

ERIC SILVA FERREIRA

**Efeitos do Substrato e da Densidade Populacional Sobre as
Atividades Comportamentais e Níveis de Hemócitos em relação à
Densidade em *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do
Rio Grande do Norte, para obtenção do título de
Mestre em Psicobiologia.

NATAL-RN
2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ERIC SILVA FERREIRA

**Efeitos do Substrato e da Densidade Populacional Sobre as
Atividades Comportamentais e Níveis de Hemócitos em relação à
Densidade em *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do
Rio Grande do Norte, para obtenção do título de
Mestre em Psicobiologia.

Orientadora: **Prof^ª. Maria de Fátima Arruda de Miranda (Dra.)**
Co-Orientadora: **Prof^ª. Fabiana Lima Bezerra (Ms.)**

NATAL-RN
2006

“AOS MEUS PAIS (SEU PAULO E DONA CLARICE) E MINHA IRMÃ (ELIANE), POR TODO O APOIO.”

AGRADECIMENTOS

À professora e orientadora Fátima Arruda, por me fazer perceber o quanto pode ser valiosa cada informação em uma pesquisa e por sempre ter uma solução criativa aos problemas. Também agradeço pela paciência e bom humor.

À Fabiana Bezerra pela importante atenção na discussão do projeto, apoio com a bibliografia e métodos imunológicos.

À Cibele Pontes pela ajuda em obter os animais do experimento e dicas na análise dos dados.

À Patrícia Lima, pelo treinamento em observações de camarões e dicas na análise dos dados.

Aos alunos pós-graduação, que de uma forma ou de outra compartilham o gosto da pesquisa científica. Agradeço especialmente a minha turma de mestrado 2004.

Um agradecimento a minha amiga de turma Fabiana e também ao Wall, por ler e opinar positivamente na revisão do trabalho.

Aos Professores da pós-graduação: Arrilton, Alexandre, Bernadete, Emília, Fabíola, Fátima Arruda, Fátima Campos, Fívia, Hélderes, Márcio e Luiza, pela dedicação e qualidade das disciplinas ministradas.

À turma do laboratório de imunologia, Cimária, Emmanuel e Ligia, por me receber com atenção e me mostrar a rotina de um laboratório.

Aos pesquisadores que participaram da coleta de dados neste trabalho, até mesmo em alguns fins de semana e feriados, sendo fundamentais para a concretização desta pesquisa: *Myrli, Juliana, Priscila e Melquiéges*, o meu muito obrigado.

Às fazendas PAPEBA e MARINE por fornecerem animais e ração para a realização desta pesquisa.

Ao Departamento de Fisiologia e a Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pelo apoio logístico e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos neste mestrado.

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
1.0 - INTRODUÇÃO	01
2.0 - OBJETIVOS	08
2.1 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS	08
3.0 - HIPÓTESES E PREDIÇÕES	08
4.0 - MATERIAL E MÉTODOS	09
4.1 - LOCAL DE ESTUDO	09
4.2 - CRONOGRAMA	09
4.3 - MATERIAL BIOLÓGICO	09
4.4 - UNIDADES EXPERIMENTAIS E CONDIÇÃO EXPERIMENTAL	10
4.5 - METODOLOGIA DE OBSERVAÇÃO	11
4.5.1 - DESCRIÇÃO DAS CATEGORIAS COMPORTAMENTAIS	12
4.6 - EXPERIMENTO I: PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS DE <i>L. vannamei</i> EM DIFERENTES SUBSTRATOS.	13
4.7 - EXPERIMENTO II: PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS E NÍVEIS DE HEMÓCITOS DE <i>L. vannamei</i> EM DIFERENTES DENSIDADES POPULACIONAIS.	14
4.8 - BIOMETRIA	15
4.9 - EXTRAÇÃO E CONTAGEM DE HEMÓCITOS TOTAL (CHT)	16
5.0 - ANÁLISE ESTATÍSTICA	16
6.0 - RESULTADOS	18
6.1 - EXPERIMENTO I: PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS DE <i>L. vannamei</i> EM DIFERENTES SUBSTRATOS.	18
6.1.1 – PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS	18
6.1.2 – DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DOS COMPORTAMENTOS	19
6.1.3 - PROXIMIDADE	25
6.1.4 - CRESCIMENTO	26
6.1.5 - ECDISES	27
6.1.6 - ABRIGO	28
6.2 - EXPERIMENTO II: PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS E NÍVEIS DE HEMÓCITOS DE <i>L. vannamei</i> EM DIFERENTES DENSIDADES POPULACIONAIS.	29
6.2.1 - PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS	29
6.2.2 - DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DOS COMPORTAMENTOS	30
6.2.3 - CRESCIMENTO	37
6.2.4 - ECDISES	37
6.2.5 - CHT – CONTAGEM DE HEMÓCITOS TOTAIS	38
6.2.6 - MORTALIDADE	39
7.0 - DISCUSSÃO	41
8.0 - CONCLUSÃO	51
9.0 - REFERÊNCIAS	52

RESUMO

A carcinicultura brasileira ocupa lugar de destaque mundial devido à criação de camarão, sendo o Rio Grande do Norte o maior produtor no cultivo de *Litopenaeus vannamei*. Essa espécie apresenta grande adaptação ambiental e está entre os cinco peneídeos mais cultivados do mundo. A criação é realizada em viveiros nas áreas próximas a cursos d'água e estuários. Altas densidades populacionais e o substrato dos viveiros acarretam o aumento da poluição e promovem perdas no crescimento e na sobrevivência dos camarões, sendo considerados fatores estressantes. Esses fatores podem comprometer a produtividade dos viveiros e favorecer doenças, sendo importante verificar como essas variáveis influenciam no desenvolvimento dos animais nas fazendas de cultivo. Nosso objetivo foi estudar a influência do tipo de substrato e da densidade populacional sobre o padrão de atividades comportamentais e os níveis de hemócitos (CHT) de *L. vannamei*. Em aquários com 30 litros de água salgada com aeração contínua e em fotoperíodo 12C 12E (claro das 06:00 às 18:00), camarões juvenis marcados individualmente foram observados pelos métodos *Ad libitum* e focal instantâneo durante 30 dias, 5 vezes por semana, 6 observações diárias (iniciando a primeira às 8:00 e a última às 18:00) em janelas de 15 minutos a cada duas horas, sendo registrado a cada minuto os seus comportamentos e localização. Também foi feita a marcação da carapaça para quantificar as ecdises e a alimentação foi fornecida três vezes ao dia. Dois experimentos foram realizados: três substratos diferenciados (Areia, Seixos Pequenos e Seixos Grandes) com 33 animais/m²; e outro com três densidades populacionais (26, 52 e 66 animais/m²) em substrato arenoso. Ao final dos experimentos, foram feitas a biometria dos camarões e a contagem de hemócitos (apenas no 2º experimento). O padrão geral de atividades comportamentais de *L. vannamei* não foi influenciado pelo substrato e densidade populacional. Contudo, à medida que diminuiu a granulometria do substrato, o comportamento de exploração tornou-se mais freqüente e reduziu a inatividade dos camarões. O enterramento foi registrado em substrato arenoso, sendo maior no período inicial do dia. A limpeza distribuiu-se de forma crescente à medida que a fase escura se aproximava, sendo maior à noite. A ingestão alimentar foi mais freqüente em densidade baixa; acarretando maior crescimento nos camarões. Houve maior ganho de peso nos animais em substrato arenoso, podendo estar associado com o enterramento e a taxa de crescimento dos animais. A taxa de ecdise foi igual em todos os substratos testados, mas a taxa de ecdise foi maior em maiores densidades. A mortalidade foi mais elevada em condições de maiores densidades, sendo registrados canibalismo e enfermidades nos animais. Os sinais clínicos foram semelhantes aos da mionecrose infecciosa (IMNV), geralmente associada ao estresse ambiental. Os níveis de hemócitos foram baixos para os padrões dos peneídeos, atribuída pela maior diluição da hemolinfa na fase de pós-ecdise. Camarões menores apresentaram números de hemócitos reduzidos em relação aos maiores, sendo também baixos em densidade de 26 camarões/m². O estudo demonstrou que os efeitos da densidade populacional elevada e a granulometria do substrato podem afetar o bem estar, a saúde e o comportamento de *L. vannamei*. O uso de substrato arenoso e baixa densidade populacional parecem ser medidas de manejo importantes em um sistema de produção de camarão.

ABSTRACT

Carciniculture in Brazil occupies world-wide prominence due to shrimp culture, and the state of Rio Grande do Norte has presented the best results in the culture of the *Litopenaeus vannamei* in the last decade. This species has been shown to adapt easily to different environments and is between the five most cultivated penaeids of the world. The ponds are usually constructed in areas close to water courses and estuaries. Stock density and substrate ponds can pollute environment, causing losses in the growth and survival of the shrimps, being considered stress factors. Shrimps in inadequate densities and substrates can result reduced productivity of the farm; and favor diseases. So, it is important to verify how these variables influence the development of the animals in the culture farms. Our objective was to study the influence of the type of substrate and the stock density on the behavior and haemocyte count of the *L. vannamei*. Individually marked juvenile shrimps were kept in aquaria with 30 L of seawater and continuous aeration, in 12L-12D photoperiod. They were observed through *Ad libitum* and focal sampling instantaneous methods during thirty days, five times per week, six times per day (8:00 to 18:00) in windows of 15 minutes every two hours. The marking of carapace permitted quantifying molting and the feeding was supplied three times a day. Two experiments were carried out: the first one tested animals in the three different substrates (fine sand, smaller rocks-SPP and biggest rocks-SGR) with 33 shrimp/m². In the second one, the animals were tested in three stock densities (26, 52 and 66 shrimp/m²) in fine sand substrate. At the end of experiment, biometry (first and second ones) and haemocyte count (second one) were made. The behavior of the *L. vannamei* seems to have been influenced by substrate and stocking density. In low granulometry of the substrate; the exploratory behavior became more frequent and inactivity of the shrimps was reduced. Burrowing was registered in sand substrate, specially in the initial period of the day. Cleaning was gradually higher along the day, presenting the biggest levels as the dark phase approached. The ingestion of feeding was more frequent in low density, and the animals were bigger and heavier at the end of the experiment. In the fine sand condition, the animals presented better growth, probably associated with the burrowing. The molting was equivalent in all types of substrate, but it was more frequent in high densities. Mortality of the shrimps was more frequent in high densities, and cannibalism and diseases were also registered in that condition. The clinical signals were similar to the ones of infectious mionecrosis (IMNV), generally associated with environment and physical stress. The haemocyte count was low for the hematologic standards of the penaeid, which we attributed for greater dilution of haemolymph in the postmolting phase. Smaller shrimps presented lower levels of haemocytes in relation to the bigger animals, count was also low in 26 shrimp/m² density. The study demonstrates that stocking density and the granulometry of the substrate can affect the welfare, the health and the behavior of the *L. vannamei*. The sand substrate and low stocking density can be important tools in the management systems of shrimp production.

1.0 - INTRODUÇÃO

A carcinicultura é definida como o cultivo de crustáceos (*Artemia*, camarões, caranguejos, lagostas, siris, dentre outros) (ABCC, 2005). Nos últimos anos, a carcinicultura brasileira vem ocupando lugar de destaque no cenário mundial devido ao aumento da produtividade, principalmente com relação ao cultivo de camarão.

Dentre os fatores que contribuem para que a produção brasileira ocupe lugar de importância no âmbito da carcinicultura, sobretudo do Hemisfério Ocidental, está o desenvolvimento e a adoção de tecnologia apropriada de manejo em todas as etapas do processo produtivo, cujo aperfeiçoamento e emprego sistemáticos vêm contribuindo para a melhoria dos índices técnicos e, conseqüentemente, dos níveis de produtividade e rentabilidade dos cultivos (Rocha, Rodrigues & Amorim, 2004). O emprego de espécies tanto nativas quanto exóticas contribuiu para a melhoria dos segmentos produtivos na atividade de criação de camarões no Brasil (Maia, 1993).

O Nordeste brasileiro proporciona condições ideais ao cultivo de camarão, pois apresenta pouca variação climática, temperatura e salinidade estáveis, bem como uma grande incidência de luz solar, fatores esses que favorecem o desenvolvimento adequado do camarão em condições de cativeiro (Salim, 2002). O Estado do Rio Grande do Norte enquadra-se na carcinicultura como o maior produtor brasileiro de camarão marinho, em número de produtores, área de viveiros e volume produzido, seguido pelo Estado do Ceará (Rocha, Rodrigues & Amorim, 2004). O desenvolvimento da carcinicultura tem-se fundamentado principalmente nos resultados da introdução e do cultivo do camarão branco marinho *Litopenaeus vannamei*.

Os camarões marinhos ou peneídeos constituem um dos mais importantes produtos da indústria pesqueira mundial. Estes organismos possuem hábitos bentônicos e gregários, sendo que o acasalamento e a desova ocorrem em águas oceânicas, passando a fase larval nesse meio até atingir a fase pós-larval, quando migram para as regiões costeiras e estuarinas. Na fase juvenil, os animais retornam para as regiões oceânicas, onde ocorre a maturação sexual (Harrison, 1990).

O camarão branco *L. vannamei*, pertencente à Família Penaeidae e à Ordem Decapoda, é uma espécie exótica no Brasil e tem como origem as regiões equatorial e

tropical do Pacífico, na costa do continente americano. Esta espécie apresenta uma grande capacidade de adaptação às variáveis ambientais que envolvem o meio de cultivo (pH, salinidade, alimentação) e está entre as cinco espécies de camarões marinhos mais cultivadas no mundo (Nunes, 2001). Em ambiente natural, pode ser encontrado nas regiões bentônicas cuja profundidade pode atingir até 72 metros, com temperaturas que variam de 26 a 28° C. Sua reprodução ocorre em alto mar e as pós-larvas geradas migram para a costa, completando o seu desenvolvimento (Wyban & Sweeney, 1989).

Em termos nutricionais, Dall (1992) afirma que o camarão é herbívoro nas primeiras fases larvais e modifica gradativamente sua nutrição à medida que se desenvolvem, tornando-se animais carnívoros. Na fase juvenil e adulta são onívoros, alimentando-se principalmente de microinvertebrados aquáticos e matéria vegetal. Além disso, estes animais apresentam comportamento detritívoro, alimentando-se de material orgânico presente no substrato. Visto que sua alimentação é rica em carboidratos e proteínas, esta pode influenciar na eficiência energética e garantir maior crescimento corporal (Rosas *et al.*, 2001).

No desenvolvimento desses organismos, a muda ou ecdise, um processo comum a todos os crustáceos, consiste na substituição do exoesqueleto de quitina por um novo, em que ocorre a expulsão da carapaça (exúvia), necessária para o crescimento corpóreo desses animais.

O ciclo de muda apresenta os estágios de pós-ecdise (A-B), intermuda (C), pré-ecdise (D) e ecdise (E). A pós-ecdise é caracterizada pelo momento posterior à ecdise, o animal apresenta a carapaça pouco rígida e ocorre grande absorção de água, causando crescimento corpóreo; na intermuda, a carapaça está totalmente rígida e o animal exerce plena atividade comportamental; a pré-ecdise é o estágio de preparação do animal para a próxima muda, com formação de uma nova cutícula logo abaixo da carapaça; a ecdise é o momento em que o novo exoesqueleto emerge, expulsando o antigo exoesqueleto (Promwikorn, Kirirat & Thaweethamsewee, 2004).

A taxa de muda e o crescimento dos crustáceos diminuem à medida que avança o desenvolvimento ontogenético (Barnabé, 1996). Cuzin-Roudy, Tarling e Strömberg (2004) constataram que a taxa de muda também pode variar de acordo com as estações

do ano, sendo mais freqüente no verão e na primavera, como na espécie *krill* (*Meganyctiphanes norvegica*), influenciada pela temperatura elevada das águas. No outono, o ciclo de muda dos adultos é longo e o crescimento corporal é paralisado.

Os crustáceos podem apresentar variações no intervalo de muda quando na presença ou na ausência de outros animais da mesma espécie. Em *Cherax quadricarinatus*, o crescimento corporal é maior quando se encontram isolados de outros da mesma espécie, apresentando menor intervalo entre mudas e conseqüentemente maior número de mudas (Karplus & Barki, 2004).

Os animais tendem a se isolar para realizar a muda, podendo esse tipo de comportamento ser associado a uma estratégia antipredatória (Volpato & Hoshino, 1987), já que esse comportamento de defesa contra canibalismo durante a ecdise pode ser um diferencial no processo evolutivo, garantindo a sobrevivência dos indivíduos (Volpato & Hoshino, 1984). Entretanto, não há estudos que relacionem esse tipo de comportamento com o ambiente de cultivo.

O cultivo de camarão é geralmente realizado em tanques e/ou viveiros em áreas próximas a cursos d'água e estuários, o que pode propiciar degradação ambiental se for feito de modo indiscriminado e sem o devido manejo. O acúmulo de matéria orgânica proveniente de restos da alimentação pode acelerar o processo de degradação do solo e da água no cultivo e em áreas adjacentes (Nunes, Goddart & Gesteira, 1996; Paquotte *et al.*, 1998).

Segundo Stickney (2000), o dano ambiental decorrente do cultivo de camarão está fortemente associado aos tipos de cultivo desenvolvidos. Para Stickney, os tipos de cultivo de camarão são caracterizados em termos de densidade populacional (tamanho da população por unidade de espaço) e oferta de alimento: cultivo extensivo (sem alimentação adicional e densidade de 1 a 3 animais/m²); semi-intensivo (com alimentação adicional e densidade entre 10 a 50 animais/m²); intensivo (alimentação própria exclusiva e densidade entre 10 a 50 animais/m²) e o super intensivo (alimentação própria exclusiva e densidade de até 160 animais/m²). Dados empíricos apontam uma densidade populacional satisfatória por volta de 30 animais/m², para a atual condição de cultivo da espécie *L. vannamei* (Cibele S. Pontes, comunicação pessoal).

A densidade populacional é um fator limitante importante à sobrevivência dos animais no ambiente natural, sendo que sua elevação pode acarretar no aumento da competição intra-específica, maior atração de predadores, surgimento de parasitas e maior disseminação de doenças na população (Odum, 1988).

O aumento da densidade populacional nos viveiros de camarões acarreta o aumento na geração de resíduos orgânicos com alto grau de poluição, resultantes da excreção dos animais e da utilização de antibióticos e/ou fertilizantes químicos, o que pode causar impacto ambiental nos locais onde se desenvolve o cultivo (Macintosh & Phillips, 1992), além de promover estresse nos animais, com redução do crescimento e na sobrevivência (Coman, Crocos, Preston & Fielder, 2004).

