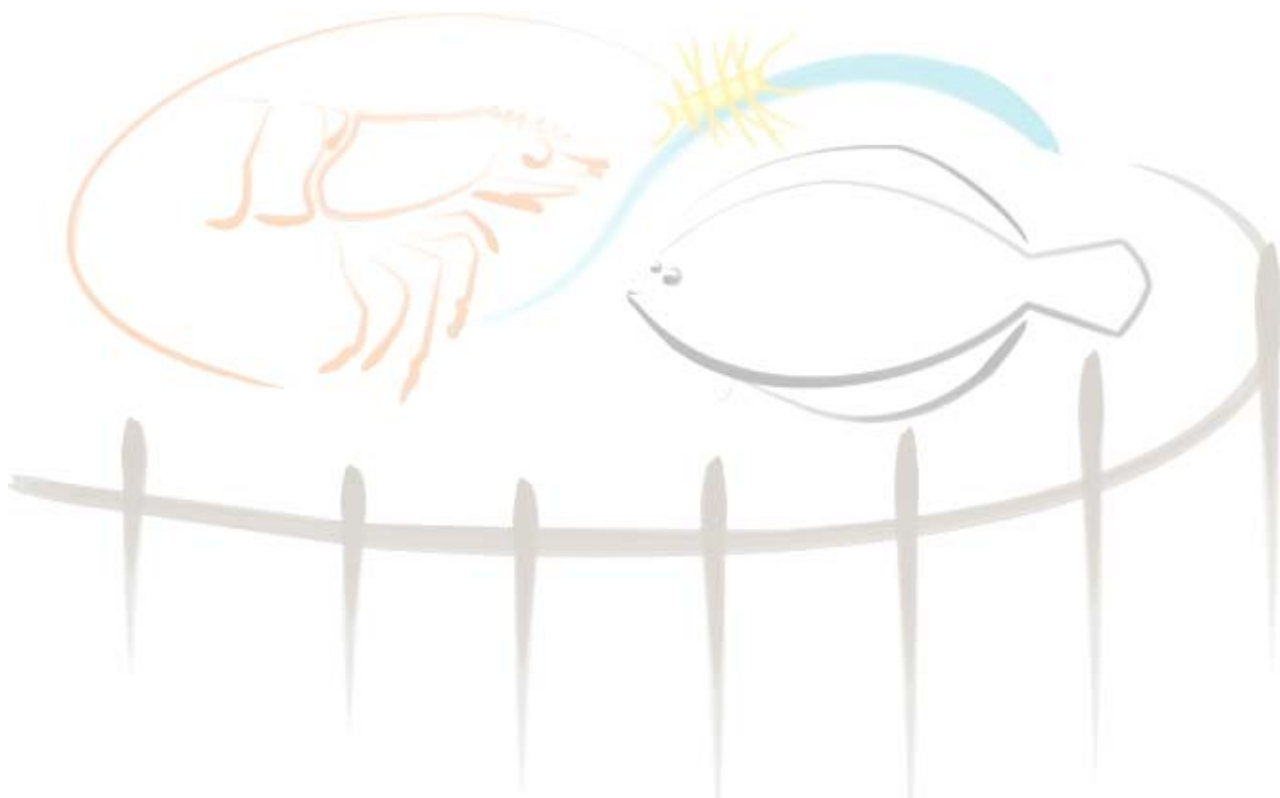




FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



***EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS NA
SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO, MORFOLOGIA
E TOLERÂNCIA AO ESTRESSE DE PÓS-LARVAS
DE *Farfantepenaeus paulensis****

TATIANA GERMANO MARTINS MACHADO

**FURG
RIO GRANDE, RS
2004**

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS NA SOBREVIVÊNCIA,
CRESCIMENTO, MORFOLOGIA E TOLERÂNCIA AO ESTRESSE
DE PÓS-LARVAS DE *Farfantepenaeus paulensis*

TATIANA GERMANO MARTINS MACHADO

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Aqüicultura no Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura da Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo O. Cavalli

Co-Orientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Jr

Rio Grande, RS, Brasil

Maio, 2004

ATA

ÍNDICE

Dedicatória.....	v
Agradecimentos.....	vi
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
1- Introdução.....	01
1.1- Estudos com <i>Farfantepenaeus paulensis</i>	04
1.2- Aspectos Nutricionais.....	06
1.3- Enriquecimento de <i>Artemia</i>	09
1.4- Avaliação da Qualidade Larval e Pós-larval.....	12
2- Objetivo.....	17
3- Material e Métodos.....	18
3.1- Local do Estudo.....	18
3.2- Origem das Larvas.....	18
3.3- Sistema experimental e qualidade de água.....	18
3.4- Delineamento e manejo experimental.....	20
3.5- Testes de Estresse.....	21
3.5.1- Teste de Estresse à salinidade.....	21
3.5.2- Teste de Estresse à temperatura.....	22
3.5.3- Teste de Toxicidade à amônia.....	22
3.6- Determinação do perfil de ácidos graxos.....	23
3.7- Análises Morfológicas.....	24
3.8- Análise Estatística.....	24
4- Resultados.....	25
5- Discussão.....	32
6- Referências Bibliográficas.....	40

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho
a meu avô Luís e a meu
marido Jean Pierre

AGRADECIMENTOS

A meu orientador Ronaldo O. Cavalli por ter aceitado orientar-me neste trabalho, por sua excelente orientação e amizade ao longo do período da realização deste trabalho.

