

## EFEITO DA SALINIDADE E TEMPERATURA SOBRE A TAXA DE METAMORFOSE DE NÁUPLIOS PARA PROTOZOEIA I E SOBRE A QUALIDADE DAS LARVAS DE *LITOPENAEUS VANNAMEI*.

HADJA RADTKE NUNES, EDEMAR ROBERTO ANDREATTA

Universidade Federal do Santa Catarina – Departamento de Aquicultura, Laboratório de Camarões Marinhos, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, CEP 88034-001. Florianópolis – SC, Brasil. – hadjaradtke@hotmail.com

### RESUMO

Temperatura e salinidade são dois dos fatores abióticos que mais afetam o crescimento e sobrevivência dos organismos aquáticos. A fim de estimar os níveis ótimos de salinidade e temperatura para a metamorfose de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I, foram realizados dois experimentos separados avaliando a taxa de metamorfose e qualidade das larvas. Os níveis de salinidade testados foram 29, 31, 33 e 35 e de temperatura 25, 30 e 35°C. Os dados foram submetidos à ANOVA unifatorial (nível de significância 5%), seguida pelo teste de Tukey para comparação de médias. Não foram verificadas diferenças significativas entre as porcentagens de metamorfose nas diferentes salinidades e temperaturas testadas ( $p > 0,05$ ). A qualidade das larvas não foi afetada pela salinidade dentro da faixa testada, mas foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) na temperatura de 35°C do que nos demais tratamentos. Assim, a faixa de salinidade de 29 a 35 foi considerada adequada à metamorfose dos náuplios, mas o intervalo de temperaturas entre 25 e 35°C não foi considerado ideal. Isto porque o nível mais baixo testado aumentou o tempo de desenvolvimento entre os estágios de náuplio e protozoa I e o mais alto causou a expansão dos cromatóforos das larvas, indicando uma condição de estresse.

**PALAVRAS CHAVE:** metamorfose, qualidade, larvas, salinidade, temperatura, *Litopenaeus vannamei*.

### ABSTRACT

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

Temperature and salinity are two of the environmental factors that most affect the growth and survival of aquatic organisms. In order to estimate the optimal levels of salinity and temperature for the metamorphosis from nauplii to protozoa I stage of *Litopenaeus vannamei*, two separate experiments were carried out to evaluating the metamorphosis rate and larval quality. The salinity levels tested were 29, 31, 33 and 35 and temperature 25, 30 and 35 °C. The data were subjected to one-way ANOVA (significance level 5%), followed by the Tukey test to compare means. There were no significant differences between the percentages of metamorphosis under the different levels of salinity and temperature tested ( $p > 0.05$ ). The quality of the larvae was not affected by salinity within the range tested, but was significantly lower ( $p < 0.05$ ) at a temperature of 35°C than under other treatments. Thus, the range of salinity from 29 to 35 was considered suitable for metamorphosis of nauplii, but the interval of temperatures from 25 to 35°C was not considered ideal. This because the lowest level tested increased the time of development from nauplius to protozoa I and the highest caused the expansion of the chromatophores of the larvae, indicating a stress condition.

**KEYWORDS:** metamorphosis, quality, larvae, salinity, temperature, *Litopenaeus vannamei*.

## INTRODUÇÃO

A captura no ambiente natural supriu, por muitos anos, os requerimentos por pós-larvas das fazendas de camarão (Kumlu 1999). Mas, com o advento das doenças virais em camarões e o aumento dos estoques mantidos em cativeiro, a indústria passou gradualmente a se tornar mais dependente das pós-larvas produzidas em laboratório (Treece 2000).

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

Durante o estágio de náuplio, a taxa de desenvolvimento é principalmente influenciada por fatores abióticos, já que a larva depende das fontes de energia internas para sobreviver antes de sofrer a metamorfose para protozoa I, fase na qual inicia a

alimentação exógena. A partir deste estágio, a taxa de desenvolvimento da larva passa a ser influenciada também pela abundância de alimento adequado, em adição aos fatores abióticos (Chen & Chen 2002, Zacharia & Kakati 2004).

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

Alguns estudos com estágios larvais incluíram a investigação específica da fase de metamorfose dos náuplios para protozoa I, avaliando o efeito da temperatura isoladamente na taxa de metamorfose de

*Litopenaeus vannamei* (Mazotto *et al.* 2000) e os efeitos combinados da temperatura e salinidade sobre náuplios de *Farfantepenaeus aztecus* (Cook & Murphy 1969), *Melicertus plebejus*, *Metapenaeus macleayi*, *M. bennettiae* (Preston 1985), *Litopenaeus stylirostris* (Villamar *et al.* 1988) e *Fenneropenaeus merguensis* (Zacharia & Kakati 2004).