Paquette e colaboradores (1998) verificaram que a taxa de crescimento corporal e o ganho de peso em *Litopenaeus vannamei* reduzem à medida que aumenta a densidade populacional dentro do viveiro. Também, a taxa de sobrevivência dos camarões é menor em cultivos de alta densidade, como verificada na espécie *Penaeus japonicus* (Coman, Crocos, Preston & Fielder, 2004).

Na espécie de camarão *Macrobracium iheringi*, a densidade populacional pode alterar a fisiologia de modo a influenciar na ritmicidade da ecdise. Nos grupos em que a densidade populacional é considerada baixa os animais realizam a ecdise principalmente na fase escura do período de 24 horas, fase em que os camarões são mais ativos. Em condições de agrupamentos maiores, as ecdises acontecem geralmente na fase clara (Volpato & Hoshino, 1987).

Além da densidade populacional, outro fator que pode causar alterações comportamentais e fisiológicas nos camarões é a presença de substratos no ambiente de cultivo, sendo o substrato o meio físico em que os animais bentônicos se deslocam, descansam, abrigam-se e procuram alimento. Atualmente não existem estudos que demonstrem a influência do substrato sobre a criação e atividade comportamental dos camarões.

O substrato de fundo em um viveiro de camarão é geralmente constituído por solos arenosos, areno-argilosos e/ou argilo-arenosos, apresentando uma textura composta de argila (<4 µm), silte (4 a 64 µm), e areia (64 µm a 2 mm), com pH

próximo a 7 (neutro) e não contendo mais do que 10% de matéria orgânica (Figueiredo *et al.*, 2004).

A quantidade de areia, silte e argila determinam o tipo de solo. A mistura dos sedimentos de diversas granulometrias que inclua de 10 a 20% de argila é considerada ideal para o solo do substrato nas fazendas de camarão (Figueiredo *et al.*, 2004) e esse solo pode afetar o crescimento do camarão (Ritvo, Samocha, Lawrence & Neill, 1998). Dall, Hill, Rothlisberg e Staples (1990) relataram que os camarões peneídeos preferem sedimentos com tamanho de 62 μm a 1 milímetro, dimensões estas que facilitariam a captura de alimento no substrato e o enterramento dos camarões.

Poucos estudos científicos relacionam o substrato de fundo com a produtividade dos cultivos de camarão. Em *Metapenaeus macleayi*, o substrato pode influenciar na taxa de crescimento e sobrevivência, sendo que camarões cultivados em ambiente com substrato arenoso apresentam maiores taxas de sobrevivência (Allan & Manguire, 1995) e maior ganho de peso (Bratvold & Browdy, 2001) em relação aos animais criados na ausência de substrato. Em condições de criação de camarão em que há presença de substratos arenosos, a concentração da amônia na água do cultivo é reduzida (Allan & Manguire, 1995; Bratvold & Browdy, 2001), minimizando o seu efeito estressante aos camarões.

Fatores no ambiente de cultivo e fatores endógenos aos animais podem provocar mudanças fisiológicas e comportamentais nos crustáceos (Hindley, 1975), contribuindo para o surgimento de doenças e podendo provocar a morte dos animais. O impacto desses estressores nos organismos tem sido geralmente mensurado pela taxa de crescimento, ganho de peso e sobrevivência dos animais.

O estresse é a resposta fisiológica ou comportamental do organismo mediante as perturbações em seu balanço fisiológico (homeostase), tratando-se de todas as respostas em meio a mudanças, significando o esforço de adaptação do organismo para enfrentar situações ameaçadoras à vida e ao equilíbrio interno. Os componentes envolvidos no estresse são os fatores estressores e as respostas do organismo a esses fatores (Sapolsky, 2002). São exemplos conhecidos de fatores estressantes: o próprio estado de cativeiro, manipulação, fatores nutricionais, luminosidade, salinidade, oxigênio dissolvido, temperatura e densidade populacional. Esses fatores geram a

resposta de estresse, que alteram a fisiologia, o comportamento ou a sobrevivência dos camarões.

O estresse provocado com a manipulação e a mudança de alimentação pode ocasionar mudanças fisiológicas no que diz respeito aos níveis de enzimas digestivas, alterando a eficiência e a otimização da digestão (Córdova-Murueta, García-Carreño & Navarrete-Del-Toro, 2004).

Uma técnica manipulativa utilizada para a melhoria da produção de camarão e que promove um grande estresse no animal é a ablação. Esta técnica consiste na remoção de um dos pedúnculos oculares, causando aumento da produção de ovos em fêmeas sexualmente maduras (Arcos, Ibarra, Vazquez-Boucard, Palacios & Racotta, 2003). Esse estresse causa um aumento das atividades de natação e de deslocamento, cujo efeito pode ser minimizado com a utilização de anestésicos tópicos e agentes anticoagulantes (Taylor, Vinatea, Ozorio, Schuweitzer & Andreatta, 2004).

A intensidade luminosa também pode atuar como fator estressante, como na ausência ou excesso de iluminação, afetando negativamente a vitelogênese de fêmeas abladadas (Hoang, Lee, Keenan & Marsden, 2002). A luz branca pode influenciar induzindo o crescimento corporal quando comparado com faixas de cores distintas (Wang *et al.*, 2003).

Decamp, Cody, Conquest, Delanoy e Tacon (2003) descreveram que a diminuição da salinidade no ambiente de cultivo provoca a redução no ganho de peso no camarão *L. vannamei*.

Situações em que há baixos níveis de oxigênio dissolvido na água também podem provocar alterações bioquímicas e fisiológicas nos animais, causando maior mortalidade e redução no crescimento (Pérez-Rostro, Racotta & Ibarra, 2004).

O estresse causado por elevação da temperatura da água pode afetar a capacidade imunológica, causando o decréscimo na concentração das células de defesa, alterando os mecanismos da homeostase e dos aspectos reprodutivos em *Litopenaeus setiferus* (Pascual *et al.*, 2003).

Um parâmetro fisiológico bastante utilizado para inferir a saúde dos camarões e que pode servir como um sinalizador fisiológico dos níveis de estresse é o teste hematológico, fazendo a contagem das células do sangue ou hemolinfa (Van de Braak,

Faber & Boon, 1996). Os hemócitos são as células presentes na hemolinfa dos crustáceos e constituem a principal linha de defesa destes organismos contra os agentes patogênicos invasores. Essas células possuem como funções o reconhecimento do não próprio, alta capacidade de fagocitose, encapsulação, formação de nódulos e citotoxicidade, conferindo uma eficiente via de defesa do sistema imune dos crustáceos (Söderhäll & Cerenius, 1992). A concentração de hemócitos pode variar de acordo com a fase de desenvolvimento (Le Moullac *et al.*, 1997), estado nutricional (Pascual *et al.*, 2004) e saúde do animal (Song, Chun, Lien, Huang & Lin, 2003).

O ciclo de muda dos camarões pode influenciar nos níveis de hemócitos, sendo que os animais apresentam maiores concentrações dessas células na fase de pós-ecdise e menores valores durante a intermuda na espécie *Penaeus stylirostris* (Le Moullac *et al.*, 1997).

Em condição de aclimatação ao cativeiro, as concentrações celulares e humorais do sistema imune decrescem em *Litopenaeus setiferus* (Sánchez *et al.*, 2001). Também há redução nas concentrações de hemócitos quando a alimentação é deficiente em carboidratos (Pascual *et al.*, 2004) e quando os animais são infectados por vírus (Song, Chun, Lien, Huang & Lin, 2003).

Os camarões possuem um sistema imunológico eficiente no combate aos agentes patogênicos. Contudo, os cultivos de camarões em densidades populacionais e substratos diferenciados podem vir a comprometer a produtividade dos viveiros e propiciar o surgimento de doenças.

Apesar da existência da prática de cultivo produtivo e em grande escala, há uma carência de estudos científicos e sistemáticos acerca dos padrões comportamentais desses animais, bem como a respeito de suas respostas fisiológicas quando expostos às condições de níveis populacionais elevados (como os encontrados em viveiros, por exemplo) ou em situações de substratos diferenciados. A densidade encaixa-se como um fator estressante relevante e pode promover alterações fisiológicas e comportamentais importantes para o crescimento e para a sobrevivência dos camarões (Coman, Crocos, Preston & Fielder, 2004), assim como o tipo de substrato pode ser decisivo para a expressão comportamental, crescimento e sobrevivência dos camarões. Os estudos laboratoriais e experimentais possibilitam verificar como o tipo de

substrato e a densidade populacional (estresse populacional) influenciam o desenvolvimento dos animais, podendo servir como parâmetros importantes na otimização da produção comercial do camarão branco, *L. vannamei*.

2.0 - OBJETIVO GERAL

Estudar a influência do tipo de substrato e da densidade populacional sobre o padrão de atividades comportamentais e níveis de hemócitos de *Litopenaeus vannamei* submetidos à condição laboratorial.

2.1 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o padrão de atividades comportamentais de *Litopenaeus vannamei* em diferentes substratos e em diferentes densidades populacionais;
- Caracterizar a taxa de muda dos camarões em diferentes substratos e densidades populacionais;
- Obter a quantificação celular de hemócitos em diferentes densidades populacionais do camarão branco, utilizando esse parâmetro como indicador do nível de estresse.

3.0 - HIPÓTESES

- O substrato atua como modificador do padrão de atividades comportamentais e na taxa de muda do camarão branco *Litopenaeus vannamei*.
- A densidade populacional altera o padrão de atividades comportamentais, a taxa de muda e os níveis de hemócitos do camarão branco *Litopenaeus vannamei*.

4.0 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Local de estudo

O estudo foi executado no Laboratório de Estudo do Comportamento de Camarão, pertencente ao Departamento de Fisiologia, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN.

4.2 - Cronograma

Foram realizados dois experimentos: I- Padrão de atividade comportamental de *Litopenaeus vannamei* em diferentes substratos e II- Padrão de atividade comportamental e níveis de hemócitos de *L. vannamei* em diferentes densidades populacionais. Cada experimento foi organizado em duas etapas (Quadro 1).

Quadro 1: Cronograma de pesquisa – coleta de dados dos experimentos de substrato e densidade populacional.

	MAR/05	ABR/05	MAI/05	JUN/05	JUL/05	AGO/05	SET/05	OUT/05	NOV/05	DEZ/05
≠Substratos	Etapa 1	X	X							
	Etapa 2			X	X					
≠Densidades	Etapa 1						X	X		
	Etapa 2								X	X

4.3 - Material biológico

Os camarões utilizados no experimento eram juvenis da espécie *L. vannamei*, com dois meses de cultivo e com peso médio de $5,6 \pm 1,2$ gramas, coletados na Fazenda de Cultivo de Camarões PAPEBA, localizada no município de Georgino Avelino e na Fazenda de Cultivo de Camarões MARINE, localizada no município de Canguaretama, ambas no litoral sul do estado do Rio Grande do Norte. Os animais foram padronizados em tamanho e peso, sendo transferidos para as unidades experimentais e aclimatados por 5 dias à condição experimental. Quatro camarões de cada aquário foram marcados com anéis de silicone em seus pedúnculos oculares, para possibilitar a identificação individual (Pontes e Arruda, 2005).

Para a determinação da ecdise, foram utilizados pequenos círculos de plástico colorido que, colados na carapaça de cada camarão, possibilitaram identificar quando

cada animal sofreu ecdise e sua periodicidade (Volpato & Hoshino, 1987). O monitoramento da ecdise foi realizado diariamente ao longo dos experimentos.

4.4 - Unidades experimentais e condição experimental

Para os experimentos, foram utilizados aquários retangulares de vidro com dimensões de 50 cm x 30 cm x 30 cm. Cada aquário continha 35 litros de água do mar e um sistema fechado de aeração e recirculação constante de água, com filtragem contínua realizada por um filtro biológico interno composto por pedra porosa, cascalho e conchas de moluscos e um filtro externo com carvão ativado, localizado acima dos aquários.

Em cada unidade experimental, foram feitos quatro quadrículos de 12,5 cm de comprimento, delimitados com fita adesiva na face externa anterior do aquário, facilitando a localização dos animais no aquário.

As unidades também continham um cano PVC de 20 cm de comprimento por 5 cm de diâmetro, disposto no sentido da largura dos aquários. Esse cano poderia servir como abrigo ou esconderijo para os animais.

O experimento também contou com dois aquários reservas com animais estoques, com as mesmas características dos animais experimentais, possibilitando a substituição ou reposição dos animais do experimento em caso de morte. A densidade populacional nos aquários reservas era de 66 camarões/m² e o substrato era cascalho.

A qualidade da água das unidades experimentais foi monitorada semanalmente através da mensuração dos principais parâmetros físico-químicos como pH, salinidade, oxigênio dissolvido, temperatura e amônia. O valor médio do pH foi de 7,4 (7,0-7,8), salinidade de 35 mg/L (34-37), oxigênio dissolvido de 7,6 mg/L (7,4-7,9), temperatura média de 27°C (26-29) e amônia de 0,25 mg/L (0- 0,5). Os valores encontrados estavam dentro dos aceitáveis para a espécie *L. vannamei* (ABCC, 2005). Para cada aquário, o substrato utilizado tinha uma espessura média de 4 cm de fundo e a altura da coluna d'água era 25 cm.

A iluminação do laboratório foi controlada automaticamente por meio de um controlador horário eletromecânico (*Timer*), que submeteu os animais a um ciclo claro-escuro de 12 horas para cada fase (6 h início da fase clara e 18 h início da fase

escura). Lâmpadas incandescentes brancas de 32 watts estavam dispostas no teto do laboratório a uma distância média de 1,60 m das unidades experimentais, fornecendo uma iluminação média de 180 lux. As observações na fase de escuro eram feitas através da utilização de lâmpadas incandescentes vermelhas de 15 watts localizadas acima de cada unidade experimental, que geravam uma luminosidade média de 1 lux. A iluminação vermelha foi utilizada de acordo com os trabalhos de Hindley (1975) e Pontes (2003), os quais constataram a não reatividade dos camarões a esse tipo de luminosidade.

A alimentação fornecida era ração peletizada própria para camarão (Camaronina 35) em quantidades diárias correspondentes a aproximadamente 10% da biomassa de cada aquário, ofertada três vezes ao dia nos horários de 8 h, 12 h e 16 h, sendo ofertada no momento inicial das janelas de observação correspondentes. A ração era disposta em um comedouro (bandeja) colocado sobre o substrato do aquário, sendo os restos de alimento retirados uma vez por dia, ao final do dia de observação. Um cano PVC de 30 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro foi utilizado para direcionar o alimento à bandeja.

4.5 - Metodologia de observação

Cada etapa do estudo teve duração de 40 dias, sendo a coleta dos dados comportamentais distribuídas ao longo de seis semanas, cinco dias por semana. Para cada unidade experimental, observações foram realizadas diariamente em seis janelas com duração de 15 minutos cada, distribuídas em intervalos de duas horas, iniciando a primeira janela às 08 h e a última janela de observação às 18 h (8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h e 18 h). Foram, portanto, realizadas cinco janelas na fase clara e uma janela na fase escura, obtendo-se 90 minutos de registros diários para cada aquário observado, o que totalizou 2.700 minutos em cada unidade experimental ao fim de cada etapa do estudo.

Foi utilizado o método animal focal (Martin & Bateson, 1993), com registro instantâneo a cada um minuto, possibilitando o registro das atividades comportamentais, da proximidade entre os animais (ver página 13) e da localização de cada animal individualmente. O método de amostragem permitiu registrar os

comportamentos dos animais marcados de cada unidade experimental. Também foi utilizado o método de amostragem *Ad libitum*, para registros de eventos que ocorreram fora das janelas de observação, como registros de mortalidade e presença de exúvia (carapaça eliminada na muda do animal) nos aquários.

Os registros comportamentais foram feitos por três pesquisadores, que foram treinados antes da coleta de dados e passaram por um teste de confiabilidade cujo valor obtido foi acima de 85% de acertos, o que minimizou os erros nos dados coletados. Cada observador foi responsável pelo registro de três unidades experimentais por janela de observação. Houve também a alternância entre os observadores, de modo que todas as unidades experimentais eram observadas por todos os pesquisadores ao longo do dia de observação e de todo o experimento.

4.5.1 - Descrição das Categorias comportamentais

Em estudo piloto realizado com as mesmas condições experimentais e com adaptação ao trabalho de Pontes e Arruda (2005), foram identificadas as seguintes atividades comportamentais:

- Inatividade: o animal fica imóvel ou estacionário no substrato, movendo ou não os apêndices locomotores (pereiópodos e pleópodos).
- Exploração do substrato: o animal movimentava os pereiópodos quelados (pinças) de modo a escavar ou pinçar o substrato.
- Rastejamento: o animal move os apêndices locomotores e se desloca sobre o substrato.
- Natação: o animal mantém-se suspenso na coluna d'água ou se desloca verticalmente ou horizontalmente na coluna d'água através do movimento dos pleópodos.
- Ingestão alimentar: o animal ingere a ração peletizada fornecida ou a exúvia (carapaça eliminada na muda do animal) presente no aquário.
- Limpeza: o animal utiliza os pereiópodos quelados de modo a pinçar partes de seu corpo; como abdômen, cefalotórax, pedúnculos oculares, dentre outras.
- Enterramento: o animal enterra-se parcial ou totalmente no substrato, através de movimentos dos pereiópodos e pleópodos.

A Proximidade foi registrada quando o animal encontrava-se próximo de outro animal a uma distância menor ou igual a um corpo, incluídos os seus apêndices (antenas, pereiópodos e pleópodos).

A Figura 1 mostra a anatomia externa típica de um camarão marinho, com as principais estruturas e apêndices.

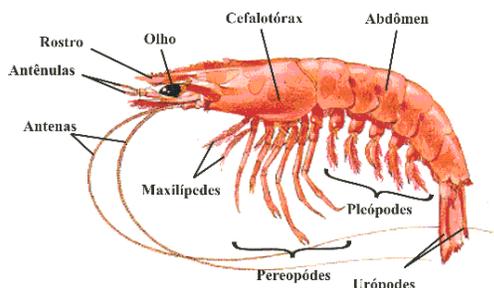


Figura 1: Anatomia externa de um camarão peneídeo.
(fonte:www.cb.ufrn.br/conteudo/cursos/biologia/bio/trabalhos/zoopenaeus/ atualizado em 10/11/2005).

4.6 - Experimento I: Padrão de atividades Comportamentais de *Litopenaeus vannamei* em Diferentes Substratos.