A meu co-orientador Wilson Wasielesky Júnior por ter sempre apostado em meu potencial, desde minha primeira entrada nas portas da EMA, obrigado.

A toda família EMA: Luciano, Dariano, Lisandra (fitogirl), Ângela, Leonardo (Meio Kilo), Eduardo, Gustavo (Baila), Tito, Artur, Silvio (Guga), Roberta, Luís (Mineiro), Augusto, Aline, Linamara, Enilda, Hermes, Gilnei (Santa Casa), Sandro, Sampaio, Maçada, Robaldo, Luis, Marcelo, Mauren, Andréa, Emeline, Ricardo, Carioca, Lisiane, Diana e Érica os quais tive o prazer de conviver e participar do dia-a-dia do laboratório.

Ao professor Dr. Danilo Koetz de Calazans pelas longas tardes de convivência em seu laboratório, amizade e sugestões para melhoria deste trabalho.

Ao professor Dr. José Guilherme Bersano Jr., pelas conversas no corredor da EMA e pelas sugestões para melhoria deste trabalho.

A Dr. Ricardo Cavalcanti Martino pelas agradáveis jornadas até seu laboratório, pelo bom convívio durante os dias em que passei no Rio de Janeiro realizando as análises deste trabalho, além das sugestões para melhoria do trabalho .

A minha grande família, meus amados pais e irmãos, avó Laura, sogros e cunhados, por terem sempre apoiado minhas buscas profissionais, sempre com carinho e confiança.

A minha grande amiga Vivian pelas longas conversas, companheirismo e horas de relaxe.

A meu marido Jean Pierre pelos anos de convivência, compreensão e grande apoio na busca desta realização.

Ao Colegiado e colegas do Curso de Mestrado em Aqüicultura.

À FAPERGS e a CAPES pelo auxílio financeiro via projeto de pesquisa e concessão da bolsa de estudo, respectivamente, concedidas durante a realização desta dissertação.

RESUMO

Alguns estudos sugerem que a suplementação de ácidos graxos altamente poliinsaturados da família n-3 (n-3 AGAI) poderiam aumentar a sobrevivência, o crescimento e a tolerância ao estresse em animais aquáticos. Neste trabalho, avaliamos os efeitos do enriquecimento de *Artemia franciscana* (GSL, EUA) com emulsões contendo diferentes perfis de ácidos graxos no desempenho da larvicultura, desenvolvimento morfológico e tolerância à salinidade, temperatura e amônia total (N-AT) de pós-larvas do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). Larvas no estágio de mysis I foram cultivadas numa densidade inicial de 60 indivíduos/L em tanques de 40L até a idade de pós-larva 10 (PL10). Grupos de camarões foram alimentados exclusivamente com uma das seguintes dietas: (1) náuplios recém-eclodidos de *Artemia*; (2) náuplios enriquecidos com emulsão a base de ácidos graxos saturados (AGS) (emulsão ICES 0/-/C); e (3) náuplios enriquecidos com emulsão (ICES 50/0,6/C) contendo 50% de ácidos graxos altamente insaturados (n-3 HUFA). Náuplios recém-eclodidos foram enriquecidos por 24hs com duas doses de 0,3 g de emulsão/L adicionada a cada 12hs. A alimentação das larvas foi realizada diariamente às 10:00 e 22:00hs. Ao alcançar a idade de PL10, estimaram-se a sobrevivência, comprimento total (CT; da extremidade do rostro até a extremidade do telson), índice de desenvolvimento e a morfologia das pós-larvas (conformação da posição central do telson, número de cerdas no quinto somito abdominal, número de espinhos dorso-rostrais e número de cerdas do telson). As tolerâncias à salinidade, temperatura e amônia foram avaliadas pela exposição de PL10 à salinidade 10 por 1h, 16-17 °C por 1h e níveis crescentes de amônia total (0, 15, 30, 45, 60 e 90 mg/L de N-AT) por 24hs, respectivamente. As tolerâncias à salinidade e temperatura foram expressas através do índice de estresse acumulado (IEA; somatório das mortalidades acumuladas por 1h), enquanto a tolerância à amônia foi estimada através da concentração média letal para 50% da população (CL50). Todos os resultados foram submetidos a ANOVA e ao teste Tukey's ($\alpha=0,05$), com exceção dos valores de CL50, os quais foram comparados graficamente. As taxas de sobrevivência de PL1 e PL10 alimentadas com meta-náuplios de *Artemia* enriquecidos com HUFA foram significativamente maiores do que nos outros tratamentos.

