ed. São Paulo: roca, 1984. 1179p.
- BOYD, C.; FAST, A. W. **Pond monitoring and management.** In: Fast, A. W., Lester, L. J. (ed.). *Marine shrimp culture: Principles and Practices.* Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V. 1992. p. 497-513.
- BOYD, C. **Water Quality in Ponds for Aquaculture.** Alabama: Birmingham Publishing Co. 1990. p. 482.
- BOYD, C. **Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming.** Fisheries and Allied Aquacultures Departmental Series #2. Auburn University. 1989. p.83.
- DALL, W.; HILL, B. J.; ROTH LISBERG, P. C.; STAPLES, D. J. **The Biology of Penaidae.** *Advances in Marine Biology.* Vol. 27. Academic Press, Cornwall. 1990. 484p.
- LEE, D. O.; WICKINS, J. F. **Crustacean Farming. Ranching and Culture.** 2º ed. 1992. 392p.
- MORAES, R. C. **Influência da densidade e idade no transporte de pós-larva de camarão marinho Litopenaeus vannamei.** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina. 2004. 33p.
- ROBERTSON, L.; BRAY, W.; LEUNG-TRUJILLO, J.; LAWRENCE, A. **Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris*.** *Journal World Aquaculture Society.* 18 (3). 1987. 180–185.

VERNBERG, F. J.; VERNBERG, W. B. **The Biology of Crustacea**. Environmental Adaptacion. Vol. 8. 1983. 383p.

VEGA, A.; DE LA CRUZ, A. **Efecto de la temperatura, la salinidad y el pH sobre las larvas del camaron *Penaeus shimiti***. Revista de investigaciones Marinas 9 (1), 1988. p.25-38.

WYBAN, J. A.; SWEENEY, J. N. **Intensive Shrimp Production Technology**. The Oceanic Institute, Waimanlo. Hawaii, USA. 1991.

WITHERS, P. C. **Comparative Animal Physiology**. The University of Western Australia. 1992. 949p.

ZAR, J. H. **Bioestatistical Analysis** . 3^a edição Prentice Hall, New Jersey. 1996. 662p.

ZILLI, L.; VILELLA, S.; SCORDELLA, G.; ZONNO, V. **Researchers capture images for practical molt stage analysis in shrimp**. Global Aquaculture Advocate. October. 2003. p.56

Considerações finais

O presente trabalho constatou a influência da redução de salinidade sobre o comportamento dos estágios de muda de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei*.

O processo de muda exerce efeito sobre a fisiologia e o comportamento das pós-larvas, influenciando a capacidade de resistência às variações climáticas dependendo do estágio de muda.

A identificação dos estágios de muda pode se tornar uma ferramenta importante no planejamento de processos como aclimação, transporte e até mesmo em despesca em fazendas de engorda, a fim de se obter maior segurança e evitar possíveis prejuízos.

Recomendam-se outros experimentos com pós-larvas, utilizando outros parâmetros como; temperatura, oxigênio dissolvido, disponibilidade de alimento entre outros, já destacados pelos autores como variáveis que influenciam o comportamento dos estágios de muda.

Referências Bibliográficas da Introdução

- ABCC. **Agronegócio do Camarão Cultivado**. Associação Brasileira de Criadores de Camarões. Recife, PE. 2002. 20p.
- ARTILES, M.; JAIME, B.; PÉREZ-ZAR, L. **Evaluación de la calidad de las postlarvas de camaron blanco *Penaeus shimitti* mediante diferentes pruebas de estrés**. Rev. Invest. Mar. v. 20, n. 1-3. 1999. p.82-88.
- BARBIERI, R. C. Jr.; OSTRENSKY, A. **Camarões Marinhos . Engorda**. Ed. Aprenda Fácil. Viçosa. 2002. 370p.
- BARNES, R. **Zoologia dos Invertebrados**. 4º ed. São Paulo: roca, 1984. 1179p.
- BELTRAME, E.; SEIFFERT, W. **Despesca e transporte de pós-larvas**. In: II Curso Internacional sobre Produção de Pós-larvas de Camarão Marinho. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo – CYTED, Florianópolis. 1997. p.153 – 156.
- BETANCOURT, I.; CALDERÓN, J.; SAGI, A. **Estadios de muda en hembras adultas de *Penaeus vannamei***. Aquaculture Tropical. 1. 1993.13–15.
- BRAY, W. A.; LAWRENCE, A. L.; LEUNG-TRUJILLO, J. R. **The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei* with observation on the interation of IHNV virus and salinity**. Aquaculture 122. 1994. 133–146.
- CASTILLE, Jr. F. L.; LAWRENCE, A. L. **The effect of salinity on the osmotic sodium and chloride concentration in the hemolymph of eurihaline shrimp of the genus *Penaeus***. Comp. Biochem. Physiol. 68A. 1981. 75–80.
- CEPA/SC. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2000 – 2001**. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Rural e da Agricultura, Florianópolis. 2001. 248p.