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

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram executados no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM – UFSC), localizado em Florianópolis, Santa Catarina. Foram utilizados náuplios no estágio de NIII/NIV, coletados

nos tanques de incubação do setor de maturação do LCM, entre 8 e 10 horas após a eclosão. Os náuplios foram provenientes de ovos de múltiplas desovas e incubados sob as mesmas condições ambientais. Antes do povoamento das unidades experimentais, uma amostra destes náuplios era submetida a uma avaliação de sua qualidade, através da observação de um número entre 30 e 50 indivíduos sob um microscópio de luz. A esta amostra era atribuída uma pontuação de acordo com a adequação dos náuplios a determinadas características pré-estabelecidas para sua qualificação, as quais podem ser verificadas na Tabela 1, junto com a pontuação atribuída para cada característica. Estes parâmetros de qualificação foram extraídos da tabela empregada na larvicultura do LCM para avaliação dos náuplios antes do povoamento. Apenas náuplios provenientes de amostras classificadas com pontuação acima de 50 eram utilizados nos experimentos (numa escala que poderia variar de 0 a 60 pontos).

Tabela 1 – Parâmetros e pontuação empregados na avaliação da qualidade dos náuplios.

Parâmetro	Avaliação	Pontos
Atividade natatória	Ativas (acima de 90%)	10
	Lentas (de 70 a 90%)	5
	Inativas (abaixo de 70%)	0
Coloração	Coloração avermelhada forte	10
	Coloração avermelhada	5
	Não apresentam cor avermelhada	0
Cromatóforos	Apresentam, ou não, cromatóforos pouco expandidos	10
	Apresentam cromatóforos expandidos	5
	Apresentam cromatóforos muito expandidos	0
Reserva de lipídeos	Alta reserva de lipídeos	10
	Média reserva de lipídeos	5
	Baixa reserva de lipídeos	0
Fototaxia	Positiva (resposta à luz acima de 90%)	10
	Média (resposta à luz entre 70 e 90%)	5
	Negativa (resposta à luz abaixo de 70%)	0
Deformidade de apêndices ou espículas quebradas	Baixa (menor que 5%)	10
	Média (entre 5 e 15%)	5
	Alta (acima de 15%)	0
Partículas aderidas	Baixo (menor que 5%)	10
	Média (entre 5 e 15%)	5
	Alto (acima de 15%)	0

Os náuplios utilizados nos experimentos foram provenientes de um “pool” das desovas diárias da maturação do LCM e não da desova de uma única fêmea. Ou seja, foram coletados, ao acaso, náuplios de todas as fêmeas que haviam desovado na noite anterior à realização do experimento (entre 30 e 60 fêmeas). Por isso, para os dois fatores estudados, o mesmo experimento (com duração de três dias) foi repetido no tempo por cinco vezes, utilizando diversas desovas, a fim de eliminar a interferência de possíveis diferenças genéticas entre os náuplios utilizados nos testes. Desse modo, tanto no experimento de salinidade quanto de temperatura, os resultados são compostos pelos resultados de cinco repetições do mesmo experimento realizadas no tempo, cada uma utilizando um diferente “pool” de náuplios.

A nomenclatura científica aplicada para os gêneros dos camarões peneídeos citados no presente trabalho segue a proposta de revisão sugerida por Pérez-Farfante & Kensley (1997), embora nas referências bibliográficas conste ainda a nomenclatura empregada originalmente nos trabalhos citados.

### **Experimento de salinidade**

Os animais foram submetidos a quatro salinidades: 29, 31, 33 e 35, sendo cada tratamento composto por três repetições. Como unidades experimentais (UEs) foram utilizadas garrafas plásticas transparentes, com volume útil de 1L, colocadas em banho-maria dentro de uma caixa de poliuretano preta (80 x 80 x 50 cm), contendo água doce. A temperatura da água foi mantida em 29°C ( $\pm 0,2^\circ\text{C}$ ). As UEs foram submetidas a uma intensidade

de aeração moderada e intensidade luminosa de aproximadamente 300 lux, num regime de fotoperíodo de 12L/ 12E (12 horas de luz e 12 horas de escuro).

Os náuplios foram aclimatados às salinidades dos tratamentos numa taxa de 2/hora, sendo a temperatura mantida em 29°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) durante todo o processo. As diferentes salinidades da água foram obtidas através da diluição com água doce da água do mar disponível no sistema de bombeamento do laboratório no dia, ou adição de cloreto de sódio à mesma.