O comprimento total das PL1 não foi significativamente diferente, mas as PL10 alimentadas com náuplios recém-eclodidos foram significativamente maiores. Não foram encontradas diferenças significativas em termos de taxa de metamorfose e tolerância à salinidade e temperatura. A conformação da posição central do telson e no número de cerdas no quinto somito abdominal foram significativamente diferentes, o que não ocorreu para o número de espinhos dorso-rostrais e o de cerdas do telson. As PL10 alimentadas com meta-náuplios de *Artemia* enriquecidos com HUFA apresentaram maior tolerância à amônia. Esses resultados sugerem que alimentação de larvas e pós-larvas de *F. paulensis* com meta-náuplios de *Artemia* enriquecidos com HUFA aumenta sua sobrevivência e tolerância à amônia total, o que pode ser vantajoso sob condições adversas de cultivo.

ABSTRACT

Dietary supplementation of n-3 highly unsaturated fatty acids (n-3 HUFA) is thought to increase survival, growth and stress tolerance of aquatic animals. In this study, we assessed whether or not the enrichment of *Artemia franciscana* (GSL strain, USA) with emulsions containing different fatty acid profiles would affect larviculture output, postlarval morphology and tolerance to salinity, temperature and total ammonia (TAN) of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). Mysis I larvae were reared in 40 L tanks at an initial density of 60/L. Up to postlarvae 10 (PL10), three replicate groups of shrimp were fed solely one of the following diets: (1) freshly hatched *Artemia* nauplii; (2) *Artemia* meta-nauplii enriched with a saturated fatty acid (AGS) emulsion (ICES enrichment emulsion 0/-/C); and (3) *Artemia* meta-nauplii enriched with an emulsion containing 50% HUFA (ICES emulsion 50/0.6/C). Freshly hatched *Artemia* nauplii were enriched for 24h with two doses of 0.3g emulsion/L added at 12h intervals. Larval feeding was carried out daily at 10:00 and 22:00h. Survival, total length (TL; from the tip of rostrum to the tip of the telson), development index and analysis of postlarval morphology were estimated. Tolerance to salinity, temperature and ammonia was assessed by exposing PL10 to 10‰ salinity for 1h, 16-17°C for 1h and increasing total ammonia levels (0, 15, 30, 45 60 and 90 mg/L TAN) for 24 h, respectively. Tolerance to salinity and temperature were expressed as cumulative stress indexes (CSI; sum of cumulative mortalities over 1h), while tolerance to ammonia was estimated as the median lethal concentration for 50% of the population (LC₅₀). All data were subjected to ANOVA and Tukey's test, except LC₅₀ values, which were compared graphically. Survival of shrimp fed n-3 HUFA enriched *Artemia* was significantly higher than in the other treatments. TL of PL1 were not significantly different, but PL10 fed *Artemia* nauplii were significantly longer. No differences were found in terms of development index and tolerance to salinity and temperature. Differences in the central position of the telson and in the number setae in the 5th abdominal somit were found, while no differences in terms of number of dorsal rostral teeth and number of setae in the telson were observed. PL10 fed HUFA enriched *Artemia* presented a higher tolerance to ammonia. These results suggest that feeding HUFA-

enriched *Artemia* meta-nauplii to *F. paulensis* larvae increases their survival rate and tolerance to total ammonia, which may be advantageous under adverse rearing conditions

1- INTRODUÇÃO

As atividades de pesca e aquicultura contribuem como importantes fontes de recursos, alimentos e empregos no mundo. Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação - FAO (2002), ao final da década de 90 estas atividades somadas foram responsáveis pela produção de cerca de 120 milhões de toneladas de organismos aquáticos por ano. A produção pesqueira tem se mantido estável nos últimos anos, enquanto a produção relacionada à aquicultura tem tido crescente ascensão. A estabilização dos valores referentes à captura de organismos aquáticos segue os padrões observados na maioria das áreas pesqueiras mundiais, onde o potencial alcançou aparentemente seu rendimento máximo sustentável. Dentre os fatores que contribuem para esta tendência podemos citar a sobrepesca sofrida por alguns estoques de espécies importantes, efeitos ambientais como o fenômeno El Niño e a degradação ambiental (FAO, 2002).

A aquicultura é definida como sendo o “cultivo de organismos aquáticos, incluindo peixes, moluscos, crustáceos, anfíbios e plantas aquáticas” (Bardach *et al.*, 1972), e implica na intervenção do homem no processo de criação para aumentar a produção em operações como reprodução, estocagem, alimentação e proteção contra predadores (FAO, 2002). A contribuição da aquicultura ao fornecimento mundial de peixes, crustáceos e moluscos continua crescendo, passando de 3,9 % de produção total em peso em 1970 a 27,3 % em 2000, sendo esta atividade a de maior crescimento entre os setores de produção de alimento de origem animal (FAO, 2002). Segundo dados recentes da FAO (2002), a produção total da aquicultura (incluindo plantas aquáticas) foi de 45,7 milhões de toneladas em peso e um valor de US\$ 56, 5 bilhões de dólares.

Em 2000, mais da metade da produção da aquicultura mundial foi em águas costeiras marinhas e salobras. Em águas salobras predominam os crustáceos e peixes de elevado valor, enquanto que em águas marinhas são produzidos, sobretudo moluscos e plantas aquáticas (FAO, 2002). Entre os vários segmentos da aquicultura, a carcinicultura marinha apresenta excepcional crescimento. Segundo a FAO (2002), o camarão é a principal mercadoria em termos de valor econômico, representando cerca de 20 % do valor total de produtos de pesca comercializados.