Foram utilizadas seis unidades experimentais com três tipos diferentes de substratos em cada etapa do experimento: Areia fina (**Areia**), Seixos Rolados Pequenos com diâmetro médio de 5 mm (**S PP**) e Seixos Rolados Grandes com diâmetro médio de 10 mm (**S GR**). Em cada etapa foram utilizados dois aquários contendo o substrato **Areia**, dois aquários contendo o substrato **S PP** e dois aquários contendo o substrato **S GR**. Para cada condição experimental foram feitas duas repetições, o que representou uma amostra de quatro unidades experimentais para cada substrato (Quadro 2).

Quadro 2: Número de unidades experimentais (U E) por substrato em cada etapa do experimento.

	Areia	S PP	S GR
Etapa 1	2 U E	2 U E	2 U E
Etapa 2	2 U E	2 U E	2 U E
Total	4 U E	4 U E	4 U E

A densidade populacional de cada unidade experimental foi de cinco camarões por aquário (33 camarões/m²) sendo quatro animais identificados através da marcação artificial com ligas coloridas de silicone no pedúnculo ocular (Quadro 3) e marcação de muda com círculos plásticos colados a carapaça.

Quadro 3: Código de marcação utilizado na identificação individual do camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, em cada condição experimental.

<i>SUBSTRATOS</i>	<i>ANIMAIS</i>				
AREIA	RD	RE	AD	AE	SM
S PP	RD	RE	AD	AE	SM
S GR	RD	RE	AD	AE	SM

RD (anel cor de rosa no pedúnculo ocular direito), RE (anel cor de rosa no pedúnculo ocular esquerdo), AD (anel de cor azul no pedúnculo ocular direito), AE (anel de cor azul no pedúnculo ocular esquerdo), SM (sem marcação).

4.7 - Experimento II: Padrão de Atividades Comportamentais e Níveis de Hemócitos de *Litopenaeus vannamei* em Diferentes Densidades Populacionais.

Os camarões foram distribuídos nos aquários de modo a formar três condições experimentais: dois aquários contendo 4 animais; dois aquários contendo 8 animais; dois aquários contendo 10 animais. As densidades populacionais escolhidas correspondem aos cultivos de 26 camarões/m², 52 camarões/m² e 66 camarões/m², respectivamente.

De acordo com os resultados do experimento I, o substrato adotado para as unidades experimentais do experimento II foi a Areia fina, devido a sua maior semelhança com os substratos presentes no ambiente natural e também nas fazendas de cultivo de camarão.

Para cada condição experimental foram feitas duas repetições, o que representou uma amostra de quatro unidades experimentais para cada densidade populacional (Quadro 4).

Quadro 4: Número de unidades experimentais (U E) por condição de densidade em cada etapa do experimento.

	QUATRO CAMARÕES	OITO CAMARÕES	DEZ CAMARÕES
Etapa 1	2 U E	2 U E	2 U E
Etapa 2	2 U E	2 U E	2 U E
Total	4 U E	4 U E	4 U E

Quatro animais de cada aquário foram marcados com anéis de silicone em seus pedúnculos oculares, garantindo a diferenciação individual (Quadro 5). A marcação da muda foi feita através de círculos coloridos colados na carapaça de cada animal previamente marcado.

Quadro 5: Código de marcação utilizado na identificação individual do camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, em cada condição experimental.

CONDIÇÃO DE DENSIDADE	ANIMAIS
QUATRO ANIMAIS	RD RE AD AE
OITO ANIMAIS	RD RE AD AE 4 SM
DEZ ANIMAIS	RD RE AD AE 6 SM

RD (anel cor de rosa no pedúnculo ocular direito), RE (anel cor de rosa no pedúnculo ocular esquerdo), AD (anel de cor azul no pedúnculo ocular direito), AE (anel de cor azul no pedúnculo ocular esquerdo), SM (sem marcação)

Foram registradas apenas as três primeiras semanas de observação comportamental na condição experimental “dez” animais, devido a maior mortalidade e falta de animais de reposição após as três primeiras semanas de observação.

4.8 - Biometria

Os animais foram pesados e medidos antes do início da observação comportamental. Após as seis semanas de observação, os animais foram novamente medidos, pesados e ocorreu a extração de amostras da hemolinfa de cada camarão (somente no experimento II: condições “oito” e “quatro”), com a finalidade de se fazer a contagem do número de hemócitos presentes nos camarões. Esse procedimento foi realizado seguindo um protocolo de coleta e contagem de hemócitos. A extração ocorreu no dia em que o animal sofreu a ecdise, no momento pós-ecdise (Promwikorn,

Kirirat & Thaweethamsewee, 2004), para eliminar o efeito desse processo sobre a contagem de hemócitos e padronizar as amostras. Em seguida, os animais foram sacrificados.

4.9 - Extração e contagem de hemócitos total (CHT)

Após assepsia tópica com álcool 70%, a hemolinfa dos camarões foi extraída através da punção do seio ventral do primeiro segmento abdominal, utilizando seringas descartáveis de 3 ml de volume, com agulha 0,27 x 25 mm, contendo 400 µL de solução anticoagulante – Alsever modificada (Van de Braak, Faber & Boon, 1996). O volume de hemolinfa extraído variou em cada coleta, porém todas as amostras foram diluídas individualmente e padronizadas. O volume mínimo coletado foi de 100 µL de hemolinfa por animal.

A contagem dos hemócitos total ou THC (*Total Haemocyte Count*) foi feita utilizando a câmara de Neubauer (lâmina retangular de vidro espesso). O volume de 10 µL da amostra diluída foi colocada na câmara e visualizada com auxílio de um microscópio óptico, com objetiva de 40x, seguindo a técnica semelhante à contagem de leucócitos humanos (Carvalho, 1999). O valor encontrado foi expresso em número de hemócitos por milímetro cúbico de hemolinfa, resultante da fórmula:

$$\text{CHT} = \text{n}^\circ \text{ de hemócitos} \times 10 \times \text{fator de diluição} / 4$$

5.0 - Análise estatística

Os dados coletados foram considerados não paramétricos, devido à heterogeneidade das variâncias detectada pela aplicação do teste Levene de homogeneidade de variâncias. No experimento I, para as comparações dos tipos de substratos em relação aos comportamentos e a taxa de ecdise, foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis (H), para amostras independentes e *a posteriori* o teste U de Mann-Whitney (U), para comparações dois a dois entre cada condição experimental.

Os dados também foram relacionados de acordo com as janelas de observação, exigindo para uma análise estatística o teste de Friedman (X^2_R), para grupos dependentes e relacionados e o teste *a posteriori* de Wilcoxon (T), para análise dois a dois em relação a cada grupo dependente (janelas de observação).

A mesma análise estatística foi utilizada para o Experimento II, na comparação dos comportamentos e da taxa de ecdise registrados frente às três densidades populacionais.

O ganho de peso e tamanho foram obtidos através da diferença entre a medida final e medida inicial do peso e do tamanho, respectivamente.

A mortalidade foi obtida pelo número relativo do total de animais mortos em cada condição experimental.

Na comparação entre a contagem de hemócitos total (CHT) em cada condição experimental, ganho de peso, tamanho e mortalidade foram analisados com o uso da Análise de Variância (F), seguida do teste de Duncan para comparações pareadas.

Na contagem de hemócitos total (CHT), foi feita a exclusão dos valores extremos (*outlines*), uniformizando os dados em torno da mediana.

Para as análises estatísticas e plotagem de gráficos foram utilizados os programas Microsoft Excel e o Statistica 5.5. O nível de significância considerado para todos os testes foi de $p < 0,05$.

6.0 - RESULTADOS

6.1 - EXPERIMENTO I: Padrão de atividades Comportamentais de *Litopenaeus vannamei* em Diferentes Substratos.

6.1.1 - PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS

Os comportamentos mais freqüentemente registrados foram a inatividade e a exploração, para todas as condições experimentais. A exploração foi mais freqüente nos camarões dos substratos Areia e S PP. Já para os animais em S GR, a inatividade foi o comportamento mais freqüente (Figura 2).

O teste U de Mann-Whitney detectou diferenças na freqüência de inatividade dos animais entre os substratos Areia e S GR ($U = 0$; $N = 12$; $p = 0,02$) e na atividade de exploração nesses mesmos substratos ($U = 1$; $N = 12$; $p = 0,04$).

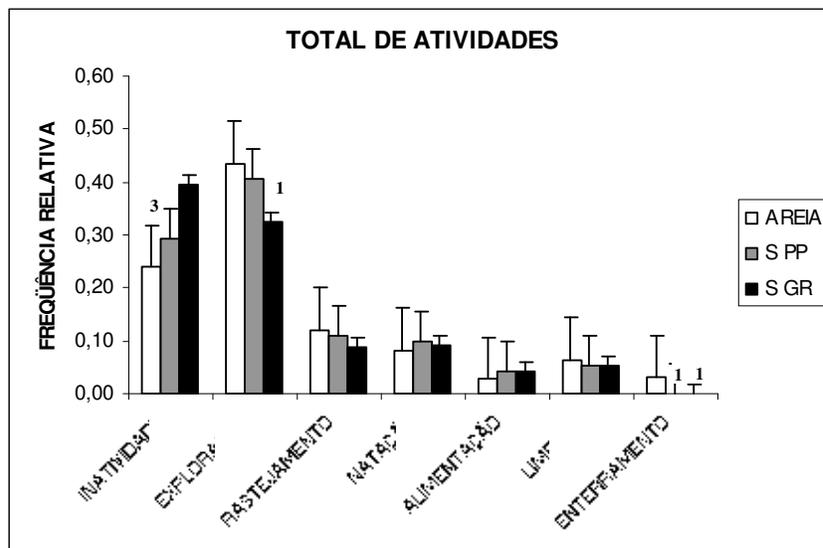


Figura 2: Freqüência média do padrão de atividades em *Litopenaeus vannamei* em três tipos de substrato, durante seis semanas de observação. Os números acima das barras representam os valores significativamente menores da atividade com relação aos demais substratos. 1= Barra que representa o substrato arenoso (Areia); 2= Barra que representa o substrato de seixos pequenos (S PP); 3= Barra que representa o substrato de seixos grandes (S GR).

6.1.2 - DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DOS COMPORTAMENTOS

Inatividade

A análise estatística identificou diferenças significativas no comportamento de inatividade em relação às horas de observação em todos os substratos testados ($X^2_R = 46,29$; $p = 0,001$). A inatividade foi mais freqüente no horário das 14 horas em todos os substratos, apresentando uma tendência a redução da freqüência após a oferta da alimentação, que corresponderam aos horários das 8 horas, 12 horas e 16 horas, como também na janela das 18 horas (fase escura) (Figura 03).

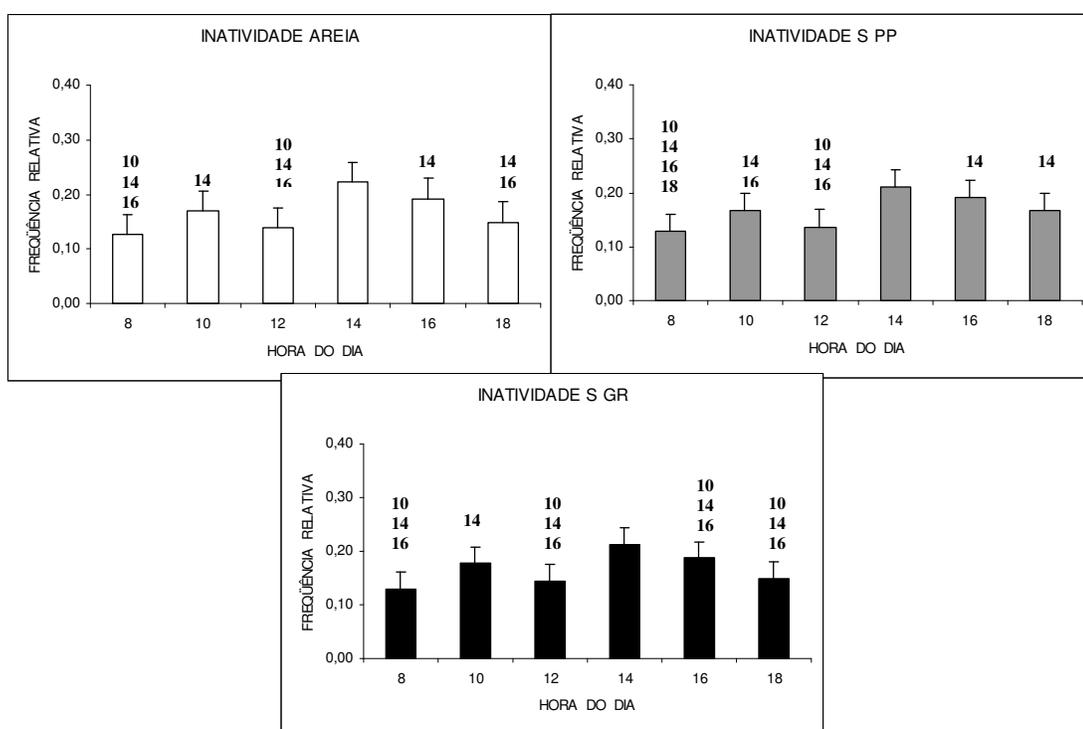


Figura 03: Freqüência média horária da inatividade em *Litopenaeus vannamei* nos três tipos de substrato, em seis semanas de observação. Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos demais horários de observação. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

Exploração

O comportamento exploratório foi significativamente mais elevado nos horários das 10 horas e 12 horas, em todos os substratos ($X^2_R = 52,42$; $p = 0,001$). No horário das 18 horas, foram obtidas as freqüências mais reduzidas para esse comportamento.

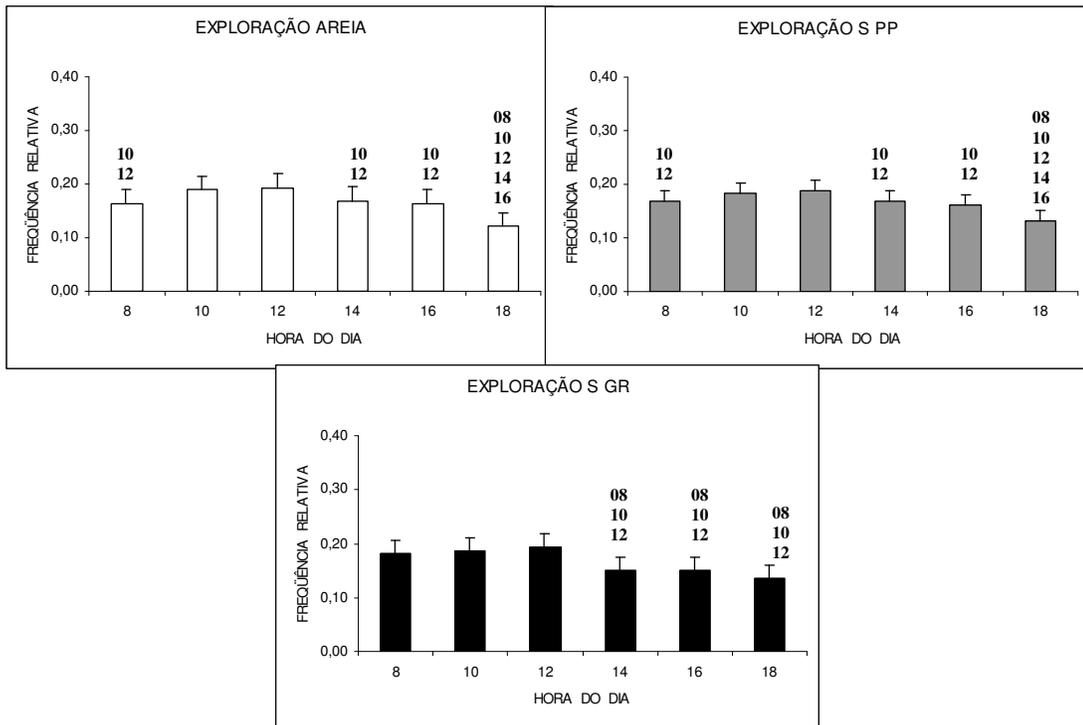


Figura 04: Freqüência média horária da atividade de exploração em *Litopenaeus vannamei* nos três tipos de substrato, em seis semanas de observação. Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos demais horários de observação. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

Rastejamento

O rastejamento foi mais freqüente nos horários das 8 horas, 12 horas e 18 horas em todos os tipos de substrato. Os menores valores para esse comportamento foram observados no horário das 14 horas (Figura 05).

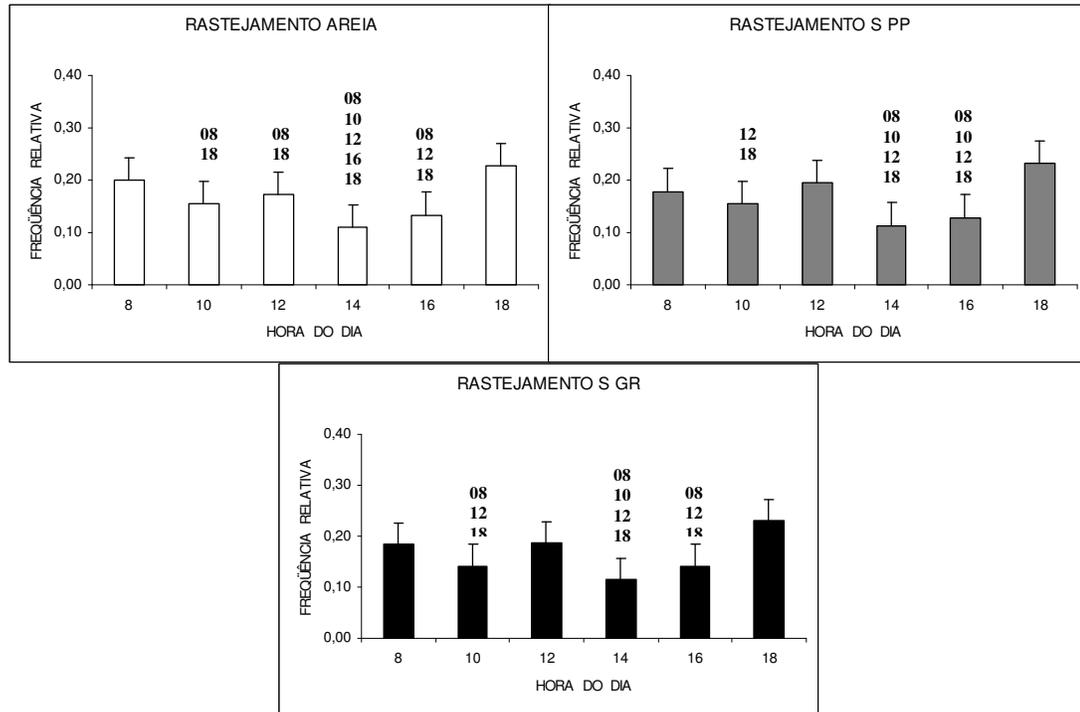


Figura 05: Frequência média horária da atividade de rastejamento em *Litopenaeus vannamei* nos três tipos de substrato, em seis semanas de observação. Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos demais horários de observação. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

Natação

O comportamento de natação apresentou uma redução na frequência de registros ao longo do dia, atingindo menor frequência no horário das 14 horas (Figura 06). A natação foi mais freqüente no horário das 18 horas para todas as condições de substratos, principalmente no substrato Areia (33% dos registros).