Após a aclimação, os náuplios eram contados utilizando uma pipeta de vidro transparente de 10 mL, visualizada sob uma lâmpada. Em cada UE foi empregada uma densidade de 300 náuplios por litro.

Entre 13 e 14 horas após o início do experimento, eram adicionadas às UEs microalgas da espécie *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, 1898 (Classe Bacillariophyceae) numa densidade de  $5 \times 10^4$  células/mL.

Os testes foram encerrados entre 32 e 33 horas após o povoamento, sendo realizada a contagem das protozoas de cada UE, para a determinação da taxa de metamorfose. Também era separada uma amostra de larvas de cada UE para a posterior avaliação da sua qualidade. Esta foi efetuada através da análise de 15 a 30 larvas sob um microscópio de luz, sendo atribuída uma pontuação de acordo com a adequação a características pré-estabelecidas para a qualificação das larvas, descritas na Tabela 2 junto com a pontuação atribuída para cada característica. Estes parâmetros de qualificação foram extraídos da tabela utilizada para avaliação das larvas no estágio de protozoa I no setor de larvicultura do LCM.

Tabela 2 – Parâmetros e pontuação empregados na avaliação da qualidade das Protozoelas I.

Parâmetro	Avaliação	Pontos
<b>Resultado da avaliação dos náuplios</b>	Acima de 55 pontos	10
	Entre 25 e 55 pontos	5
	Abaixo de 25 pontos	0
<b>Taxa de virada (%)</b>	Acima de 90%	10
	Entre 70 e 90%	5
	Abaixo de 70%	0
<b>Atividade natatória: nado rápido e constante para frente e em círculos</b>	Acima de 90% das larvas amostradas	10
	Entre 70 e 90%	5
	Abaixo de 70%	0
<b>Fototaxia</b>	Acima de 90% respondem à luz	10
	Entre 70 e 90% respondem à luz	5
	Abaixo de 70% respondem à luz	0
<b>Presença de lipídeos no hepatopâncreas</b>	Mais de 90% dos animais amostrados	10
	Entre 70 e 90%	5
	Abaixo de 70%	0
<b>Coloração do hepatopâncreas (relação com a dieta)</b>	Amarelo escuro a marrom	10
	Amarelo claro	5
	Pouca coloração e áreas vazias	0
<b>Presença de conteúdo intestinal (intestino cheio)</b>	Acima de 70% dos animais	10
	Entre 20 e 70%	5
	Abaixo de 20%	0
<b>Presença de animais com cordões fecais</b>	Mais de 90% dos animais amostrados e abundantes na coluna d'água	10
	Entre 70 e 90% dos animais e fácil visualização na coluna d'água	5
	Menos de 70% dos animais e difícil visualização na coluna d'água	0
<b>Deformidades</b>	Não verificado nos animais amostrados	10
	Presente em menos de 10% dos animais	5
	Presente em mais de 10% dos animais	0
<b>Epibiontes</b>	Não verificado nos animais amostrados	10
	Temporais ou permanentes, abaixo de 15% dos animais	5
	Permanentes, acima de 15% dos animais	0
<b>Partículas aderidas (larvas sujas)</b>	Larvas limpas ou com poucas partículas aderidas nas pontas dos apêndices (menos de 5%) ou em 5 a 10% do organismo, abaixo de 25% dos animais	10
	Poucas partículas entre 10 e 40% dos apêndices ou do organismo, entre 25 e 60% dos animais	5
	Partículas aderidas acima de 40% dos apêndices ou do organismo, superior a 60% dos animais	0
<b>Presença de necroses</b>	Não verificado nos animais amostrados	10
	Até 15% dos animais	5
	Acima de 15% dos animais	0
<b>* Cromatóforos expandidos</b>	Não verificado nos animais amostrados	10
	Até 15% dos animais amostrados	5
	Acima de 15% dos animais amostrados	0

\* Parâmetro empregado somente na avaliação das larvas do experimento de temperatura.

## Experimentos de temperatura

Os tratamentos consistiram de três temperaturas: 25 ( $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ), 30 ( $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ) e 35 ( $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ), sendo cada tratamento composto por três repetições. Foram utilizadas as mesmas UEs descritas para o experimento de salinidade, mantidas em banho-maria em três diferentes caixas de poliuretano, uma para cada temperatura testada. Foi aplicada uma intensidade de aeração moderada, intensidade luminosa de aproximadamente 300 lux e regime de fotoperíodo de 12L/12E.