O rápido crescimento mundial do cultivo de camarão marinho nas últimas duas décadas, notadamente nos países costeiros tropicais da Ásia e das Américas. Este teve e continua tendo por sustentação a crescente demanda do produto no mercado internacional, o atrativo nível de rentabilidade do agronegócio e a capacidade de gerar renda, emprego e divisas para o desenvolvimento dos países produtores (ABCC, 2004). Em vista disso, a produção mundial de camarão cultivado cresceu de cerca 215.000 toneladas em 1985 para 865.000 toneladas em 2000, representando 43% do total produzido em todo mundo (cerca de 2 milhões de toneladas) (ABCC, 2003). No ano de 2001, a produção mundial de camarão cultivado chegou a 1,1 milhões de toneladas, ou seja, 30% do volume total registrado em todo o mundo (FAO, 2002). Além disso, tem-se registrado o declínio da produção de camarão por captura o que também contribui para a ascensão do produto cultivado (ABCC, 2003).

Os países do oriente são responsáveis pela maior parte da produção de camarão cultivado no mundo, sendo os principais produtores China, Tailândia, Índia, Indonésia e Bangladesh. A produção nestes países, no ano de 2000, chegou a 750.000 toneladas, mantendo 87% do total mundial, enquanto a produção dos países do ocidente chegou a 115.000 (ABCC, 2003).

No Brasil, essa atividade foi iniciada no final da década de 70 com a introdução das espécies exóticas *Marsupenaeus japonicus* e *Penaeus monodon*. Estas não atingiram o sucesso esperado, o que fez com que os interesses se voltassem para espécies nativas mais adaptadas ao clima e condições locais, tais como *Farfantepenaeus subtilis*, *Litopenaeus schmitti*, *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis*. Entretanto, foi somente na década de 80 que a atividade começou a adquirir caráter técnico-empresarial, com a introdução da espécie exótica *Litopenaeus vannamei* (Rocha *et al.*, 1989).

As improvisações praticadas até então começaram a ceder lugar ao profissionalismo e o planejamento estratégico, fundamentados em novas tecnologias, que vem sendo adotadas como a principal ferramenta dos novos empreendimentos (Maia, 1993).

A carcinicultura brasileira está atualmente passando por um momento de consolidação, através de *L. vannamei*, processo esse considerado decisivo para alcançar o estágio de desenvolvimento da atividade (Rocha *et al.*, 1997).

A produção de camarões marinhos no Brasil vem crescendo exponencialmente. Em 1997 foi de apenas 3.600 toneladas e chegando a 90.000 toneladas em 2003 (Rocha *et al.*, 1989; ABCC, 2003).

Vários fatores têm estimulado o desenvolvimento de cultivos de *L. vannamei* no país: o aumento do consumo doméstico de camarões; a atual proibição de importação de crustáceos imposta pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento; a instalação de um grande número de laboratórios para a produção de pós-larvas no país; a instalação de novas fábricas de ração, especializadas na elaboração de dietas específicas para esta espécie; e a aplicação de técnicas mais modernas e eficientes de manejo, que permitem a obtenção de níveis de produtividade que, em alguns casos, supera a marca de 4.000 kg/ha/ciclo (ABCC, 2004).

A região nordeste é a maior produtora de camarão marinho no país, principalmente devido ao clima quente que possibilita o cultivo durante o ano inteiro. A produtividade média nesta região é de cerca de 4.700 Kg/ha/ano, o que demonstra o uso de tecnologia avançada no setor e que envolve o controle de todas as fases da produção, desde a produção das pós-larvas, passando pela utilização de tanques de berçário até o manejo dos viveiros de engorda (Roubach *et al.*, 2003).

Na região sul, durante anos o cultivo de camarões marinhos esteve direcionado para espécies nativas, principalmente devido à tolerância a baixas temperaturas. As principais restrições que limitaram a produção das espécies nativas estavam relacionada com a falta de alimentos que atendessem suas exigências nutricionais, além de falta de um pacote tecnológico completo capaz de garantir a viabilidade econômica da produção (Roubach *et al.*, 2003).

Dentro deste contexto, o Projeto Camarão, sob coordenação do Laboratório de Maricultura (Departamento de Oceanografia – FURG), se dedica há dez anos ao desenvolvimento de um pacote tecnológico para cultivo sustentável do camarão-rosa *F. paulensis* em estruturas alternativas (gaiolas e cercados) no estuário da Lagoa dos Patos.

1-1 – Estudos com *Farfantepenaeus paulensis*

Entre os peneídeos que apresentam potencial para ser cultivado na região sul do país, destaca-se o camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). Esta espécie se distribui ao longo da plataforma continental brasileira a partir de Ilhéus (Bahia) (14°50'S), estendendo-se pela plataforma do Uruguai até Mar del Plata na Argentina (38°30'S) (D'Incao, 1999). Seu ciclo de vida é caracterizado por apresentar adultos e juvenis ocorrendo em áreas distintas, em mar aberto e em estuários, respectivamente (D'Incao, 1999). A espécie em estudo é tolerante às baixas temperaturas (Pérez-Farfante, 1969), crescendo em temperaturas ao redor de 15°C, o que se encontra abaixo do nível considerado ótimo para a maioria dos camarões peneídeos. Por essa razão, esta espécie de camarão tem sido cultivada por quase 20 anos no sul do Brasil.