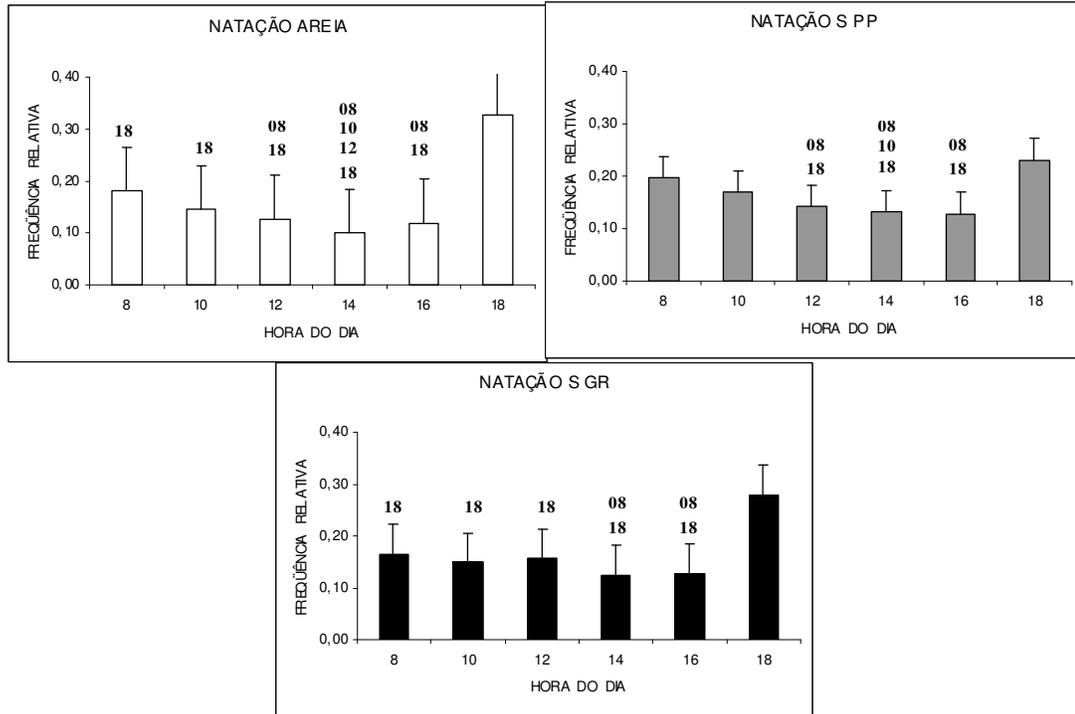


Figura 06: Frequência média horária da atividade de natação em *Litopenaeus vannamei* nos três tipos de substrato, em seis semanas de observação. Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos demais horários de observação. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

Ingestão alimentar

A ingestão alimentar foi registrada com maior frequência nas janelas em que foi ofertado o alimento peletizado (8, 12 e 16 horas), sendo significativamente mais frequente no horário das 8 horas ($X^2_R = 36,74$; $p = 0,001$), momento da primeira oferta de alimento do dia. O horário das 18 horas foi o momento em que houve menor consumo de alimento por parte dos animais em todas as condições de substrato (Figura 07).

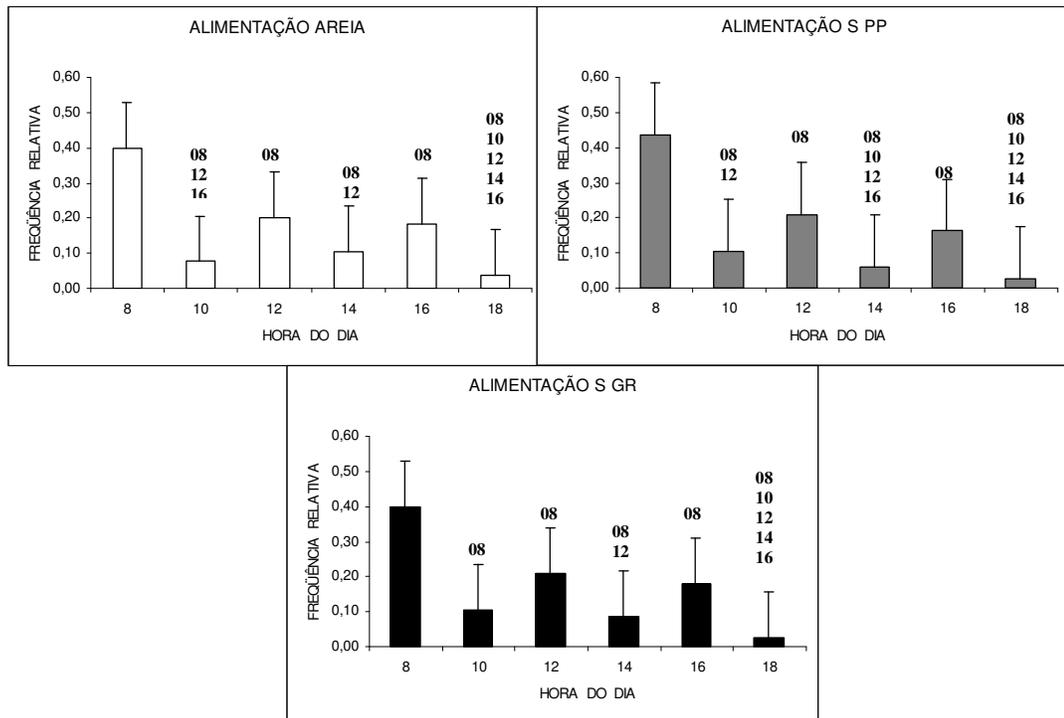


Figura 07: Frequência média horária da ingestão alimentar em *Litopenaeus vannamei* nos três tipos de substrato, em seis semanas de observação. Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos demais horários de observação. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

Limpeza

A análise do comportamento de limpeza identificou diferenças significativas entre os horários de observação ($X^2_R = 60,78$; $p = 0,001$), apresentando frequência reduzida nas primeiras janelas de observação (Figura 08) e gradativo aumento dos registros até a janela das 18 horas (fase escura), para os três tipos de substratos.

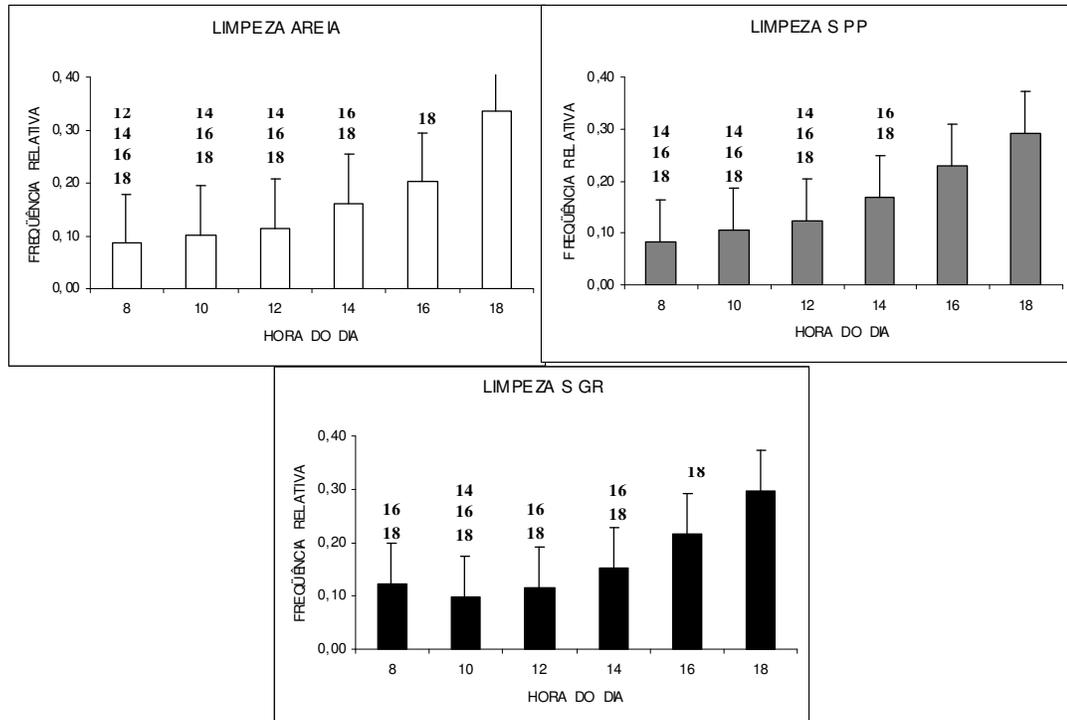


Figura 08: Frequência média horária da atividade de limpeza em *Litopenaeus vannamei* nos três diferentes tipos de substrato, em seis semanas de observação. Os números acima das barras de erros representam os valores significativamente menores com relação aos diferentes horários de observação. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

Enterramento

Só houve registros do comportamento de enterramento nos animais presentes em substrato arenoso. Os camarões enterraram-se principalmente no horário das 8 horas, sendo significativamente diferente em relação ao horário das 18 horas ($T = 5$; $p = 0,001$), momento em que essa atividade apresentou os menores registros (Figura 09).

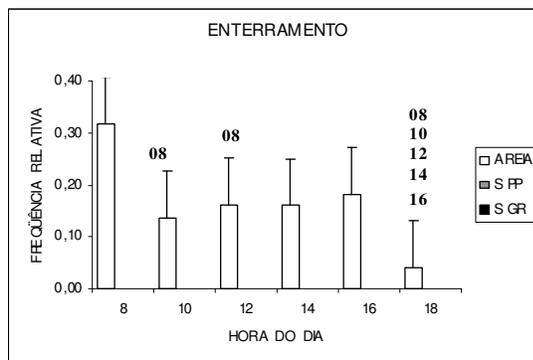


Figura 09: Frequência média horária da atividade de enterramento em *Litopenaeus vannamei* nos três tipos de substrato, em seis semanas de observação. Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos demais horários de observação. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

6.1.3 - PROXIMIDADE

Os camarões permaneceram distantes uns dos outros na maior parte dos registros. Em mais de 60% desses registros, estavam com nenhum animal próximo, não havendo diferenças entre a proximidade dos animais nos três substratos testados (Figura 10).

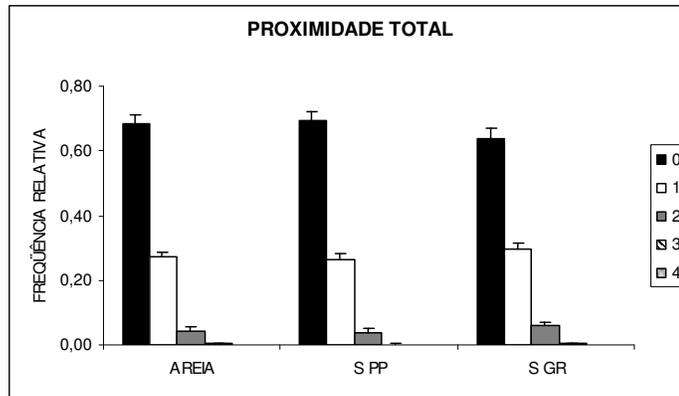


Figura 10: Frequência média do padrão de proximidade de *Litopenaeus vannamei* em três tipos diferentes de substrato, durante as seis semanas de observação. Os números representam a quantidade de animais próximos ao animal focal. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

Não foi encontrada diferença significativa em relação à frequência no uso das áreas do aquário por parte dos animais em nenhuma das condições experimentais. Os camarões permaneceram igualmente em todas as áreas e não foi registrada dominância ou preferência de área por parte de nenhum camarão.

6.1.4 - CRESCIMENTO

Os animais dispostos no substrato Areia tiveram ganho médio de peso maior que os animais presentes nos substratos S PP e S GR (Figura 11 A). Porém, não houve diferença significativa entre os três grupos para essa variável ($F = 2,33$; $p = 0,10$).

Em relação ao ganho no tamanho, os animais presentes em substrato de Areia obtiveram ganhos significativos, quando comparados animais em S PP e S GR ($F = 7,38$; $p = 0,001$) (Figura 11 B).

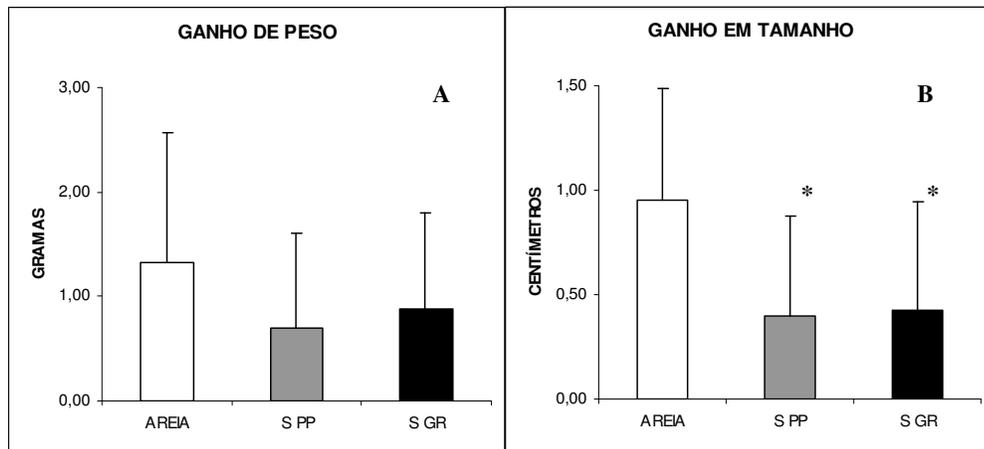


Figura 11: Frequência média do ganho de peso (A) e ganho em tamanho (B) em *Litopenaeus vannamei* nos três tipos diferentes de substrato, em seis semanas do experimento. Os asteriscos representam os valores significativamente menores com relação ao substrato Areia. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

6.1.5 - ECDISES

Em média foram registradas $21 \pm 1,5$ ecdises para cada condição experimental (Figura 12B) durante todo o experimento. Os animais obtiveram uma frequência média de 4,5 mudas em 40 dias, o que representa uma média de 10 dias entre mudas (Figura 12A). Não foram encontradas diferenças entre o tipo de substrato em relação à frequência de ecdises dos camarões ($H = 0,16$; $p = 0,92$).

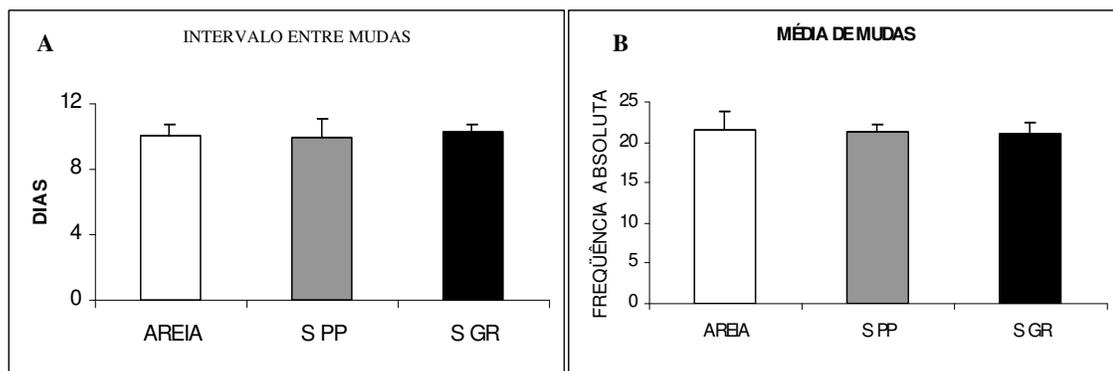


Figura 12: Média do intervalo entre mudas (A) e média de mudas (B) registradas nos três tipos de substratos em seis semanas do experimento. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

6.1.6 - ABRIGO

Foram registradas poucas visitas aos abrigos dispostos em cada unidade experimental, sendo o registro médio máximo obtido de 70 episódios de visita ao abrigo (substrato S PP). Contudo, uma única unidade experimental com substrato S PP apresentou 117 registros de visitas ao abrigo, o que influenciou na média de S PP (Figura 13). Portanto, não houve diferenças significativas na comparação entre os três substratos testados ($H = 1,05$; $p = 0,58$).

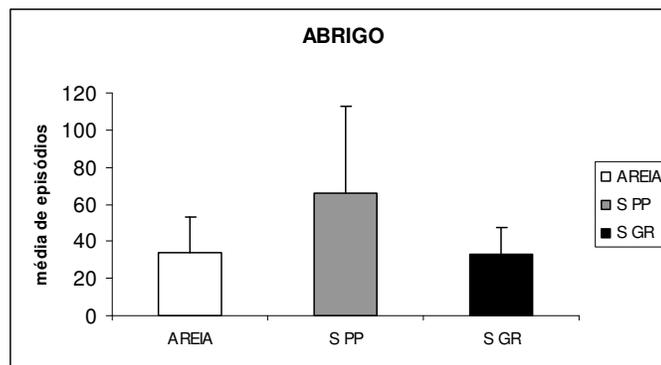


Figura 13: Freqüência média dos episódios de visitas de *Litopenaeus vannamei* ao abrigo nos três tipos diferentes de substrato, em seis semanas de observação. Substrato arenoso= AREIA; Substrato de seixos pequenos= S PP; Substrato de seixos grandes= S GR.

6.2 - EXPERIMENTO II: Padrão de atividades Comportamentais e Níveis de Hemócitos de *Litopenaeus vannamei* em Diferentes Densidades Populacionais.

6.2.1 - PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS

O comportamento de exploração do substrato foi a atividade mais freqüente nas três densidades populacionais estudadas, atingindo mais de 45% de todos os registros. O segundo comportamento mais registrado foi a inatividade, com aproximadamente 25% dos registros em todas as condições experimentais.

A freqüência de ingestão alimentar foi significativamente mais elevada na condição “quatro” indivíduos em relação à condição “oito” ($U = 57$; $N = 12$; $p = 0,001$). A atividade de limpeza foi significativamente mais elevada na condição “dez” em relação à condição “quatro” ($U = 69$; $N = 12$; $p = 0,02$) (Figura 14).