Antes do povoamento das UEs, os náuplios foram aclimatados à salinidade e às temperaturas do experimento, em taxas de 2/hora e  $2^{\circ}\text{C}/\text{hora}$ , respectivamente. A salinidade empregada variou de 32 a 34 nas cinco repetições do experimento realizadas no tempo, pois era a da água do mar que estava sendo bombeada pelo laboratório no dia. Para a contagem dos náuplios e povoamento das UEs, seguiu-se o mesmo processo descrito para o experimento de salinidade.

Entre 13 e 14 horas após o início do experimento, eram adicionadas microalgas da espécie *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G. Fryxell & Hasle, 1977 (Classe Bacillariophyceae), numa densidade de  $0,6 \times 10^4$  células/mL.

Os tratamentos de  $30^{\circ}\text{C}$  e  $35^{\circ}\text{C}$  foram encerrados entre 32 e 34 horas após o povoamento, mas o tratamento sob  $25^{\circ}\text{C}$  foi mantido até completar aproximadamente 45 horas (até que as larvas concluíssem a metamorfose para protozoa). O procedimento aplicado na avaliação da taxa de metamorfose e qualidade das larvas foi o mesmo descrito para o experimento anterior. No entanto, na avaliação da qualidade das larvas, além das características empregadas para o experimento de

salinidade, também foi avaliado o grau de expansão dos cromatóforos das larvas (Tabela 2).

## Análise estatística

Os dados obtidos de taxa de metamorfose e qualidade das larvas foram submetidos à Análise de Variância Unifatorial (one-way ANOVA), com nível de significância de 5%. As possíveis diferenças significativas entre as médias foram determinadas através do teste de Tukey para comparação de médias ( $p < 0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico PRISM 4.0. Antes das análises, os dados de sobrevivência e qualidade foram submetidos às transformações do arco seno e da raiz quadrada (Steel & Torrie 1980), respectivamente, a fim de estabelecer a normalidade à distribuição dos dados e homogeneizar as variâncias, para atender aos pressupostos do teste estatístico paramétrico aplicado.

## RESULTADOS

### Experimento de salinidade

A taxa de metamorfose dos náuplios para protozoa I não foi significativamente afetada pela salinidade dentro da faixa testada. Isto porque não foram verificadas diferenças significativas entre as médias de porcentagem de metamorfose sob as quatro salinidades testadas ( $p > 0,05$ ). Foram obtidas porcentagens de metamorfose acima de 93% em todos os tratamentos de todas as repetições realizadas. Na Tabela 3 são apresentadas as médias da taxa de metamorfose dos náuplios das quinze repetições de cada tratamento (cinco repetições do experimento no tempo com três repetições em cada tratamento) com seus respectivos desvios padrão.

Tabela 3 – Valores de taxa de metamorfose em porcentagem (média  $\pm$  desvio padrão;  $n=15$ ) de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I obtidos nas cinco repetições realizadas no tempo do experimento de salinidade.

Salinidade	29	31	33	35
Média <sup>(15)</sup> $\pm$ desvio padrão (%)	96,53 $\pm$ 2,57 <sup>a</sup>	96,38 $\pm$ 2,51 <sup>a</sup>	97,11 $\pm$ 2,76 <sup>a</sup>	96,73 $\pm$ 2,61 <sup>a</sup>

One-way ANOVA, nível de significância 5%. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes uma da outra ( $p > 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

De forma semelhante, a faixa de salinidade testada também não exerceu efeito significativo na qualidade das larvas após a metamorfose para protozoa I. Isto porque não foram verificadas diferenças significativas entre as médias de pontuação da qualidade das larvas nas quatro

salinidades testadas no experimento ( $p>0,05$ ). Na Tabela 4 são mostradas as médias da pontuação da qualidade das larvas nas quinze repetições de cada tratamento (cinco repetições do experimento no tempo com três repetições em cada tratamento) com os respectivos desvios padrão.

Tabela 4 – Valores de pontuação da qualidade em escore (média  $\pm$  desvio padrão;  $n=15$ ) das protozoas I de *Litopenaeus vannamei* que realizaram a metamorfose sob os quatro tratamentos do experimento de salinidade (obtidos nas cinco repetições do experimento realizadas no tempo).