Os estudos que permitiram que *F. paulensis* fosse cultivada começaram com Lara & Mackay (1974), que obtiveram a primeira desova em cativeiro a partir de fêmeas maduras capturadas em alto mar. Iwai (1978) descreveu o desenvolvimento larval e pós-larval. Marchiori (1982), utilizando técnicas de indução a maturação gonadal, obteve as primeiras desovas viáveis em cativeiro. A partir de então, diversos estudos têm sido realizados visando o controle das diversas etapas do ciclo de vida da espécie e dos fatores interferentes. Marchiori & Boff (1983) obtiveram sucesso na maturação de reprodutores, desova e larvicultura. O efeito da densidade de estocagem e alimentação de reprodutores na produção larval foi verificado por Beltrame *et al.* (1986) e Muedas & Beltrame (1991), respectivamente. Marchiori & Cavalli (1993) realizaram estudos em maturação. Cavalli *et al.* (1995) verificaram o efeito da salinidade, temperatura, luminosidade e origem dos reprodutores na eclosão das larvas. Cavalli *et al.* (1997) estudaram a performance reprodutiva da espécie. Boff & Marchiori (1984) e Soares (1996) estudaram o efeito da temperatura no desenvolvimento da espécie. Andreatta *et al.* (1987) realizaram estudos utilizando dietas artificiais na alimentação de larvas e pós-larvas. Ostrensky (1991), Ostrensky *et al.* (1992) e Cavalli *et al.* (1996) desenvolveram estudos sobre a toxicidade dos produtos nitrogenados na sobrevivência de diferentes fases da vida. Speck *et al.* (1993) e Sánchez *et al.* (1996) analisaram o efeito da densidade de estocagem de pós-larvas.

Tsuzuki *et al.* (2000) estudaram os efeitos da salinidade e da temperatura na sobrevivência e crescimento de pós-larvas. Wasielesky *et al.* (1995) e Dolci *et al.* (1996) pesquisaram a viabilidade da utilização de estruturas alternativas (gaiolas e cercados) no cultivo desta espécie no estuário da Lagoa dos Patos. Wasielesky *et al.* (1995; 1999) estudaram a sobrevivência e o crescimento utilizando estruturas de cultivo alternativas (gaiolas e cercados). Peixoto *et al.* (2003) compararam o desempenho de *F. paulensis* e *L. vannamei* cultivados em viveiros no sul do Brasil.

No laboratório de Maricultura da FURG, a produção de larvas de *F. paulensis* é iniciada com reprodutores (fêmeas e machos) capturados no litoral de Santa Catarina e trazidos para o laboratório, onde as fêmeas são induzidas à maturação através da ablação unilateral do pedúnculo ocular (segundo técnica sugerida por Marchiori, 1996) e da manipulação de fatores ambientais (fotoperíodo de 14 C / 10 E, temperatura da água de 26-27° C e salinidade acima de 30) e nutricionais. A alimentação é variada e composta por camarão barba-ruça (*Artemesia longinaris*), siri-azul (*Callinectes sapidus*), lula (*Illex sp.*), mexilhões (*Perna perna*), peixes (Scianídeos em sua maioria) e ração específica para maturação fornecidos de 4 a 5 vezes ao dia. As fêmeas maduras são transferidas para tanques plásticos (180 L), onde após a desova os ovos são avaliados em relação à quantidade e qualidade. Uma vez verificada a viabilidade dos ovos, os mesmos são coletados, tratados contra fungos e bactérias com banhos de formalina 100 ppm e iodo 20 ppm e, depois de lavados com água marinha, são transferidos para incubadoras de fibra de vidro cilíndrico-cônicas (60L). Os primeiros náuplios (N) eclodem cerca de 15-18 h após a desova. Após sucessivos estádios (NI, NII, NIII, NIV, NV e NVI) com duração total de 72 h, as larvas são expostas a uma fonte luminosa e, quando atraídas por este estímulo, refletem a sua boa condição e ficam dispostas próxima à superfície d'água. Após aproximadamente 30 min, os náuplios são coletados e transferidos para os tanques de larvicultura. A fase ontogenética seguinte, a protozoé (PZ), está dividida em 3 estádios (PZI, PZII e PZIII). Protozoé é considerada uma fase crítica na larvicultura, pois cessam as reservas endógenas e as larvas passam a depender da alimentação exógena. Durante esta fase são fornecidos como alimentos diferentes espécies de microalgas planctônicas (*Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira fluviatilis* e *Tetraselmis tetrathele*) em diferentes concentrações, que são