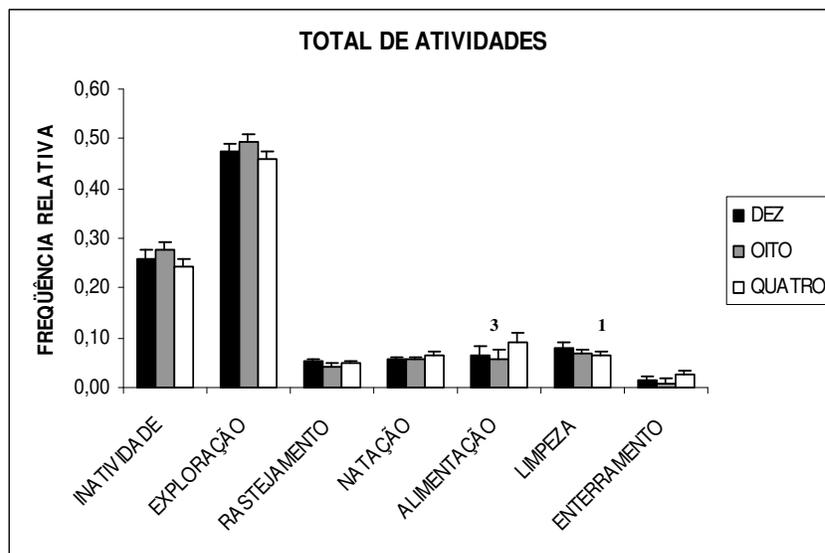


Figura 14: Freqüência média do padrão de atividades de *Litopenaeus vannamei* em diferentes densidades populacionais, em seis semanas de observação (três semanas para a condição dez). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores da atividade com relação às demais condições experimentais (1=dez animais, 2=oito animais e 3= quatro animais).

6.2.2 - DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DOS COMPORTAMENTOS

Inatividade

O teste de Friedman identificou diferenças significativas nas freqüências de inatividade em relação aos horários de observação em todas as densidades estudadas ($X^2_R = 37,60$; $p = 0,001$). A inatividade foi mais freqüente no horário das 14 horas em todas as condições experimentais, tendendo a diminuir nos horários em que houve a oferta de alimento (Figura 15).

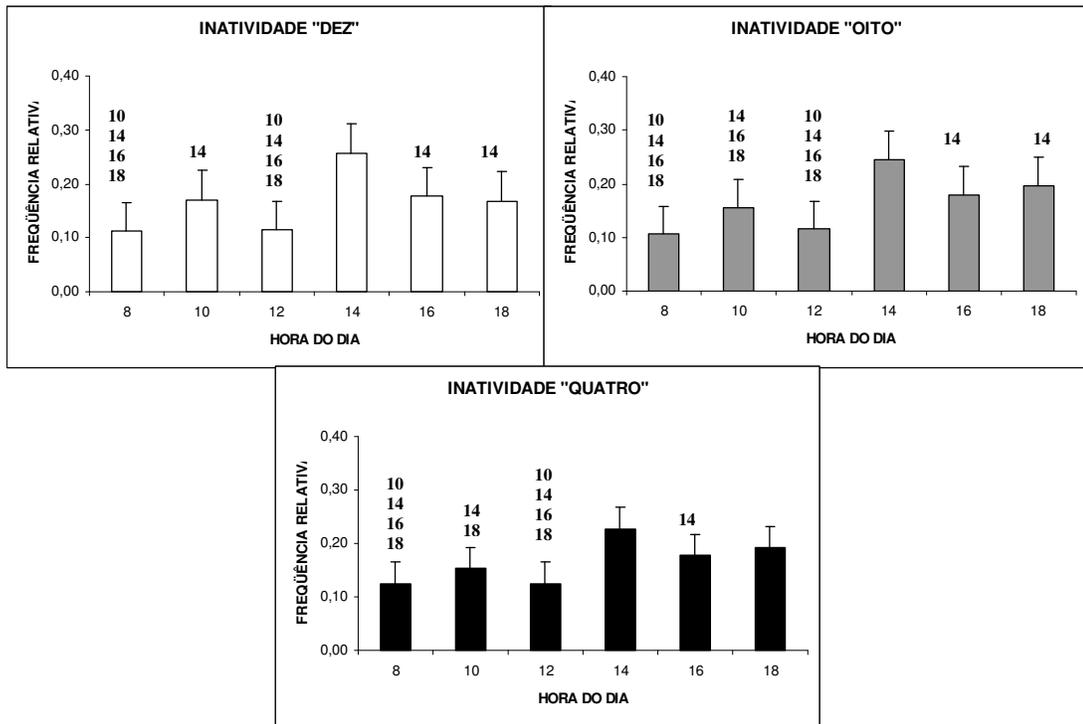


Figura 15: Freqüência média horária da inatividade em *Litopenaeus vannamei* em três diferentes densidades populacionais, em seis semanas de observação (três semanas para a condição dez). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos diferentes horários de observação.

Exploração

O comportamento de exploração do substrato foi mais freqüente nos horários das 10 e 12 horas nas três densidades populacionais testadas, apresentando diferenças em relação aos demais horários de observação, com predomínio de registros nas três primeiras janelas de observação ($X^2_R = 33,12; p = 0,001$) (Figura 16).

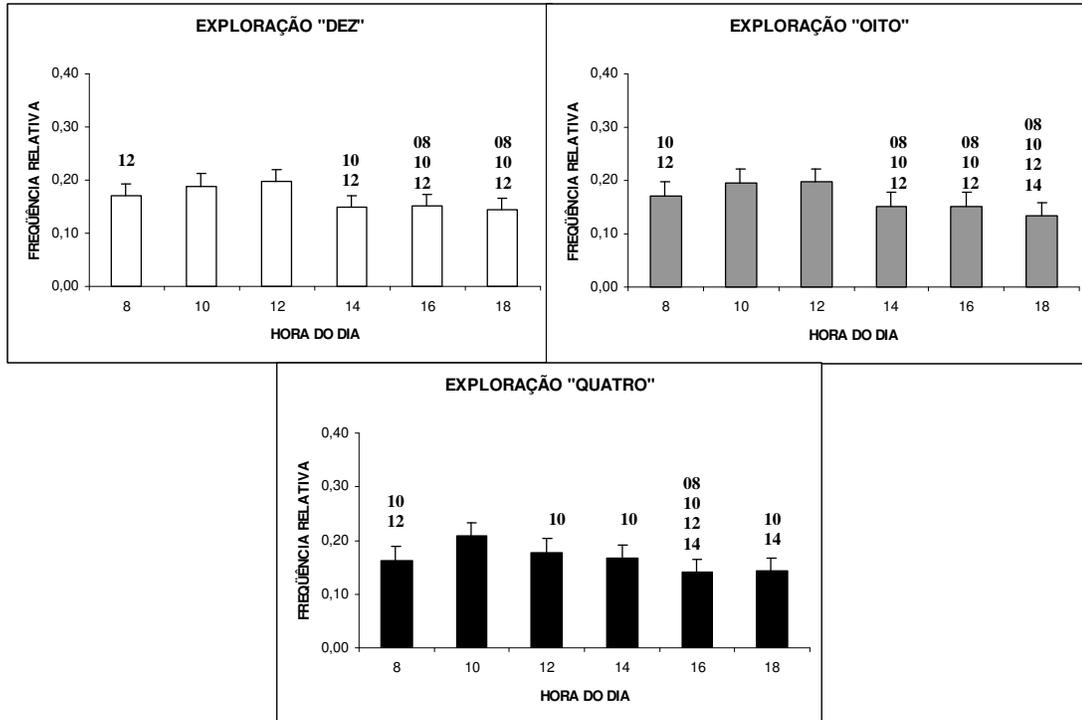


Figura 16: Frequência média horária da atividade de exploração em *Litopenaeus vannamei* em três diferentes densidades populacionais, em seis semanas de observação (três semanas para a condição dez). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos diferentes horários de observação.

Rastejamento

O horário das 14 horas foi o que apresentou menor frequência de registros para o comportamento de rastejamento nas três densidades populacionais. A frequência de rastejamento variou ao longo das horas de observação nas condições “dez” e “oito” animais, tendendo ao aumento de frequência nos horários de oferta alimentar. Os camarões dispostos na condição “quatro” apresentaram constância na frequência de rastejamento, distribuindo-se homogeneamente ao longo do dia, exceto pela forte queda nos registros no horário das 14 horas (Figura 17).

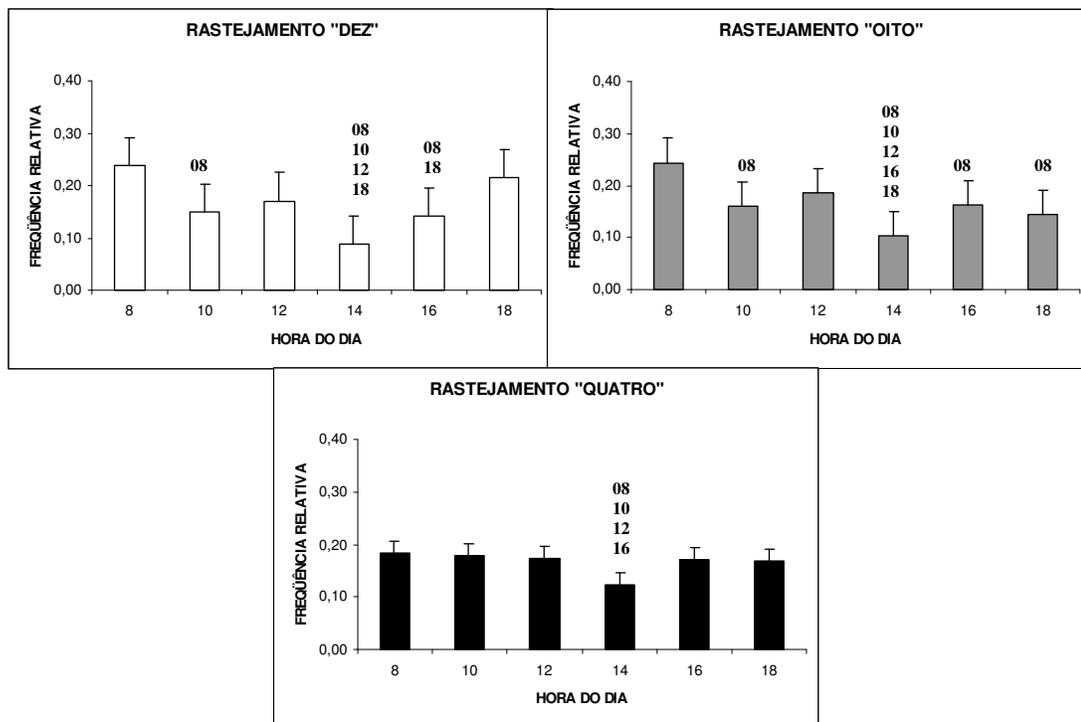


Figura 17: Frequência média horária da atividade de rastejamento em *Litopenaeus vannamei* em três diferentes densidades populacionais, em seis semanas de observação (três semanas para a condição dez). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos diferentes horários de observação.

Natação

A natação foi mais registrada no horário das 18 horas em todas as densidades testadas ($X^2_R = 21,29$; $p = 0,001$). Os animais nas condições “dez” e “quatro” apresentaram maiores variações na frequência de natação ao longo das horas de observação, predominando mais registros nos horários em que não havia oferta de alimento (10, 14 e 18 horas), notado principalmente na condição “quatro”.

Os camarões na condição “oito” apresentaram uma distribuição mais uniforme dessa atividade ao longo do dia, com uma significativa redução dos registros no horário das 14h; redução essa também registrada na condição “dez” (Figura 18).

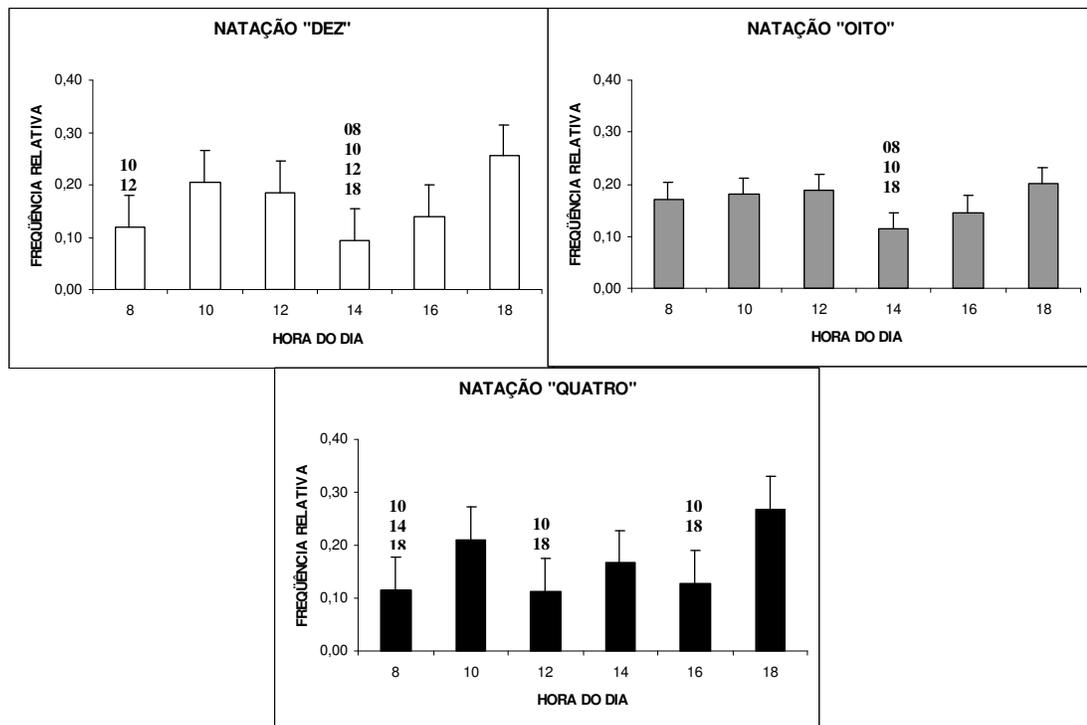


Figura 18: Frequência média horária da atividade de natação em *Litopenaeus vannamei* em três diferentes densidades populacionais, em seis semanas de observação (três semanas para a condição dez). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos diferentes horários de observação.

Ingestão alimentar

A ingestão alimentar foi mais freqüente nos horários em que houve a oferta de alimento (08, 12 e 16 horas), sendo que o horário das 08 horas apresentou a maior freqüência de registros, nas três densidades populacionais ($X^2_R = 69,43$; $p = 0,001$). Na condição “quatro”, os animais também ingeriram mais no horário das 12 horas (Figura 19).

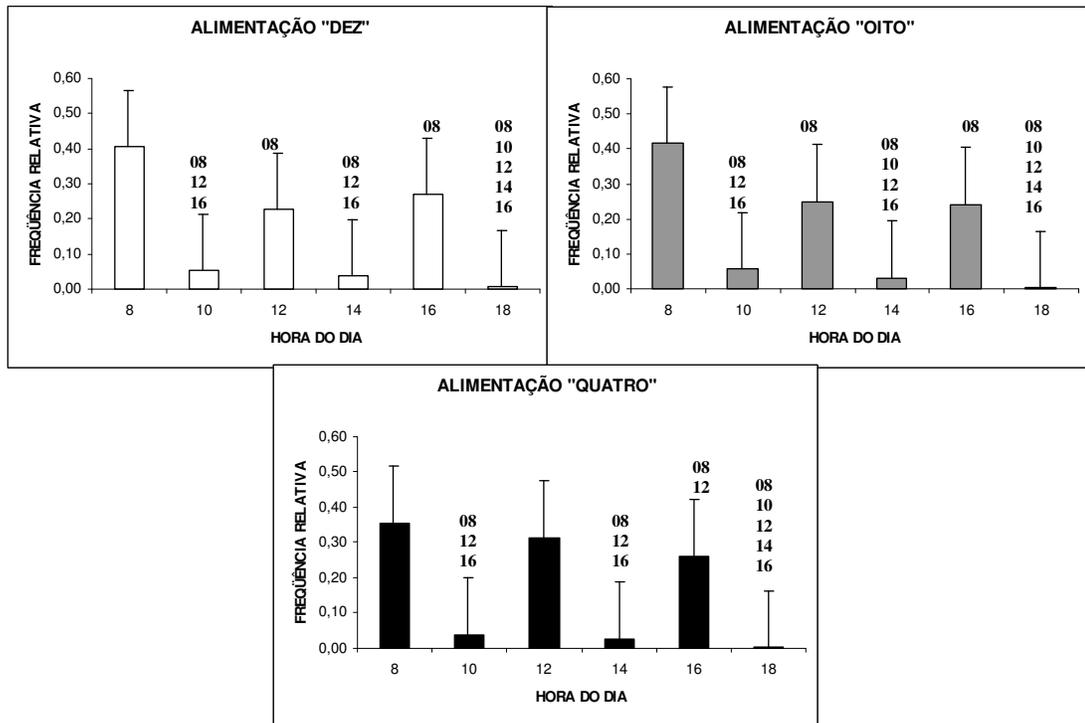


Figura 19: Freqüência média horária da ingestão alimentar em *Litopenaeus vannamei* em três diferentes densidades populacionais, em seis semanas de observação (três semanas para a condição dez). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos diferentes horários de observação.

Limpeza

O comportamento de limpeza foi menos freqüente no horário das 08 horas ($X^2_R = 42,40$; $p = 0,001$), ocorrendo um crescimento gradativo em freqüência ao longo do dia. A janela das 18 horas foi o momento em que houve o maior número de registros para essa atividade nas três densidades populacionais estudadas (Figura 20).