Salinidade	29	31	33	35
<b>Média <sup>(15)</sup> <math>\pm</math> desvio padrão (pontuação)</b>	103,00 $\pm$ 7,51 <sup>a</sup>	95,33 $\pm$ 10,60 <sup>a</sup>	98,33 $\pm$ 8,38 <sup>a</sup>	93,67 $\pm$ 13,56 <sup>a</sup>

One-way ANOVA, nível de significância 5%. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes uma da outra ( $p>0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

### Experimentos de temperatura

Como não foram verificadas diferenças significativas entre as porcentagens de metamorfose médias dos náuplios submetidos às três temperaturas testadas ( $p>0,05$ ), considerou-se que a faixa de temperatura de 25 a 35°C não afetou a taxa de metamorfose dos náuplios. Foram obtidas taxas de

metamorfose acima de 96% em todos os tratamentos de todas as repetições no tempo. A tabela 5 apresenta as porcentagens de metamorfose médias obtidas nas quinze repetições de cada tratamento (cinco repetições no tempo com três repetições em cada tratamento) com os respectivos desvios padrão verificados.

Tabela 5 – Valores de taxa de metamorfose em porcentagem (média  $\pm$  desvio padrão;  $n=15$ ) de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I obtidos nas cinco repetições do experimento de temperatura realizadas no tempo.

Temperatura	25°C	30°C	35°C
<b>Média <sup>(15)</sup> <math>\pm</math> desvio padrão (%)</b>	98,04 $\pm$ 0,85 <sup>a</sup>	99,16 $\pm$ 0,93 <sup>a</sup>	97,75 $\pm$ 2,27 <sup>a</sup>

One-way ANOVA, nível de significância 5%. Médias com letras iguais não são significativamente diferentes uma da outra ( $p>0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

Por outro lado, foi verificada uma pontuação média da qualidade das larvas significativamente menor no tratamento com temperatura de 35°C ( $p<0,05$ ) em relação à média dos outros dois tratamentos. Isso pode ser observado no gráfico da

Figura 1, que mostra o efeito da temperatura aplicada na pontuação média da qualidade das larvas ( $n=15$ ). Na Tabela 6 são mostrados os valores médios de pontuação da qualidade das larvas ( $n=15$ ) com seus respectivos desvios padrão.

Tabela 6 – Valores de pontuação da qualidade em escore (média  $\pm$  desvio padrão; n=15) das protozoas I de *Litopenaeus vannamei* que realizaram a metamorfose sob os três tratamentos do experimento de temperatura (obtidos nas cinco repetições do experimento realizadas no tempo).

Temperatura	25°C	30°C	35°C
Média <sup>(15)</sup> $\pm$ desvio padrão (pontuação)	114,00 $\pm$ 6,87 <sup>a</sup>	117,67 $\pm$ 4,95 <sup>a</sup>	89,33 $\pm$ 10,83 <sup>b</sup>

One-way ANOVA, nível de significância 5%. Médias com letras diferentes são significativamente diferentes uma da outra ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Tukey.

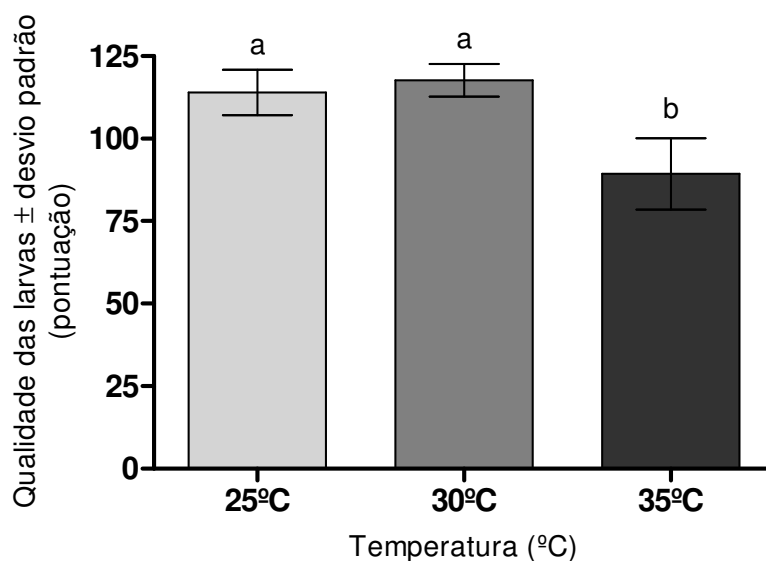


FIGURA 1 – Efeito das três temperaturas testadas na média (n=15) da pontuação da qualidade das protozoas I de *Litopenaeus vannamei* (pontuação média  $\pm$  desvio padrão). One-way ANOVA, nível de significância de 5%. As médias com letras diferentes são significativamente diferentes uma da outra ( $p < 0,05$ ) de acordo com o Teste de Tukey. As barras representam os desvios padrão das médias.