obtidas de culturas realizadas no próprio laboratório, além de ração comercial de acordo com o estágio de desenvolvimento. As concentrações de microalgas são monitoradas duas vezes ao dia para a manutenção de níveis ótimos para as larvas. Geralmente, após 96 horas a 26°C, atingem a fase de mísis (*M*). Esta está dividida em 3 estádios (MI, MII e MIII), quando são fornecidos náuplios congelados (em MI e MII) e vivos (em MIII) de *Artemia franciscana*, além de microalgas e ração comercial. Após essa fase, o camarão atinge a fase de pós-larva (*PL*) ou Megalopa. O desenvolvimento da natação é transferido para os pléopodos já funcionais e se inicia o processo de mudança de hábito planctônico para bentônico, onde os organismos passam a repousar, agarrar-se ou deslocar sobre superfícies utilizando os pereiópodos bem formados. A alimentação nessa fase é composta por náuplios recém-eclodidos de *Artemia*, ração comercial e dieta mista de microalgas fitoplânctônicas. A nomenclatura utilizada no presente trabalho para a descrição das fases e estádios larvais segue Gurney (1942).

1-2 – Aspectos Nutricionais

A falta de conhecimentos sobre a nutrição de *F. paulensis* tem sido indicada como um dos principais obstáculos no desenvolvimento de cultivos desta espécie (Cerqueira & Beltrame, 1989; Lemos *et al.* 2000). Um dos principais problemas no cultivo de larvas de camarões peneídeos é a alimentação. Na natureza, a alimentação consiste de larga variedade e abundância de organismos fitoplanctônicos e zooplanctônicos, além de uma grande diversidade de tamanhos e composições bioquímicas, o que aumentam as chances de que os requerimentos nutricionais das larvas de camarões sejam supridos (Léger & Sorgeloos 1992).

O desenvolvimento pelágico das larvas de crustáceos envolve uma seqüência de períodos de mudas e intermudas e a alimentação parece ser determinante para o sucesso desse processo (Anger & Dawirs, 1981). O desenvolvimento e metamorfose larval dependem da utilização eficiente de reservas de energia, especialmente lipídeos (Oullet *et al.*, 1992).

Os lipídeos constituem uma importante classe de nutrientes, por serem fornecedores de energia metabólica e por conterem altos valores de energia bruta (9,5 kcal/g). Além disso, os lipídeos são fontes de ácidos graxos essenciais, são os principais componentes das membranas celulares, agem como percussores de hormônios esteróides, atuam na osmorregulação, servem de carreadores biológicos para absorção de vitaminas A, E e K, além de serem precursores da vitamina D e ácidos biliares (Tacon, 1987; Léger & Sorgeloos 1992).

Pesquisas em nutrição de peixes, crustáceos peneídeos e moluscos demonstram que os ácidos graxos podem ser transferidos pela cadeia alimentar desde as microalgas, passando pelo zooplâncton e por fim chegando as larvas, podendo satisfazer as exigências nutricionais específicas para cada grupo desses organismos, conforme seu habitat e fase de desenvolvimento (Brett *et al.*, 1997).

Os triacilgliceróis (triglicerídeos) e seus constituintes ácidos graxos são importantes nutrientes para crustáceos. A maior parte dos ácidos graxos de ocorrência natural contém um simples grupamento -COOH e uma cadeia de carbonos sem ramificações, as quais podem não conter ligações duplas (ácidos graxos saturados), uma simples ligação dupla (ácidos graxos mono-insaturados), ou mais do que uma ligação dupla (ácidos graxos poliinsaturados; PUFA) (Tacon, 1987).

As estruturas dos ácidos graxos são geralmente expressas pelo número de átomos de carbonos (16, 18, 20 ou 22), números de ligações duplas (0, 1n, 2n, 3n, 4n, 5n ou 6n) e pela posição da primeira ligação dupla contendo o grupamento metílico (CH₃) no final da molécula. O número e a posição das ligações duplas determinam as propriedades físicas e químicas dos ácidos graxos.

A nutrição de ácidos graxos para os crustáceos é única e pode ser agrupada de acordo como segue (Tacon, 1987):

- a) ácidos graxos que podem ser sintetizados *de novo* a partir do acetato sendo denominados ácidos graxos não-essenciais. Crustáceos e outros animais aparentemente possuem um sistema enzimático Δ -9-desaturase que os permitem converter ácidos graxos saturados em formas mono-insaturadas que contém uma

ligação dupla. Os principais ácidos graxos saturados são os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0), araquídico (20:0) e oléico (18:1n-9).

b) ácidos graxos essenciais (AGE) compostos pelo ácido linoléico (18: 2n-6; LA) e ácido linolênico (18:3n-3; LNA), fazem parte das séries dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA). Crustáceos e peixes marinhos são incapazes de sintetizar *de novo* esses ácidos graxos (Tacon, 1987; Léger & Sorgeloos 1992; D' Abramo, 1997).

c) ácidos graxos altamente insaturados (HUFA, do inglês “highly unsaturated fatty acids”) também são compostos da série dos ácidos linoléico e linolênico, mas com uma cadeia com 20 ou 22 átomos de carbonos e com mais de 3 ligações duplas. Esses ácidos podem ser biosintetizados a partir do ácido linoléico e ácido linolênico (AGE). Os principais são o ácido araquidônico (20:4n-6; AA), ácido eicosapentaenóico (20:5n-3; EPA) e ácido docosahexaenóico (22:6n-3; DHA), que são óleos fluidos em temperatura ambiente (Sargent *et al.*, 1990).