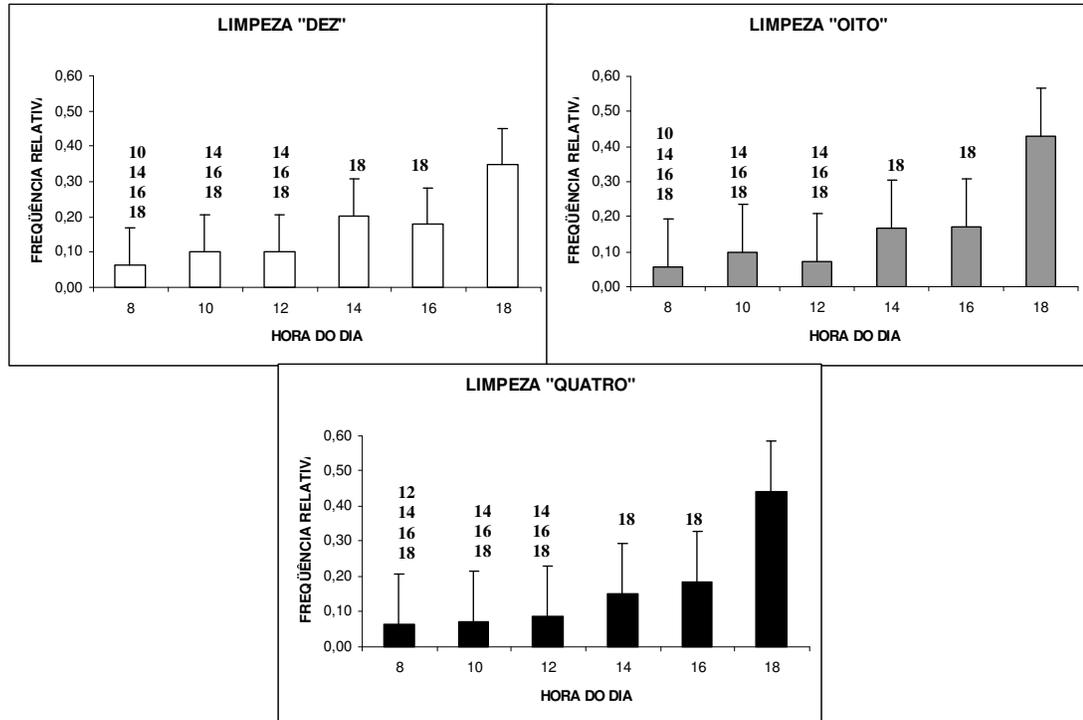


Figura 20: Freqüência média horária da atividade de limpeza em *Litopenaeus vannamei* em três diferentes densidades populacionais, em seis semanas de observação (três semanas para a condição dez). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos diferentes horários de observação.

Enterramento

O enterramento na areia foi mais registrado na janela das 08 horas, nas três densidades estudadas ($X^2_R = 20,36$; $p = 0,001$). Na condição “oito”, a frequência de enterramento ultrapassa os 60% no horário das 08 horas.

Os animais nas condições “quatro” e “dez” apresentaram uma distribuição mais uniforme dessa atividade ao longo do dia. O horário das 18 horas foi o que houve menor número de registros de enterramento nas três densidades testadas (Figura 21).

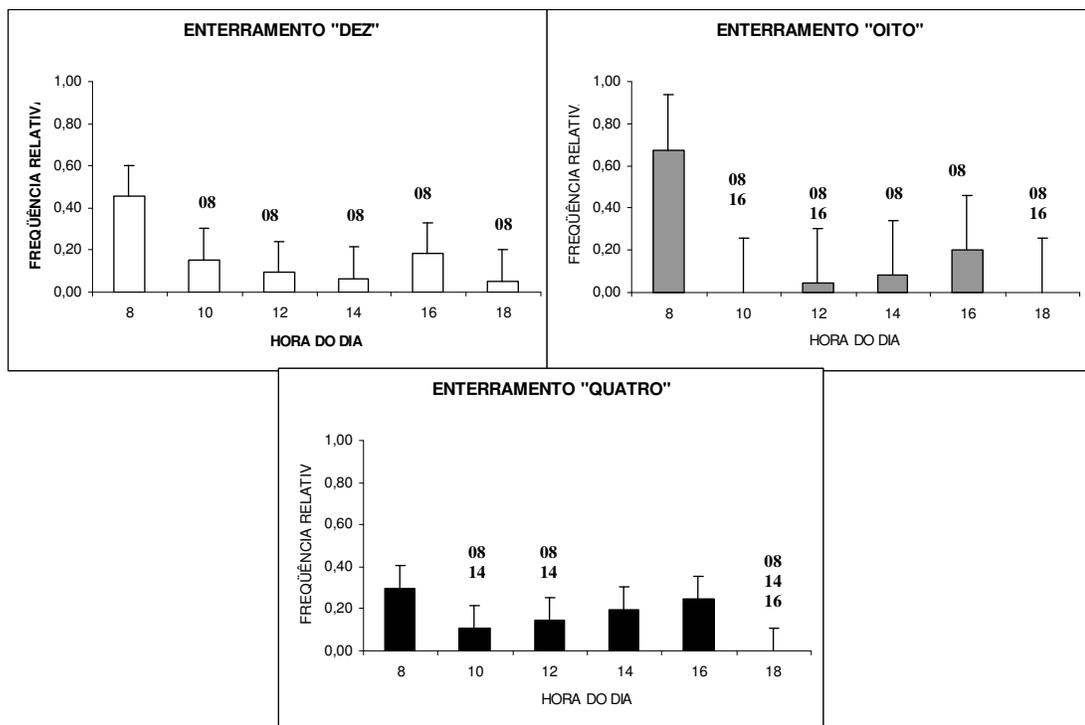


Figura 21: Frequência média horária da atividade de enterramento em *Litopenaeus vannamei* em três diferentes densidades populacionais, em seis semanas de observação (três semanas para a condição dez). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação aos diferentes horários de observação.

6.2.3 - CRESCIMENTO

O ganho de peso e tamanho só foi mensurado nos animais presentes nas condições “oito” e “quatro”, pois não foi possível manter os camarões na condição “dez” até o final das seis semanas do experimento, quando era realizada a biometria dos animais.

Os animais dispostos na condição “quatro” tiveram ganho médio de peso e tamanho maiores que os animais presentes na condição “oito” (Figura 22). Porém, não houve diferença significativa entre os grupos no ganho de peso ($F = 1,35$; $N = 32$, $p = 0,38$) ou no ganho em tamanho ($F = 3,33$; $N = 32$, $p = 0,18$).

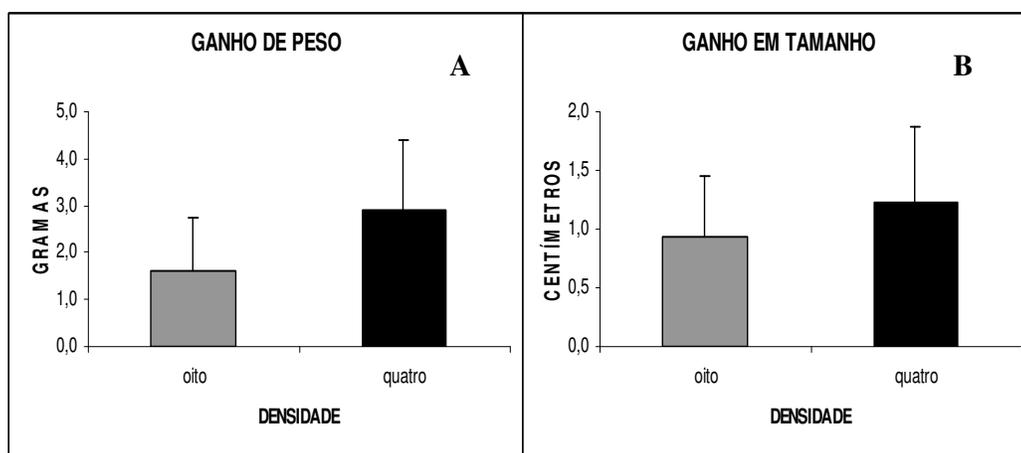


Figura 22: Frequência média do ganho de peso (A) e ganho em tamanho (B) em *Litopenaeus vannamei* nas condições experimentais “oito” e “quatro”, em seis semanas de observação.

6.2.4 – ECDISES

A ecdise foi registrada apenas para as condições “oito” e “quatro”, devido à eliminação da condição “dez” na terceira semana de observação, impossibilitando quantificar a ecdise nos 40 dias do experimento para essa condição experimental.

Em média, foram registradas $20 \pm 0,8$ ecdises na condição “oito” e $18,5 \pm 1,7$ ecdises para a condição “quatro” nos 40 dias do experimento. Os animais obtiveram uma frequência média de 5 mudas em 40 dias, para a condição “oito” e 4,6 mudas em 40 dias, para a condição “quatro”. Nas condições “oito” e “quatro”, o tempo médio entre mudas foi $10,3 \pm 0,1$ e $11,7 \pm 1,0$ dias, respectivamente (Figura 23), sendo significativamente diferentes ($U = 0$; $p = 0,02$).

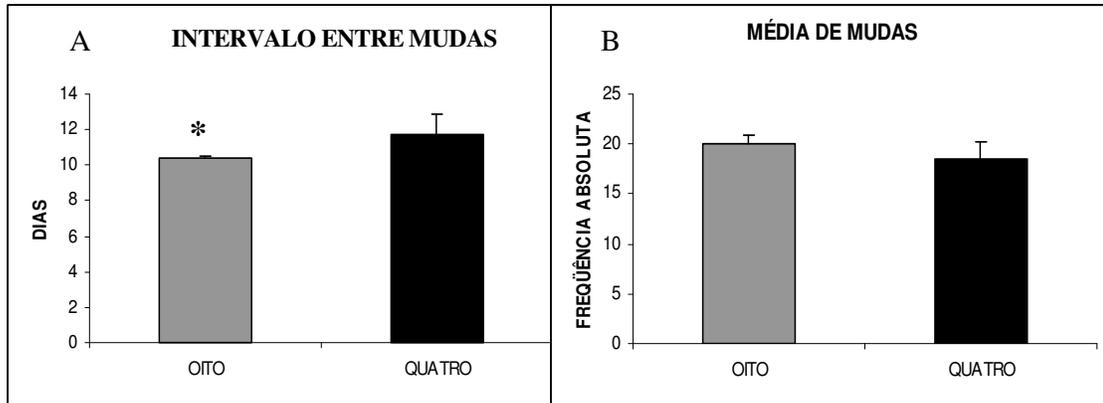


Figura 23: Média do intervalo entre mudas (A) e média de mudas (B) registradas nas condições experimentais “oito” e “quatro” camarões, em seis semanas de observação. O asterisco representa o valor significativamente menor com relação à condição “quatro” animais.

6.2.5 - CHT – CONTAGEM DE HEMÓCITOS TOTAIS

O número médio de hemócitos obtidos na contagem foi de 348 ± 161 células/mm³ nos animais em condição “oito” e 87 ± 62 células/mm³ nos animais em condição “quatro”. Houve diferenças significativas entre as condições experimentais, com maiores valores nos níveis de hemócitos em condição “oito” ($F = 20,52$; $N = 18$; $p = 0,001$) (Figura 24).

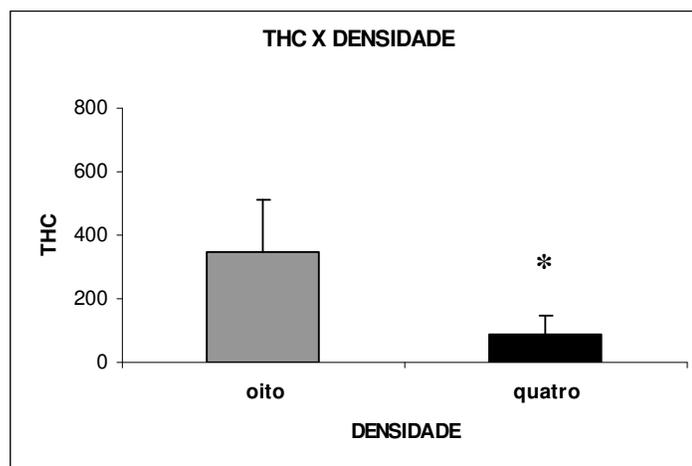


Figura 24: Contagem de hemócitos totais (CHT) nas condições experimentais “oito” e “quatro” animais, obtidas na extração da hemolinfa de *Litopenaeus vannamei*. CHT em células/mm³. O asterisco representa o valor significativamente menor com relação às condições.

Quando comparados em relação ao peso, os animais agrupados no intervalo de 5,00-7,99 gramas, a CHT média foi de 175 ± 160 células/mm³ e nos animais entre 8,00-11,00 gramas a média foi de 412 ± 358 células/mm³, havendo diferenças entre a CHT em relação ao peso do animal ($F = 6,17$; $N = 34$; $p = 0,01$) (Figura 25A).

Quando comparados em relação ao tamanho, os animais não apresentaram diferenças na CHT. A média no intervalo 9,5-10,5 cm foi de 216 ± 207 células/mm³ e no intervalo 10,6-11,5 cm foi de 361 ± 334 células/mm³ ($F = 2,38$; $N = 34$; $p = 0,13$) (Figura 25B).

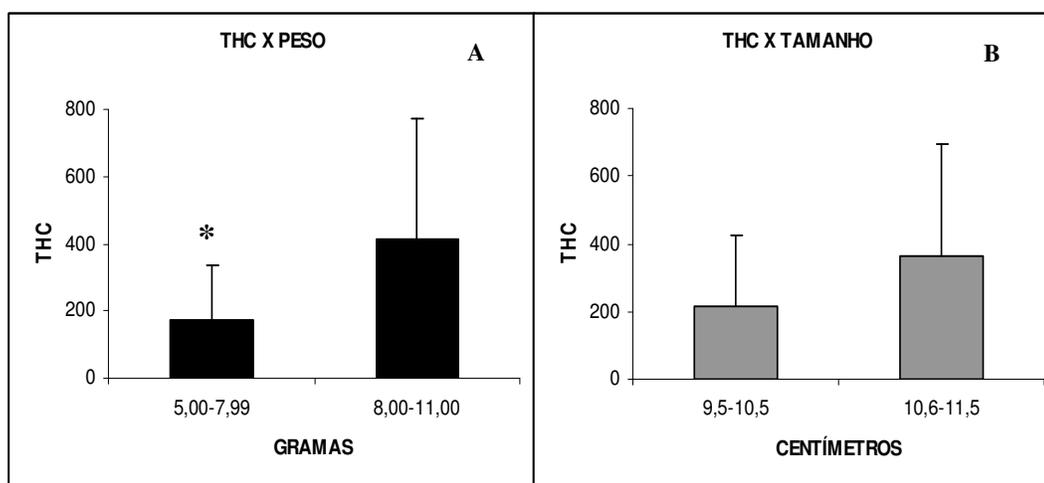


Figura 25: Comparação da contagem de hemócitos totais (THC) e o peso dos animais, em dois intervalos (A) e comparação da THC e o tamanho dos animais, em dois intervalos (B). THC em células/mm³. O asterisco representa o valor significativamente menor com relação aos intervalos de peso.

6.2.6 - MORTALIDADE

O comportamento de canibalismo foi registrado neste experimento. O animal doente ou com a carapaça recém mudada foi predado por outros indivíduos do aquário, que atacavam com seus pereiópodos quelados o animal debilitado, causando perfurações em sua carapaça e ingerindo a parte que foi lesionada. As primeiras partes a serem ingeridas do animal canibalizado eram os apêndices; como antenas, urópodos, pereiópodos, pleópodos, olhos pedunculados. Logo após, os animais ingeriam o cefalotórax e, por último, a região abdominal.

Os registros de canibalismo na fase de muda foram mais frequentes em condição “dez” animais, apresentando diferença significativa em relação às demais condições experimentais ($F = 4,88$; $N = 32$; $p = 0,03$).

A morte por doença foi registrada nas três condições experimentais, mas com maior frequência nas condições “dez” e “oito” animais (Figura 26B).

Os animais considerados doentes apresentaram os seguintes sinais clínicos: palidez na região abdominal, pereiópodos pigmentados; extremidades dos urópodos com coloração vermelha; antenas com coloração vermelha; dificuldade de natação, devido à paralisia dos pares de pleópodos posteriores. Em poucas horas, ocorria a paralisia total da região abdominal e dos pleópodos e o animal era canibalizado pelos outros animais do aquário. Os sinais descritos acima se assemelhavam aos de mionecrose infecciosa (IMNV).

A mortalidade dos camarões foi mais frequente nas unidades experimentais na condição “dez” animais (56% dos registros de mortes), sendo essa mortalidade significativamente maior quando comparado aos da condição “quatro”, com 10% dos registros de morte ($F = 4,15$; $N = 32$; $p = 0,02$) (Figura 26A).

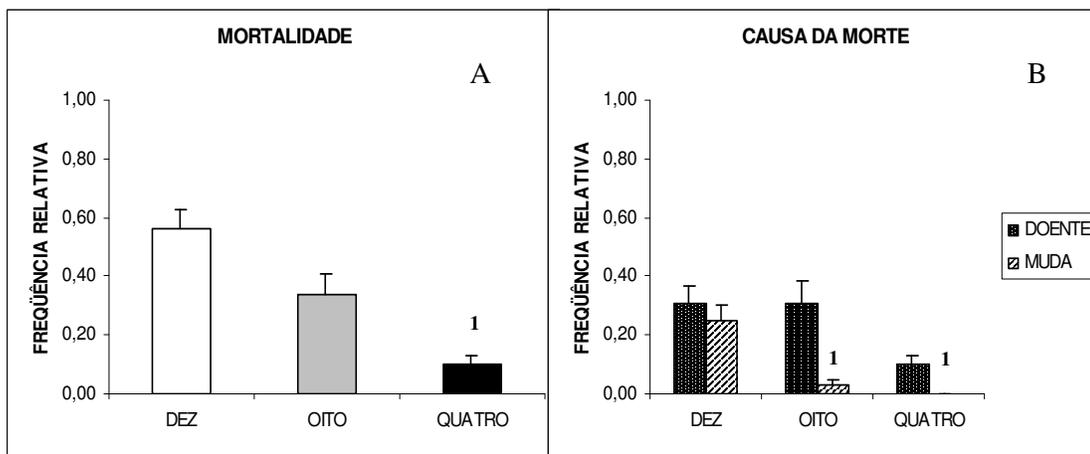


Figura 26: Frequência média relativa de animais mortos durante as três primeiras semanas do experimento, para as condições “dez”, “oito” e “quatro” animais. Total de mortalidade em cada condição (A) e a possível causa da morte (B). Os números acima das barras representam os valores significativamente menores com relação à cada condição (1 = dez, 2 = oito, 3 = quatro).

7.0 - DISCUSSÃO

7.1 – PADRÃO DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS

O padrão geral da atividade comportamental de *L. vannamei* não foi influenciado pelo tipo de substrato e pela densidade populacional na quais os animais foram submetidos. Porém foram detectadas algumas pequenas variações nesse padrão, sendo alteradas minimamente as frequências dos comportamentos observados no presente estudo.

De acordo com os resultados encontrados no Experimento I, à medida que diminuiu a granulometria do substrato, o comportamento de exploração tornou-se mais frequente e também reduziu a inatividade dos camarões.