## DISCUSSÃO

### Experimento de salinidade

A faixa de salinidades entre 30 e 35 está dentro do intervalo considerado adequado para a metamorfose e sobrevivência de náuplios de diversas espécies de camarões peneídeos já estudadas. Náuplios de *Fenneropenaeus merguensis* exibiram taxas de metamorfose para protozoa I acima de 50% em salinidades de 30, 35 e 40, sob temperaturas de 29 e 33°C, sendo que as larvas mantidas sob salinidade de 25 apresentaram comportamento letárgico e a mais baixa sobrevivência (Zacharia & Kakati 2004). Conforme Chu & So (1987), náuplios de *Metapenaeus ensis* não foram capazes de realizar a metamorfose para protozoa num período de 24

horas sob salinidade de 15, mas apresentaram uma taxa de metamorfose de 100% quando mantidos em salinidades entre 20 e 35. Com larvas de *Penaeus semisulcatus* entre os estágios de náuplio e mysis I, Jackson & Burford (2003) verificaram que a sobrevivência e o crescimento das larvas não foram afetados pela salinidade acima de 28 (29, 32, 34 e 37). Mas, em 28, houve uma redução significativa da taxa de crescimento e, quando combinada com baixa temperatura, também houve redução da sobrevivência. Num estudo realizado por Villamar *et al.* (1988) com náuplios recém-eclodidos de *Litopenaeus stylirostris*, a maior taxa de metamorfose para protozoa foi de 96%, obtida sob salinidade de 33 e temperatura de 28°C. Os demais valores de salinidade testados (23, 28, 38 e 43) reduziram as porcentagens de metamorfose obtidas. Com náuplios

de *Litopenaeus vannamei* no presente estudo, foram obtidas porcentagens de metamorfose para protozoa I acima de 93% em todos os tratamentos aplicados (entre 29 e 35), não tendo sido verificado efeito significativo dos níveis de salinidade avaliados sobre a metamorfose dos náuplios. Desse modo, pode-se observar que valores de salinidade entre 29 e 35, assim como para outras espécies de peneídeos, também se mostraram adequados para a metamorfose de náuplios de *Litopenaeus vannamei*.

De forma semelhante, os níveis de salinidade testados no presente estudo não exerceram influência significativa tanto no período de desenvolvimento entre os estágios de náuplio III e protozoa I, quanto na qualidade das larvas de *Litopenaeus vannamei* após a metamorfose.

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

### Experimentos de temperatura

No presente estudo, os níveis de temperatura testados (25, 30 e 35°C) não interferiram na porcentagem de metamorfose de náuplios de *Litopenaeus vannamei* para protozoa I, sendo verificadas porcentagens acima de 96% em todos os tratamentos aplicados. Também com náuplios de *Litopenaeus vannamei*, Mazotto *et al.* (2000), não verificaram diferenças significativas entre as taxas de metamorfose para protozoa obtidas sob temperaturas de 26°C (77,4%) e 30°C (83,8%).

Por outro lado, estudos realizados com náuplios de outras espécies de peneídeos verificaram um efeito significativo da temperatura na taxa de metamorfose para protozoa, dentro desta mesma faixa de valores. A porcentagem de metamorfose de náuplios de *Fenneropenaeus merguensis*, em geral, independente da salinidade aplicada, foi maior sob temperatura de 33°C do que 29°C, sendo que, numa

salinidade de 35, as maiores porcentagens obtidas foram de 89% em 33°C e 78,5% em 29°C (Zacharia & Kakati 2004). Náuplios de *Melicertus marginatus* exibiram maiores taxas de sobrevivência após o estágio naupliar sob 20 e 25°C do que sob 15 e 30°C (Gopalakrishnan 1976). E, de acordo com um estudo realizado por Cook & Murphy (1969), a sobrevivência de náuplios de *Farfantepenaeus aztecus* foi melhor sob 24°C do que sob 28 ou 32°C. A partir disso, observa-se que as melhores taxas de metamorfose para protozoa podem ocorrer em temperaturas mais baixas (20 a 25°C) ou mais altas (33°C), dependendo da espécie em estudo. No entanto, os náuplios de *Litopenaeus vannamei* foram capazes de completar a metamorfose dentro de um intervalo de temperaturas relativamente amplo (25 a 35°C), se comparado com os intervalos ótimos de outras espécies já pesquisadas, exibindo porcentagens de metamorfose altas e uniformes (média geral de 98,31% ± desvio padrão de 1,59%) entre os tratamentos aplicados.