Os camarões peneídeos, por serem incapazes de sintetizar *de novo* os ácidos graxos das séries n-3 e n-6, e de terem uma baixa taxa de biosíntese de fosfolípidos, necessitam que esses nutrientes sejam suplementados nas dietas (Tacon, 1987).

As espécies de água doce e marinhas diferem em relação a capacidade sintetizar *de novo* os ácidos graxos das séries n-3 e n-6 e isso tem sido atribuído a possível deficiência ou a incapacidade da enzima Δ -5- desaturase em espécies marinhas, em consequência da incapacidade da conversão necessária (Sargent *et al.*, 1989). O EPA e DHA são derivados dos ácidos graxos linolênico através dos processos de desaturação e alongação de cadeia de carbonos com presença de três enzimas (Δ - 6,5,4, desaturase) e a adição de duas unidades de carbonos.

Os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) tem sido considerados críticos na manutenção de altas taxas de sobrevivência, crescimento, reprodução e baixa conversão alimentar para uma ampla variedade de espécies de organismos marinhos e de água doce (Brett *et al.*, 1997).

Os HUFA são preferencialmente incorporados e conservados na porção dos lípidos polares dos tecidos dos crustáceos (D'Abramo & Sheen, 1993). O EPA e DHA são

componentes essenciais na formação de membranas celulares e na osmorregulação, além de atuarem na síntese de prostaglandinas e ativarem o sistema imunológico (Léger & Sorgeloos 1992). Ao serem incorporados no interior das membranas celulares, estes ácidos graxos influenciam na permeabilidade das mesmas, agindo nas funções de receptor, na atividade enzimática e na produção de eicosanóides (Meydani, 2000).

1-3 – Enriquecimento de *Artemia*

Os náuplios de *Artemia* spp. são os organismos zooplanctônicos mais utilizados como alimento vivo no cultivo de larvas de organismos aquáticos (Léger *et al.*, 1986). Embora hoje em dia seja amplamente conhecida, sua utilização começou somente na década de 1930. Devido à ampla aceitação pelas larvas, facilidade de estocagem por longos períodos, e a rápida obtenção de náuplios a partir dos cistos dormentes, este organismo se tornou um dos mais importantes da aquicultura (Sorgeloos *et al.*, 1998).

Esses organismos passaram então a ter destaque comercial, o que resultou na necessidade de estudar seu valor nutricional. Os primeiros estudos indicaram uma enorme variação na composição nutricional de cistos de diferentes regiões geográficas. Entretanto, posteriormente foi possível constatar que o valor nutricional dos cistos variava em função da região de origem dos mesmos, além de existirem diferenças significativas entre estirpes de cistos de uma mesma região (Léger *et al.*, 1986; Lavens & Sorgeloos 1996). Isso poderia ser explicado pela variedade de fontes de alimentos disponíveis para os adultos de *Artemia*, refletindo assim na composição bioquímica dos cistos.

Estudos revelam ainda que o principal fator que afeta o valor nutricional de *Artemia* para larvas de camarões marinhos é o conteúdo do ácido graxo altamente insaturado, EPA (Léger *et al.*, 1986). Outros estudos, porém, detectaram que as concentrações de EPA de uma mesma estirpe de *Artemia* podem apresentar coeficientes de variação de até 78%. Além disso, a maioria das estirpes existentes no mercado apresenta baixos níveis de DHA (Léger *et al.*, 1986; Navarro *et al.*, 1993).

Aproximadamente de seis a oito horas após a eclosão, em temperatura entre 28-30°C, os náuplios de *Artemia* sofrem metamorfose para um segundo estágio larval, chamado metanáuplio (Estádio II). A partir desse estágio, passam a depender de alimento exógeno para sobreviver (Lavens & Sorgeloos, 1996). Os metanáuplios são aproximadamente 50% maiores em tamanho e com natação mais ativa do que organismos no estágio I e, como resultado, são menos aceitos como presas (Sorgeloos *et al.*, 1998).

Por apresentarem hábito alimentar não seletivo, ou seja, capaz de ingerir todo e qualquer material particulado ao seu alcance, a incorporação pela *Artemia* de vários nutrientes torna-se possível. Desta forma, é possível manipular a composição bioquímica, através, por exemplo, da incorporação de lipídeos ricos em ácidos graxos altamente insaturados e vitaminas (especialmente C e E), ficando assim disponíveis para fornecer às larvas de camarões (Lavens & Sorgeloos, 1991; Merchie, 1996). Esta metodologia, chamada de enriquecimento ou bioencapsulação, é aplicada em todo mundo principalmente em laboratórios de produção de larvas de peixes marinhos com o objetivo de adequar a qualidade nutricional da *Artemia* às necessidades daqueles organismos.