O experimento II evidenciou que a exploração parece não ter sido afetada pela densidade populacional, com frequências semelhantes entre as densidades testadas. Em ambos os experimentos, o comportamento exploratório foi predominante durante a maior parte da fase de claro, principalmente nas primeiras 6 horas dessa fase. Pontes (2003) encontrou maior a atividade exploratória em 7 horas após o início da fase clara. No presente estudo a inatividade foi mais registrada nas 6 últimas horas da fase clara, o que se contrapõe com a baixa frequência de exploração nas mesmas 6 últimas horas de claro.

O rastejamento variou ao longo do dia, mas reduziu sua frequência no horário das 14 horas em ambos os experimentos. Contudo, a densidade populacional influenciou na frequência de rastejamento, sendo mais uniforme em menor densidade. Lima (2005) observou menores registros de rastejamento na primeira hora da fase clara, o que não foi verificado no presente estudo.

A natação foi mais frequente na janela das 18 horas (fase escura), resultados comportamentais esses de acordo com os trabalhos de Pontes (2003) e Lima (2005), que investigaram o padrão de atividade comportamental de *L. vannamei* e que registraram maior atividade de natação durante a noite.

A atividade de enterramento foi identificada neste trabalho apenas quando utilizado o substrato arenoso, sendo que a consistência deste substrato possibilitou que

os camarões se enterrassem. Pontes (2003) descreveu as principais atividades de *Litopenaeus vannamei* e traçou o padrão comportamental dessa espécie, mas não pôde identificar a atividade de enterramento, já que o substrato utilizado não propiciou a expressão do comportamento (semelhante ao substrato S GR). O enterramento foi maior no momento inicial do dia, podendo ser devido à mudança para a fase clara do ciclo do dia, após 12 horas de escuridão. Os animais reagem à iluminação branca (Hindley, 1975) e com isso tenderiam a se enterrar nas primeiras horas da fase clara.

Em relação às diferentes densidades populacionais, este comportamento de se enterrar foi distribuído de forma mais homogênea ao longo do dia nos animais em densidade baixa, mas ainda prevaleceram maiores frequências no início da fase clara do dia.

Segundo Dall, Hill, Rothlisberg e Staples (1990), o sedimento apropriado para o enterramento varia de acordo com a capacidade física do animal em se enterrar, sendo que os sedimentos grosseiros são mais difíceis para os camarões realizarem esse comportamento. Contudo, sedimentos extremamente finos podem diminuir a eficiência do forrageio em peneídeos e afetar a atividade respiratória, obstruindo as brânquias dos camarões que estão enterrados. Em nosso estudo, não foram utilizados sedimentos mais finos que a areia, como por exemplo, o silte ou argila, o que impossibilitou a constatação desse fenômeno nos camarões do experimento.

Outros fatores que podem estar relacionados à maior frequência de enterramento dos peneídeos são a pressão de predação e a densidade populacional (Dall, Hill, Rothlisberg e Staples, 1990). Contudo, não foram constatadas diferenças nas frequências de enterramento entre as densidades populacionais testadas. Em camarões da espécie *Melicertus latisulcatus* foram identificadas preferência por habitats que continham areia, independente da presença ou não de animais predadores (Tanner & Deakin, 2001). Nesse mesmo estudo, os autores propõem a existência de uma hierarquia nos mecanismos para evitar predadores, sendo o enterrar a opção preferida, mas quando não era possível, os animais utilizavam abrigos. No presente estudo, a utilização dos abrigos pelos camarões foi igual em todas as condições testadas, o que não pôde ser evidenciada correlação entre abrigo e tipo de substrato.

O abrigo de cano PVC utilizado no presente experimento pode não ter sido atrativo aos animais devido à sua própria forma cilíndrica que não impedia a entrada de luz, como também a pouca similaridade com os prováveis abrigos em ambiente natural, geralmente formados por fendas nas rochas bentônicas.

O comportamento de limpeza distribuiu-se de forma crescente à medida que a fase escura se aproximava, atingindo maiores frequências neste experimento na janela das 18 horas, nos dois experimentos. Pontes (2003) não encontrou correlação entre limpeza e o horário do dia para essa espécie. A limpeza foi mais freqüente em maiores densidades populacionais, o que poderia estar relacionada com o provável aumento da viscosidade da água em ambientes com maior número de animais, podendo ser conseqüência da matéria orgânica dissolvida, oriunda dos restos da alimentação e/ou das fezes dos camarões (Nga *et al.*, 2005).

A ingestão alimentar foi maior nos horários de oferta de alimento, sendo mais freqüente na primeira oferta de alimento (8 horas). Lima (2005) identificou os horários em que o alimento é mais consumido pelos animais e constatou os horários de oferta alimentar entre 12 e 14 horas como os mais favoráveis à ingestão, quando o alimento era ofertado 3 vezes ao dia. Porém, nesse mesmo estudo, quando ofertado 7 vezes ao dia, a preferência na ingestão alimentar foi nas primeiras horas da fase clara. Portanto, não foi verificado no presente experimento a tendência na ingestão alimentar entre 12 e 14 horas, mas sim na primeira oferta de alimento aos camarões.

As mudanças de densidade populacional e de substrato não alteraram o padrão de atividade comportamental da espécie, influenciando pontualmente em algumas atividades comportamentais, como maiores registros de atividade exploratória e o surgimento de enterramento em substrato arenoso. Porém, os fatores testados exerceram influência na ecdise, ganho de peso, sobrevivência e saúde dos camarões.

7.2 - ECDISES

O ciclo de muda apresenta-se como uma variável importante no estudo do comportamento dos camarões, podendo sofrer influências ambientais e físicas. Fatores como o aumento da temperatura da água ou aumento do tempo de luminosidade

promovem alterações no ciclo de muda nos crustáceos, modificando o intervalo entre as mudas como também a própria taxa de muda (Barnabé, 1996).

Lima (2005) identificou que a oferta de alimentação também pode influenciar na taxa de ecdise. Em seu experimento, a alimentação foi ofertada três, quatro e sete vezes ao dia, sendo constatada tendência na redução no número de mudas quando a alimentação era ofertada três vezes ao dia.

No presente estudo, a taxa de ecdise foi igual em todos os substratos testados, o que poderia supor a não influência da variável substrato sobre a frequência da ecdise no camarão branco, *L. vannamei*.

Pontes (2003) e Lima (2005) constataram que os camarões modificam seus comportamentos quando estão em tempo de realizar a muda, não se alimentando e apresentando pouca atividade nesse momento. Os autores também identificaram ocorrência da ecdise apenas na fase escura do ciclo claro-escuro, apresentando o intervalo entre mudas em torno de nove dias. Nosso estudo identificou um intervalo médio entre mudas de dez a onze dias.

O intervalo entre mudas foi maior nos animais em baixa densidade populacional (26 camarões/m²) e a média de mudas no mesmo período foi ligeiramente menor na baixa densidade, o que poderia ser associado ao maior crescimento dos animais nessa condição de baixa densidade (Karplus & Barki, 2004), demonstrando o efeito da densidade populacional sobre a taxa de ecdise.

7.3 - CRESCIMENTO

A ingestão alimentar foi mais freqüente nos animais em menor densidade populacional, refletindo uma tendência destes camarões em apresentar um maior ganho de peso quando comparados aos animais dispostos em altas densidades. A densidade populacional apresenta correlação negativa com o crescimento corporal dos animais, quanto maior a densidade, menor o crescimento dos camarões (Wyban, Lee, Sato, Sweeney & Richards, 1987; Ray & Chien, 1992; Arnold, Sellars, Crocos &

Coman, 2005). Pérez-Castañeda & Defeo (2005) sugerem também que o crescimento e a sobrevivência sofrem influência da densidade populacional.

Nga e colaboradores (2005) afirmam que a elevação da densidade populacional em *Penaeus monodon* afeta a sobrevivência, tamanho e peso em pós-larvas, sendo que em densidades entre 50 a 100 camarões/L, os efeitos são mais danosos. Porém, os autores excluem dos fatores causais a competição e o canibalismo, mostrando que o impacto negativo da aglomeração no crescimento e na sobrevivência dessa espécie era devido à redução da qualidade da água do cultivo. No presente estudo, a densidade de 52 camarões/m² provocou mortalidade em *L. vannamei*, mesmo com a qualidade da água dentro dos parâmetros de cultivo para essa espécie (ABCC, 2005). Ray & Chien, 1992 relataram que quanto maior a densidade populacional, além da redução da sobrevivência dos camarões, ocorre maior e mais rápida a deterioração da qualidade da água e do substrato, em cultivos de *P. monodon*.

Yip-Hoi (2003) constatou que a densidade populacional teve um forte efeito na taxa de crescimento em *L. setiferus*, mas que o tipo de substrato não influenciou no crescimento dos camarões. Em nosso estudo, o maior ganho de peso foi identificado nos animais que habitavam substratos arenosos, corroborando os resultados de Bratvold & Browdy (2001) que encontrou um ganho de peso maior em camarões cultivados em substratos arenosos em relação aos que são criados na ausência de substratos, como em tanques de acrílico. Essa característica pode estar associada com o enterramento e a taxa de crescimento dos animais. Camarões capazes de se enterrar conservariam mais energia e conseqüentemente favoreceria um maior ganho no tamanho em relação aos que não se enterram, ocorrendo em *Penaeus aztecus* submetidos à alta iluminação, baixa salinidade e em substrato arenoso (Lakshmi, Venkataramiah & Gunter, 1976).

Entretanto, Bray & Lawrence (1993) compararam três tipos de substratos (areia fina, areia grosseira e argila) a um substrato impermeável (fibra de vidro) e encontraram ganho de peso mais alto nos animais em substrato impermeável. Porém, nesse mesmo estudo, os camarões cultivados em areia fina tiveram peso final mais elevado do que os cultivados em argila. Em *L. stylirostris* ocorrem altas taxas de crescimento e sobrevivência em substratos ricos em silte e manganês em relação aos

cultivados em areia. Porém, foram identificados níveis de nitrato e amônia mais elevados em substratos ricos em silte, o que poderia refletir na redução da qualidade da água do ambiente de cultivo (Mendez, Racotta, Acosta & Portillo-Clark, 2004) e ocasionar aumento na mortalidade em *L. vannamei* (Liu & Chen, 2004).

7.4 - MORTALIDADE

A mortalidade foi predominantemente maior em condições de alta densidade populacional, associada com canibalismo e doenças nos animais. Sellars, Arnold, Crocos & Coman (2004) descreveram que os camarões cultivados em altas densidades populacionais apresentam um índice superior de danos e lesões do que os camarões em baixa densidade, sendo que os danos aumentavam ao longo do tempo de cultivo, o que poderia favorecer o surgimento de doenças e o canibalismo. Esses autores sugerem que os animais mais canibalizados são os recém mudados, pois apresentam carapaça menos rígida e são mais susceptíveis às injúrias provocadas pelos outros animais, o que também foi observado no presente estudo.

Um dos problemas que afetam a sobrevivência e aumentam a freqüência de canibalismo nos camarões é o surgimento de enfermidades, que podem ser de origem infecciosa ou parasitária. MacNeil e colaboradores (2003) estudaram a interação entre crustáceos saudáveis e parasitados, com relação à taxa de canibalismo e verificaram que os indivíduos parasitados sofriam canibalismo por parte dos animais sadios e também pelos parasitados, mas não foi observado canibalismo nos animais sadios.

Os sinais clínicos observados no presente estudo (página 40) foram semelhantes aos da mionecrose infecciosa (IMNV), porém não foi possível a confirmação da ocorrência dessa doença devido a não realização de exames histopatológicos. Exames histológicos poderiam evidenciar as lesões no músculo esquelético abdominal, apresentando pontos de necrose, congestão hemolítica, inflamação fibrocítica, fagocitoses e formação de órgãos linfóides e nódulos (Tang, Pantoja, Poulus, Redman & Ligthner, 2005). O IMNV tem pouca virulência em relação aos outros vírus que infectam camarões, com o surgimento dos sinais clínicos por volta dos 13 dias após o contágio em *L. vannamei* (Tang, Pantoja, Poulus, Redman & Ligthner, 2005). A

mortalidade dos camarões infectados com o vírus da mancha branca (WSSV), por exemplo, ocorre de três a dez dias após o surgimento dos sinais clínicos, que podem se expressar em condições de estresse, como em flutuações de temperatura e salinidade (Peinado-Guevara & López-Meyer, 2006).

As mionecroses em camarão foram registradas no Brasil a partir dos anos 2000 e causou um significativo aumento na mortalidade de juvenis e subadultos de *L. vannamei*, sendo associada geralmente ao estresse ambiental e físico. Apresenta-se de inicialmente de forma aguda, sinais clínicos fortes e elevada mortalidade, mas progride com o tempo para uma forma crônica com registros de mortalidade esporádica (Lightner *et al.*, 2000). Em nosso estudo, as densidades de 66 e 52 camarões/m² apresentaram muitos animais com sinais de mionecrose, o que incluiria as densidades populacionais elevadas como um importante fator de estresse ambiental.

Por apresentarem um tempo relativamente longo para o surgimento dos sinais clínicos e uma alta mortalidade, as mionecroses provocaram uma considerável perda na produtividade nos viveiros do Nordeste brasileiro no ano de 2003, com prejuízo econômico em torno de 20 milhões de dólares, acarretando uma perda média de 50% da produção (Nunes, Martins & Gesteira, 2004).

7.5 - CHT – Contagem de Hemócitos Total

Os níveis de hemócitos encontrados nos camarões do presente estudo foram extremamente baixos para os padrões hematológicos dos peneídeos, provavelmente os baixos valores foram decorrentes da fase da muda em que foi feita a extração da hemolinfa, realizada na fase de pós-ecdise e não na fase de intermuda. A intermuda pode apresentar valores médios em torno de 26.000 células por mililitro de hemolinfa em *Penaeus stylirostris* (Le Moullac *et al.*, 1997), 45.000 para *Fanfantepeanaeus paulensis* (Parazzolo, Gargioni, Ogliari & Barracco, 2002), 50.000 para *Penaeus monodon* (Van de Braak, Faber & Boon, 1996) e 100.000 para *L. vannamei* (Cheng, Wang & Chen, 2005). Reis (2005) encontrou grandes variações nos níveis de hemócitos em *L. vannamei* cultivados em fazendas do litoral do Rio Grande do Norte, com variações entre 1.000 a 98.500 células por mililitro de hemolinfa.

Contudo, foram constatados no presente estudo níveis muitos baixos de hemócitos circulantes na hemolinfa na fase de pós-ecdise, o que pode ser justificado pela maior diluição da hemolinfa nessa fase do ciclo de muda, provocada pela maior permeabilidade à água na carapaça do animal recém mudado. A capacidade osmorregulatória (OC) é determinante para o crescimento corpóreo e manutenção da homeostase nos crustáceos, sendo mais evidenciada na fase da ecdise ou quando há variações nas concentrações iônicas do meio externo (Lignot, Spanings-Pierrot & Charmantier, 2000). Gaxiola e colaboradores (2005) identificaram que pode haver também alterações na atividade e nas concentrações das proteínas solúveis em relação ao ciclo de muda de *L. vannamei* em condições de salinidade elevada, acarretando uma baixa na concentração protéica.

As diferentes fases de muda podem interferir também na resposta fisiológica ao estresse ambiental, sendo a susceptibilidade mais forte às infecções no estágio pré-muda D, em *Litopenaeus stylirostris* (Mugnier, Lemonnier & Legrand, 2006) e no estágio de pós-ecdise A, em *L. vannamei* (Liu, Yeh, Cheng & Chen, 2004), sendo registrada maior mortalidade.

Outro fator que pode influenciar na contagem dos hemócitos é a própria ocorrência de infecções. Jiang, Yu & Zhou (2004) identificaram em *Penaeus japonicus* que os níveis de hemócitos diminuem drasticamente quando infectado pelo vírus da mancha branca (WSSV) e quando combinado ao aumento das concentrações de amônia na água. Além disso, infecções e injúrias nos camarões podem provocar redução dos níveis de hemócitos circulantes devido a uma possível migração desses ao sítio da infecção (Barracco, 2004). Alguns camarões de nosso estudo apresentaram sinais de enfermidades que poderiam estar relacionados às infecções, o que poderia ter também refletido nos baixos níveis de hemócitos circulantes.

O presente estudo identificou que camarões maiores e mais pesados apresentaram o nível de hemócitos maior em relação aos animais menores, o que pode indicar a existência de variação na concentração de hemócitos em função da biomassa dos animais.

Os camarões estocados em densidade de 26 animais/m² (condição “quatro”) apresentaram redução no número de hemócitos circulante em relação à densidade de

52 animais/m² (condição “oito”), o que se mostrou diferente dos dados da literatura para outros fatores estressantes. A espécie *L. vannamei* apresenta redução nas concentrações de hemócitos quando foi submetida a fatores como a baixa concentração de oxigênio dissolvido na água (Jiang, Pan & Fang-Bo, 2005), diminuição da salinidade (Wang & Chen, 2005) e aumento das concentrações de amônia (Liu & Chen, 2004), reduzindo a sobrevivência e aumentando a susceptibilidade às doenças. Também, técnicas de manipulação como a extirpação do espermatóforo em machos e a ablação peduncular em fêmeas provocam redução nas concentrações de hemócitos em *F. paulensis* (Perazzolo, Gargioni, Ogliari & Barracco, 2002). Contudo, ainda não está totalmente claro o comportamento dos hemócitos dos camarões frente às variáveis ambientais e aos agentes infecciosos.

A adoção de procedimentos de Biossegurança pode ser uma ferramenta fundamental para evitar enfermidades e também a redução dos impactos econômicos causados por enfermidades, sendo o equilíbrio do ecossistema e do viveiro crítico para a recuperação dos camarões em cultivos afetados (ABCC, 2005). Kautsky, Ronnback, Tedengren & Troell (2000) propõem alternativas para reduzir a incidência de doenças no ambiente de cultivo, com soluções ecológicas: redução do número de viveiros por área de criação; sistema integrado de tratamento de efluentes e manejo de recursos; e soluções de manejo. Dentre as soluções de manejo destacam-se: restringir ou isolar o viveiro do ambiente natural; tratar e reutilizar a água do viveiro; seleção genética dos animais resistentes às doenças e redução da densidade populacional.

Em trabalhos experimentais, altas densidades populacionais podem ser obtidas sem que haja perdas na produtividade. Padrón (2006) utilizou plataformas de tela de nylon sobrepostas, a fim de aumentar a área total de cultivo, pôde abrigar até 600 camarões/m², sem que houvesse aumento de mortalidade. Contudo, essa técnica de cultivo só pode ser aplicada em lugares com alta renovação da água, já que a qualidade da água diminuiria rapidamente com o aumento da densidade.