Apesar de não terem influenciado a taxa de metamorfose no presente experimento, os níveis de temperatura testados interferiram no tempo de desenvolvimento das larvas. Os náuplios de *Litopenaeus vannamei* submetidos à temperatura de 25°C, completaram a metamorfose para protozoa cerca de 10 horas mais tarde (45 horas) do que os náuplios mantidos em 30°C (entre 32 e 34 horas). De forma semelhante, Preston (1985), num estudo realizado com três espécies de peneídeos, *Melicertus plebejus*, *Metapenaeus macleayi* e *Metapenaeus bennettiae*, verificou que para o desenvolvimento entre os estágios de náuplio I e protozoa I, numa salinidade de 30‰, as larvas das três espécies levaram entre 66 e 72 horas quando submetidas à temperatura de 19°C, porém, quando a temperatura foi aumentada para 34°C levaram entre 30 e 32 horas apenas. Também, com larvas de *Penaeus semisulcatus* entre os estágios de náuplio e misis I, Jackson & Burford (2003) observaram que a taxa de crescimento foi significativamente influenciada pela temperatura na faixa de 20 a 32°C, sendo que as larvas cresceram mais rápido sob temperaturas mais altas.

No entanto, essa redução do tempo de cultivo causada pela aplicação de temperaturas elevadas pode, ao longo do desenvolvimento, induzir efeitos



negativos na sobrevivência, crescimento e qualidade das larvas. No cultivo de larvas de *Penaeus semisulcatus* entre os estágios de protozoa I e pós-larva 1, Kumlu *et al.* (2000) observaram que as larvas submetidas a 26°C exibiram maior sobrevivência (61%), mas menor taxa de crescimento do que as larvas sob 34°C (com sobrevivência de 12%), confirmando a sugestão de que altas temperaturas, até certo ponto, aumentam a frequência de muda e o crescimento larval, mas reduzem a sobrevivência de camarões peneídeos. De forma semelhante, no cultivo de juvenis de *Fenneropenaeus indicus* num intervalo de temperaturas entre 26 e 35°C, um ciclo de muda rápido associado com um correspondente crescimento em termos de comprimento e ganho de peso foi observado somente até a temperatura de 31°C. Acima desse nível o ciclo de muda foi mais rápido, mas não produziu um correspondente ganho no comprimento ou peso (Vijayan & Diwan 1995).

Com náuplios de *Litopenaeus vannamei* no presente estudo, a temperatura exerceu um efeito significativo na qualidade das larvas, tendo sido verificada uma pontuação média da qualidade das larvas significativamente menor no tratamento com 35°C em relação aos tratamentos com 25 e 30°C. Esta menor pontuação da qualidade ocorreu essencialmente devido ao fato de 30 a 100% das larvas apresentarem cromatóforos expandidos no tratamento com 35°C. Destaca-se que as larvas submetidas aos tratamentos com 25 e 30°C exibiram uma condição normal, na qual não houve expansão dos cromatóforos. Uma resposta semelhante foi obtida por Smith (1930), que verificou a expansão dos cromatóforos do camarão de água doce *Macrobrachium acanthurus* em temperaturas acima de 35°C e abaixo de 15°C. Sob qualquer temperatura acima de 15°C e abaixo de 35°C os animais exibiram uma coloração normal, na qual não houve a expansão dos cromatóforos. A recuperação da coloração normal ocorreu como regra, quando os camarões submetidos às temperaturas extremas foram retornados para água em torno de 28°C, sendo que o autor destacou que a temperatura na qual a espécie vive normalmente está entre 25 e 30°C. Uma coloração avermelhada de pós-larvas de camarão, causada pela expansão dos cromatóforos, é um indicador de estresse e deve ser o primeiro critério a

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

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

Assim, embora a variação dos níveis de temperatura na faixa de 25 a 35°C não tenha interferido na capacidade dos náuplios completarem a metamorfose, o nível mais alto testado afetou a

qualidade das larvas após a mudança de estágio. Portanto, o intervalo de temperatura entre 30 e 35°C exige estudos mais detalhados de seus efeitos na qualidade das larvas, a fim de estimar o limite superior da faixa ideal para o desenvolvimento larval. Desse modo, sugere-se que o uso de temperaturas próximas de 35°C seja evitado durante a metamorfose dos náuplios para protozoa, até que os efeitos positivos e negativos deste fator estejam suficientemente elucidados.