- CHAN, S. M.; RANKIN S. M.; KEELEY, L. L. **Characterization of the molt stages in *Penaeus vannamei***. Setogenesis and hemolymph levels of total protein, ecdysteroids, and glucose. Biol. Bull. 175. 1988.185–192,
- CHARMANTIER, G.; SOYES, C. Aquacop. **Effect of molt stage and hypoxia on osmorregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei***. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 178. 1994. 233–246.
- CHARMANTIER, G.; CHARMANTIER-DAURES, M.; BOUARICHA, N.; THUET, P.; AIKEN, D. E.; TRILLES, J-P. **Ontogeny of osmorregulation and salinity tolerance in two decapod crustaceans**. *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. Biol. Bull. 175. 1988. p.102-110..
- CHENG, W.; LIU, C.; YAN, D.; CHEN, J. **Hemolymph oxyhemolymph, protein, osmolaty and electrolyte levels of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to size and molt stage**. Aquaculture 221. 2002. 325–339.
- FAST, A. W.; LESTER, L. J. **Marine Shrimp Culture: Principles and particles**. Developments in Aquaculture and fishers science, vol. 23. Elsevier Science Publishers. 1992.
- FAO. **Aquaculture Development**. FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries, n.5.Rome: FAO, 2004.
- FAO (Food and Aquaculture Organization of the United Nations). **Fishery information data and statistic unit**. Aquaculture production statistic 1987-1996. FAO Fisheries Circular, Roma, n.815. 1998. p.197,
- HUNTER, D. A.; UGLOW, R. F. **Molt stage dependent variability of hemolimph ammonia and total protein levels of *Crangon crangon* (L) (Cruatacea, Decapoda)**. Ophelia 37. 1993. 41–50.

- LEE, D. O.; WICKINS, J. F. **Cultivo de Crustáceos**. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, Espanha. 1997. 449p.
- LIGNOT, J. H.; COCHARD, J. C.; SOYES, C.; LEMAIRE, P.; CHARMANTIER, G. **Osmorregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris***. *Aquaculture* 170. 1999. 79–92.
- MACGRAW, W. J.; DAVIS, D. A.; TEICHERT-CODDINGTON, D.; ROUSE, D. B. **Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity. Influence of age salinity endpoint and rate of salinity reduction**. *Journal World Aquaculture Society*. 33. 2002. 78–84
- MACGRAW, W. J.; SCARPA, J. **Mortality freshwater acclimated *Litopenaeus vannamei* associated with acclimation rate, habituation period, and ionic challenge**. *Aquaculture* 236. 2004. 285–296.
- MANTEL, L. H.; FARMER, L. L. **The Biology of Crustacea**. Osmotic and ionic regulation. vol. 5. Academic Press, New York. 1983. p.53 –161.
- MOLINA, C.; CADENA, E. **Alimentación de camarones en relación a la actividad enzimática como una respuesta natural al ciclo de muda**. *El mundo Acuícola*. Fundación Cenaim – ESPOL. Vol. 7, No 1. 2001.
- MORAES, R. C. **Influência da densidade e idade no transporte de pós-larva de camarão marinho *Litopenaeus vannamei***. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina. 2004. 33p.
- OLIN, P. G.; FAST A. W. **Penaeid PL harvest, transport, acclimation and stocking**. In: Fast, A. W., Lester, L. J. (Eds) *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier Science Publishers. 1992. p.301 – 320.
- PANORAMA DA AQUICULTURA. **Carcinicultura Brasileira: O censo de 2003**. Rio de Janeiro, RJ. Vol. 14, nº 82, março/abril, 2004. 66p

- ROBERTSON, L.; BRAY, W.; LEUNG-TRUJILLO, J.; LAWRENCE, A. **Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris***. Journal World Aquaculture Society. 18 (3). 1987. 180–185.
- ROCHA, I. P.; MAIA, E. P. **Desenvolvimento tecnológico e perspectivas de crescimento de carcinicultura marinha brasileira**. Anais da Aqüicultura Brasil 98, Recife. v 1 1998. p.213 – 229.
- SAMOCHA, T. M.; GUAJARDO, H.; LAWRENCE, A.L.; CASTILLE, F. L.; SPEED, M.; MCKEE, D.; PAGE, K. I. **A simple stress test for *Penaeus vannamei* postlarvae**. Aquaculture 165. 1998. 233–242.
- VILLALON, J. R. **Practical Manual for Semi-Intensive Commercial Production of Marine Shrimp**. Texas A&M University Sea Grant College Program. Galveston, Tx. 1991. 104p.
- WAJSBROT, N.; GASITH, A.; KROM, M. D.; SAMOCHA, T. M. **Effect of dissolved oxygen and the molt stage on the acute toxicity of ammonia to juvenile Green Tiger prawn *Penaeus semisulcatus***. Environ. Toxicol. Chem. 9. 1990. 497–504.
- ZILLI, L.; VILELLA, S.; SCORDELLA, G.; ZONNO, V. **Researchers capture images for practical molt stage analysis in shrimp**. Global Aquaculture Advocate. October. 2003. p.56