O presente estudo mostrou claramente que os efeitos da densidade populacional elevada e da granulomeria do substrato podem afetar o bem estar, sobrevivência e o comportamento de *L. vannamei*, apresentando características que propiciam o

desenvolvimento de estresse, mensurado pela quantificação da sobrevivência, ganho de peso e crescimento, níveis de hemócitos e o próprio comportamento dos camarões.

O uso de substratos arenosos e baixa densidade populacional podem ser medidas de manejo importantes para a manutenção de um sistema de produção eficiente e rentável aos produtores de camarão, bem como melhoraria a qualidade do cultivo e minimizaria os efeitos danosos que a produção com altas densidades populacionais provoca ao ambiente.

8.0 – CONCLUSÃO

- i. O padrão geral de atividades comportamentais não varia com o tipo de substrato, porém a atividade exploratória aumenta com a redução da granulometria do substrato, sendo a areia fina o substrato mais indicado no ambiente de cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei*.
- ii. O comportamento de enterramento só ocorreu em substratos arenosos, havendo enterramento preferencialmente de durante o início da fase clara do dia.
- iii. A densidade populacional não altera o padrão geral de atividades comportamentais de *L. vannamei*. Mesmo assim, o crescimento dos camarões é favorecido em baixas densidades populacionais e em substratos arenosos. A densidade elevada propicia o surgimento de doenças e maior mortalidade nos camarões.
- iv. O tipo de substrato não altera a taxa de ecdise de *Litopenaeus vannamei*, apresentando frequência e intervalos entre mudas semelhantes. Já em densidades populacionais maiores há tendência ao aumento no número de mudas e conseqüente redução do intervalo entre as mudas.
- v. Camarões juvenis menores apresentam o número de hemócitos reduzido em relação aos camarões juvenis maiores, sendo o nível de hemócitos baixo em densidade de 26 camarões/m² na fase de pós-ecdise.
- vi. O tipo de substrato e a densidade populacional são indicadores importantes na qualidade do cultivo de camarão. A utilização de substrato arenoso em densidade de 26 camarões/m² mostra-se viável na criação de camarão, melhora a produção e favorece o crescimento e sobrevivência dos animais.

9.0 -REFERÊNCIAS

ABCC - Associação Brasileira de Criadores de Camarão (2005). **Camarões marinhos gestão de qualidade na fazenda: manual do pequeno produtor** (1ª ed.). (www.abccam.com.br). Atualizado em 22/01/2006.

Allan, G. L., Maguire, G. B. (1995). Effect of sediment on growth and acute ammonia toxicity for the school prawn, *Metapenaeus macleayi* (Haswell). **Aquaculture**, 131:59-71.

Arcos, G. F., Ibarra, A. M., Vazquez-Boucard, C., Palacios, E. & Racotta, I. S. (2003). Haemolymph metabolic variables in relation to eyestalk ablation and gonad development of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone. **Aquaculture Research**, 34: 749-755.

Arnold, S. J., Sellars, M. J., Crocos, P. J. & Coman, G. J. (2005). Response of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*) to intensive culture conditions in a flow through tank system with three-dimensional artificial substrate. **Aquaculture**, 246: 231– 238.

Arnold, S. J., Sellars, M. J., Crocos, P. J. & Coman, G. J. (2006). An evaluation of stocking density on the intensive production of juvenile brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*). **Aquaculture**. Artigo no prelo, avaliado *on line* por www.sciencedirect.com e atualizado em 10/04/2006.

Barnabé, G. (1996). Muda. In: **Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura**, 2: 236-249. Acribia, Zaragoza.

Barracco, M. A. A. (2004). Mecanismos de resistência a doenças em crustáceos. In: Ranzani – Paiva, M. J. T., Takemoto, R. M. & Lizara, M. A. P. (eds). **Salinidade de Organismos Aquáticos**. Varela: 49-72.

Bratvold, D., Browdy, C. L. (2001). Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. **Aquaculture**, 195: 81–94.

Bray, WA & Lawrence, AL. (1993). The effect of four substrates on growth and survival of *Penaeus vannamei* at two salinities. **Ciencias marinas**, 19 (2): 229-244.

Carvalho, W. F. (1999). **Técnicas Médicas de Hematologia e Imuno-hematologia**. 6.ed. Belo Horizonte: Coopmed.

Cheng, W., Wang, L. & Chen, J. (2005). Effect of water temperature on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio alginolyticus*. **Aquaculture**, 250: 592–601.

Coman, G. J., Crocos, P. J., Preston, N. P., Fielder, D. (2004). The effects of density on the growth and survival of different families of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. **Aquaculture** 229: 215–223.

Córdova-Murueta, J. H., García-Carreño, F. L. & Navarrete-Del-Toro, M. A. (2004). Effect of stressors on shrimp digestive enzymes from assays of feces: an alternate method of evaluation. **Aquaculture**, 233: 439–449.

Cuzin-Roudy, J., Tarling, G. A. & Strömberg, J. O. (2004). Life cycle strategies of Northern krill (*Meganyctiphanes norvegica*) for regulating growth, moult, and reproductive activity in various environments: the case of fjordic populations. **Journal of Marine Science**, 61: 721-737.

Dall, W. (1992). Feeding digestion and assimilation in Penaeidae. In: G. L. Allan and W. Dall (Editors). **Proceeding Aquaculture Nutrition Workshop**: 57-63, Salamander Bay, Australia.

Dall, W., J. Hill, P. C. Rothlisberg, & D. J. Staples. (1990). **The biology of Penaeidae. Advances in Marine Biology**, 27. Blaxter J. H. S., and A. J. Southward (eds.). Academic Press, New York, USA. 489 pp.

Decamp, O., Cody, J., Conquest, L., Delanoy, G. & Tacon, A. G. J. (2003). Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone), within experimental zero-water exchange culture systems. **Aquaculture Research**, 34: 345-355.

Figueiredo, M. C. B., Rosa, M. F., Gondim, R. S., Araújo, L. F., Gomes, R. B., Paulino, W. D., Correia, L. J. A. & Sabóia, L. F. (2004). Questões ambientais da carcinicultura de águas interiores: o caso da Bacia do Baixo Jaguaripe, CE. (<http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/0B19D3B1/embrapa96.pdf>).

Atualizado em 15/12/2005.

Gaxiola, G., Cuzon, G., Garcia, T., Taboada, G., Brito, R., Chimal, M.E., Paredes, A., Soto, L., Rosas, C. & van Wormhoudt, A. (2005). Factorial effects of salinity, dietary carbohydrate and moult cycle on digestive carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 140 (1): 29-39.

Harrison, K. E. (1990). The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review. **Journal of Shellfish Research**, 9 (1): 1-28.

Hindley, J. P. R. (1975). Effects of endogenous and some exogenous factors on the activity of the juvenile banana prawn *Penaeus merguensis*. **Marine Biology**, 29: 01-08.

Hoang, T., Lee, S. Y., Keenan, C. P. & Marsden, G. E. (2002). Effect of light intensity on maturation and spawning of ablated female *Penaeus merguensis*. **Aquaculture**, 209: 347-358.

Jiang, G., Yu, R. & Zhou, M. (2004). Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus. **Aquaculture**, 241: 61-75.

Jiang, L., Pan, L. & Fang-Bo. (2005). Effect of dissolved oxygen on immune parameters of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, 18: 185-188.

Karplus, I. & Barki, A. (2004). Social control of growth in the redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*: testing the sensory modalities involved. **Aquaculture**, 242: 321-333.

Kautsky, N., Ronnback, P., Tedengren, M. & Troell, M. (2000). Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. **Aquaculture**, 191:145–161.

Lakshmi, G., J., Venkataramiah, A. & Gunter, G. (1976). Effect of salinity and photoperiod on the burying behavior of brown shrimp *Penaeus aztecus* Ives. **Aquaculture**, 8: 327-336.

Le Moullac, G., Groumellec, M., Ansquer, D., Froissand, S., Levy, P & Aquacop. (1997). Haematological and phenoloxidase activity change in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. **Fish & Shellfish Immunology**, 7: 227-234.

Lightner, D.V., Pantoja, C.R., Poulos, B.T., Tang, K.F.J., Redman, R.M. Andreas, T. & Bonami, J.R. (2000). Infectious Myonecrosis (IMN): A New Virus Disease of *Litopenaeus vannamei*. www.iq2000kit.com/eng_imnv.htm atualizado em 15/03/2006.

Lignot, J. H., Spanings-Pierrot, C. & Charmantier, G. (2000). Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. **Aquaculture**, 191: 209–245.

Lima, P. P. (2005). Influência da oferta de alimento e da muda no comportamento alimentar do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. **Dissertação de Mestrado**, Universidade federal do Rio Grande do Norte, Natal. 71pp.

Liu, C. H. & Chen, J. C. (2004). Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. **Fish & Shellfish Immunological**, 16(3):321-34.

Liu, C. H., Yeh, S. T., Cheng, S. Y. & Chen, J. C. (2004). The immune response of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio* infection in relation with the moult cycle. **Fish & Shellfish Immunology**, 16: 151-161.

Macintosh, D. J. & Phillips, M. J. (1992). Environmental considerations in shrimp farming. **Infofish International**, 6: 38-42.

MacNeil, C., Dick, J. T. A., Hatcher, M. J., Fielding, N. J., Hume, K. D. & Dunn, A. M. (2003). Parasite transmission and cannibalism in an amphipod (Crustacea). **International Journal for Parasitology**, 33: 795–798.

Maia, E. P. (1993). Progresso e perspectivas da carcinicultura marinha no Brasil. In: **Simpósio Brasileiro Sobre Cultivo de Camarão**, 4. João Pessoa: MCR Aquacultura. pp.185-196.

Martin, P. & Bateson, P. (1993). **Measuring Behavior: An Introductory Guide** 2.ed. Cambridge, Cambridge University Press. pp.84-100.

Méndez, L. C., Racotta, I. S., Acosta, B. & Portillo-Clark, G. (2004). Effect of sediment on growth and survival of post-larval *Litopenaeus stylirostris* (Boone, 1931). **Aquaculture Research**, 35: 652-658.

Mugnier, C., Lemonnier, H. & Legrand, A. (2006). Physiological response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to short-term confinement on a pond bottom. **Aquaculture**, 253: 703-711.

Nga, B. T., Lurling, M., Peeters, E. T. H. M., Roijackers, R., Scheffer, M. & Nghia, T. T. (2005). Chemical and physical effects of crowding on growth and survival of *Penaeus monodon* Fabricius post-larvae. **Aquaculture**, 246: 455– 465.

Nunes, A. J. P. (2001). O cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em águas oligohalinas.(<http://www.aqualider.com.br/article.php?action=articleview&recid=101>) . Atualizado em 20/11/2004.

Nunes, A. J. P., Goddard, S. & Gesteira, T. C. V. (1996). Feeding activity patterns of the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. **Aquaculture**, 144: 371-386.

Nunes, A. J. P., Martins, P. C. C. & Gesteira, T. C. V. (2004). Produtores sofrem com as mortalidades decorrentes do vírus da mionecrose infecciosa (IMNV). Panorama da Aqüicultura, Maio/Junho. pp 37-51.

Odum, E. P. (1988). **Ecologia**. Guanabara, Rio de Janeiro. 434 pp.

Padrón, S. R. (2006). Behavioral responses of *Penaeus vannamei* to increased resting areas as affected by stocking density. **Dissertation of Master of Engineering**. Faculty

of the Graduate School of Cornell University, Cornell. 47pp. (<http://dspace.library.cornell.edu/handle/1813/2651?mode=simple>). Atualizado em 17/04/06.

Paquotte, P., Chim, L., Martin, J. L. M., Lemos, E., Stern, M. Tosta, G. (1998). Intensive culture of shrimp *Penaeus vannamei* in floating cages: zootechnical, economic and environmental aspects. **Aquaculture**, 164: 151–166.

Pascual, C., Arena, L., Cuzon, G., Gaxiola, G., Taboada, G., Valenzuela, M. & Rosas, C. (2004). Effect of a size-based selection program on blood metabolites and immune response of *Litopenaeus vannamei* juveniles fed different dietary carbohydrate levels. **Aquaculture**, 230: 405–416.

Pascual, C., Sánchez, A., Sánchez, A., Vargas-Albores, F., Moullac G. & Rosas, C. (2003). Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature. **Aquaculture**, 218: 637–650.

Peinado-Guevara, L. I. & López-Meyer, M. (2006). Detailed monitoring of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp commercial ponds in Sinaloa, Mexico by nested PCR. **Aquaculture**, 251: 33-45.

Perazzolo, L. M., Gargioni, R., Ogliari, P. & Barracco, M. A. A. (2002). Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress. **Aquaculture**, 214: 19-33.

Pérez-Castañeda, R. & Defeo, O. (2005). Growth and mortality of transient shrimp populations (*Farfantepenaeus spp.*) in a coastal lagoon of Mexico: role of the environment and density-dependence. **Journal of Marine Science**, 62: 14-24.

Pérez-Rostro, C. I., Racotta, I. S. & Ibarra, A. M. (2004). Decreased genetic variation in metabolic variables of *Litopenaeus vannamei* shrimp after exposure to acute hypoxia. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 302: 189– 200.

Pontes, C. S. (2003). Distribuição diária das atividades comportamentais e comportamento alimentar do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Tese de Doutorado**, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 101pp.

Pontes, C. S. & Arruda, M. F. (2005). Comportamento de *Litopenaeus vannamei* (Boone) (Crustácea, Decapoda, Penaeidae) em função da oferta do alimento artificial nas fases clara e escura do período de 24 horas. **Revista Brasileira de Zoologia**, 22: 648-652.

Promwikorn, W., Kirirat, P. & Thaweethamseewee, P. (2004). Index of molt staging in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Songklanakarin. **Journal of Science Technology** 26(5): 765-772.

Ray, W. M. & Chien, Y. H. (1992). Effects of stocking density and aged sediment on tiger prawn, *Penaeus monodon*, nursery system. **Aquaculture**, 104: 231-248.

Reis, L. G. (2005). Determinação do número de hemócitos da camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* cultivados em viveiros (um estudo piloto). **Monografia de Bacharelado**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 42 pp.

Ritvo, G., Samocha, T.M., Lawrence, A.L. & Neill, W.H. (1998). Growth of *Penaeus vannamei* on soils from various Texas shrimp farms, under laboratory conditions. **Aquaculture**, 163: 101–110.

Rocha, I. P., Rodrigues, J. & Amorim, L. (2004). A Carcinicultura Brasileira em 2003. **Revista da ABCC**: Março/2004. (<http://www.abccam.com.br/download/carci03.pdf>). Atualizado em 20/11/2004.

Rosas, C., Cuzon, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G. & Van Wormhoudt, A. (2001). Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penaeidae). **Aquaculture Research**, 32: 531-547.

Salim, J. (2002). Panorama da Carcinicultura Potiguar- Sua importância e perspectivas de crescimento. **Revista Panorama da Aquicultura**, (12): 69, jan-fev 2002: 38-40.

Sánchez, A., Pascual, C., Sánchez, A., Vargas-Albores, F., Moullac, G. & Rosas, C. (2001). Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation. **Aquaculture**, 198: 13–28.

Sapolsky, R. M. (2002). Endocrinology of the Stress-Response. In: J. B. Becker; S. M. Breedlove; D. Crews (eds.). **Behavioral Endocrinology** (2^a ed.). MIT Press. Cambridge, Pp. 409-449.

Sellars, M. J., Arnold, S. J., Crocos, P. J. & Coman, G. J. (2004). Physical changes in brown tiger shrimp (*Penaeus esculentus*) condition when reared at high-densities and their capacity for recovery. **Aquaculture**, 232: 395–405.

Söderhäll, S. & Cerenius, L. (1992). Crustacean Immunity. **Annual. Rev. of Fish Diseases**. Pergamon Press, USA. Pp 3-23.

Song, Y.L., Chun, I. Y., Lien, T. W., Huang, C. C. & Lin, M. N. (2003). Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. **Fish & Shellfish Immunology**, 14: 317–331.

Stickney, R. R. (2000). Shrimp culture. In: Stickney, R.R. (Ed.), **Encyclopedia of Aquaculture**. Wiley, New York, USA. Pp. 798–868.

Tang, K. F. J., Pantoja, C. R., Poulos, B. T., Redman, R. M. & Lightner, D. V. (2005). In situ hybridization demonstrate that *Litopenaeus vannamei*, *L. Stylirostris* and *Penaeus monodon* are susceptible to experimental infection with infectious myonecrosis virus (IMNV). **Diseases of Aquatic Organisms**, 63: 261-265.

Tanner, J. E. & Deakin, S. (2001). Active habitat selection for sand by juvenile western king prawns, *Melicertus latisulcatus* Kishinouye. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 261: 199–209.

Taylor, J., Vinatea, L., Ozorio, R., Schuweitzer, R. & Andreatta, E. R. (2004). Minimizing the effect of stress during eyestalk ablation of *Litopenaeus vannamei* female with topical anesthetic and a coagulating agent. **Aquaculture**, 233: 173-179.

Van de Braak, C. B. T., Faber, R. & Boon, J. (1996). Cellular and humoral characteristics of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) haemolymph. **Comparative Haematology International**, 6: 194-203.

Volpato, G. L. & Hoshino, K. (1984). Adaptative process derived from the agonistic behavior in the freshwater prawn *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897). **Bulletin Fisiological Animal**, 8: 157-163.

Volpato, G. L. & Hoshino, K. (1987). Diurnal or nocturnal ecdysis determined by populational factors in the freshwater prawn *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897). **Bulletin Fisiological Animal**, 11: 113-121.

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**, 62472: 1-10.

Wang, L. O. & Chen, J. C. (2005). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. **Fish & Shellfish Immunology**, 18: 269-278.

Wyban, J. A. & Sweeney, J. N. (1989). Intensive shrimp growout trial in a round pond. **Aquaculture**, 76: 215-225.

Wyban, J. A., Lee, C. S., Sato, V. T., Sweeney, J. N. & Richards, W. K. J. (1987). Effect of stocking density on shrimp growth rates in manure-fertilized ponds. **Aquaculture**, 61 (1): 23-32.

Yip-Hoi, T. A. (2003). An investigation of effects of dissolved oxygen level, sediment type, stocking density and predation on the growth rate, survivorship, and burrowing behavior of juvenile brown and white shrimp. (Under the direction of James A. Rice and James F. Gilliam.) **Dissertation of Doctor of Philosophy Zoology**. Faculty of North Carolina State University, North Carolina. 177pp. (<http://www.lib.ncsu.edu/theses/available/etd-05262003-125224/unrestricted/etd.pdf>).
Atualizado em 17/04/06.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)