## REFERÊNCIAS

- CHEN, YH & IM CHEN. 2002. Effects of temperature and salinity on the metamorphosis of nauplius of a planktonic shrimp *Acetes intermedius* Omori, 1975. *Fish. Sci.*, 68: 117-122.
- CHU, KH & BSH SO. 1987. Changes in salinity tolerance during larval development of the shrimp *Metapenaeus ensis* (De Haan). *Asian Mar. Biol.*, 4: 41-48.
- COOK, HL & MA MURPHY. 1969. The culture of larval penaeid shrimp. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 98 (4): 751-754.
- GOPALAKRISHNAN, K. 1976. Larval rearing of red shrimp *Penaeus marginatus* (Crustacea). *Aquaculture*, 9: 145-154.
- JACKSON, CJ & MA BURFORD. 2003. The effects of temperature and salinity on growth and survival of larval shrimp *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeoidea). *J. Crust. Biol.*, 23 (4): 819-826.
- KUMLU, M. 1999. Feeding and digestion in larval decapod crustaceans. *Turk. J. Biol.*, 23: 215-229.
- KUMLU, M, OT EROLDGAN & M AKTAS. 2000. Effects of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*. *Aquaculture*, 188: 167-173.
- LESTER, LJ & MJR PANTE. 1992. Penaeid temperature and salinity responses. In: FAST, AW & JL LESTER (Eds.). *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, Chap 24: 515-534.
- LIAO, IC. 1992. Penaeid larviculture: Taiwanese method. In: FAST, AW & JL LESTER (Eds.). *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, Chap 7: 193-215.
- MAZOTTO, J, FG VILANI, L VINATEA & ER ANDREATTA. 2000. Efeito da densidade de estocagem e da temperatura na sobrevivência de larvas de *Litopenaeus vannamei* durante a metamorfose de náuplio para protozoa I. *Anais Aqüicultura Brasil 2000*, XI Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, Florianópolis, SC, Brasil. CD-ROM.
- OLIN, PG & AW FAST. 1992. Penaeid PL harvest, transport, acclimation and stocking. In: FAST, AW & JL LESTER (Eds.). *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, Chap 12: 301-320.
- PÉREZ-FARFANTE, I & B KENSLEY. 1997. Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World: Keys and Diagnosis for the Families and Genera. *Memories du Museum National D'Historie Naturelle*, Paris, 175: 1-233.
- PRESTON, N. 1985. The effects of temperature and salinity on survival and growth of larval *Penaeus plebejus*, *Metapenaeus macleayi* and *M.bennettiae*. In: ROTH LISBERG, PC, BJ HILL & DJ STAPLES (Eds.). *Second Australian National Prawn Seminar (NPS2)*, Cleveland, Australia, pp.31-40.
- RAO, KR. 1985. Pigmentary Effectors. In: BLISS, DE & LH MANTEL (Eds.). *The Biology of Crustacea*, vol. 9, Integument, Pigments and Hormonal Processes, pp.395-462.
- ROBERTS, MHJ. 1971. Larval development of *Pagurus longicarpus* (Say) reared in the laboratory - II. Effects of reduced salinity on larval development. *Biol. Bull.*, 140 (1): 104-116.
- SMITH, DC. 1930. The effects of temperature changes upon the chromatophores of crustaceans. *Biol. Bull.*, 58: 193-202.
- STEEL, RD & JH TORRIE. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*. 2ª edição, Mc Graw-Hill, USA, 633p.
- SUÁREZ, JA & RF BADOR. 1998. *Penaeus vannamei* nauplii and postlarvae quality control: some elements for the evolution from subjective to objective criteria. *Anais do Aqüicultura Brasil'98*, vol. 2, Recife, PE, Brasil, pp. 279-287.
- TREECE, GD. 2000. Shrimp maturation and spawning. *UJNR Technical Report*, 28: 121-134.
- VIJAYAN, KK & AD DIWAN. 1995. Influence of temperatura, salinity, pH and light on molting and growth in the Indian white prawn *Penaeus indicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) under laboratory conditions. *Asian Fish. Sci.*, 8: 63-72.
- VILLAMAR, DF, AL LAWRENCE & W NEILL. 1988. Temperature and salinity effects on metamorphosis and survival of *Penaeus stylirostris* nauplii. *J. World Aquac. Soc.*, 19 (1): 72A.
- ZACHARIA, S & VS KAKATI. 2004. Optimal salinity and temperature for early developmental stages of *Penaeus merguensis* De man. *Aquaculture*, 232: 373-382.

Submetido – 08/11/2009

Aceito – 05/02/2011