Várias metodologias e procedimentos para o enriquecimento de *Artemia* foram desenvolvidos ao longo dos anos (Léger *et al.*, 1986; Merchie, 1996; Watanabe *et al.*, 1983), sendo a maioria baseada no fornecimento de alimentos contendo altos níveis de HUFA, tais como microalgas, fermentos, dietas microencapsuladas, produtos microparticulados ou emulsões de óleos. Os mais altos níveis de enriquecimento com HUFA são obtidos com concentrados auto-emulsificantes, os quais são geralmente compostos por óleos de origem marinha, vitaminas, pigmentos, antioxidantes e emulsificantes. Estes compostos emulsificantes (emulsão) ao serem diluídos em água e processados em liquidificador, formam pequenos glóbulos que podem ser ingeridos pela *Artemia* (Léger *et al.*, 1986). Por facilitar a rotina dos laboratórios e por resultar em níveis mais altos de HUFA, normalmente utiliza-se o enriquecimento com duração de 24 horas. Neste caso, os náuplios recém eclodidos de *Artemia* são transferidos para tanques cilíndro-cônicos, onde são mantidos numa densidade de 100 a 300 indivíduos/mL em água salgada com salinidade 35 previamente filtrada (filtro tipo CUNO, 5µm), desinfetada com cloro

(13%) e neutralizada com tiosulfato de sódio e aeração. A temperatura e o nível de oxigênio dissolvido devem ser mantidos entre 25-28 °C e acima de 5 mg/L, respectivamente. Deve-se também utilizar aeração constante para assegurar uma distribuição homogênea da emulsão durante o enriquecimento. A emulsão enriquecedora é adicionada em duas doses de 0,3 g/L a cada 12 horas. Após 24 horas, os metanúplios são coletados numa malha de 120 µm e lavados em água corrente para diminuir a carga bacteriana e remover possíveis resíduos de emulsão, podendo ser fornecidos às larvas ou mantidos em refrigerador (abaixo de 10 °C) sem perdas significativas de nutrientes, pois os níveis de HUFA permanecem praticamente estáveis (Merchie, 1996).

Em relação ao tamanho, os náuplios recém-eclodidos (Estádio I) apresentam cerca de 450 µm. Nas primeiras 12 horas de enriquecimento, os metanúplios (Estádio II) apresentam cerca de 660 µm e 12 horas após alcançam entre 750 e 800 µm (Merchie, 1996). Essas diferenças de tamanho não são aparentemente tão importantes para as pós-larvas (PL) de camarão, uma vez que elas apresentam capacidade de capturar e dilacerar partículas de alimento com seus apêndices alimentares.

Vários estudos demonstraram a essencialidade dos HUFA em vários momentos do desenvolvimento de peixes e camarões (Tacon, 1987; Sorgeloos & Léger, 1992; D'Abramo, 1997). A maioria destes geralmente resulta em melhores taxas de crescimento, sobrevivência e metamorfose (Sorgeloos *et al.*, 1988). Em larvas do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*, o uso de *Artemia* enriquecida com HUFA resulta em efeitos positivos não somente nas taxas de sobrevivência e crescimento, mas também em uma maior sincronização na metamorfose das larvas de (Devresse *et al.*, 1990). Uma concentração mínima de n-3 HUFA de 35 mg/g fornecida via *Artemia* resultou em níveis significativamente maiores de sobrevivência, crescimento, taxa de metamorfose e resistência ao estresse à salinidade para *M. rosenbergii* (Romdhane *et al.*, 1995). Vários outros estudos têm demonstrado também uma maior tolerância das larvas e PLs alimentadas com *Artemia* enriquecida com HUFA ao estresse causado por fatores ambientais (Tackaert *et al.*, 1989; Rees *et al.*, 1994 b; Kontara *et al.*, 1995; Cavalli *et al.*, 2000). Especificamente com pós-larvas *F. paulensis*, Pontes & Andreatta (2003) não

encontraram vantagens no enriquecimento de *Artemia* com HUFA sobre a sobrevivência, ganho de peso e resistência ao estresse.

1-4 – Avaliação da Qualidade Larval e Pós-larval

Embora não exista um método universalmente aceito para determinar a qualidade de organismos cultivados, muitos critérios têm sido sugeridos para avaliar a qualidade de larvas e pós-larvas. Alguns autores usam observações subjetivas, tais como pigmentação corporal, coloração e atividade, indicadores morfológicos (Bauman & Jamandre, 1990; Villalon, 1991), padrões de desenvolvimento de cromatóforos, deformidades corporais, infestação de fungos e bactérias no corpo dos animais, opacidade muscular (Bauman & Jamandre, 1990; Fegan, 1992) e composição bioquímica (em relação aos ácidos graxos) (Arellano, 1990). O tempo de metamorfose a um determinado estágio, sobrevivência durante o desenvolvimento larval e pós-larval e comprimento das pós-larvas também são sugeridos como critérios para avaliar a qualidade das PLs (Samocha *et al.*, 1989).

O estresse pode ser definido como o conjunto de reações do organismo que pode vir a causar uma disfunção no balanço físico-químico-biológico, através do impacto de um fator ambiental. Isso pode ser expresso através da diminuição no crescimento ou pela ocorrência de uma alta taxa de mortalidade (Dhert *et al.*, 1992a). A combinação de uma boa taxa de sobrevivência com crescimento contínuo indicam a habilidade da dieta em suprir as exigências nutricionais das espécies. Entretanto, isso não garante uma ótima condição fisiológica dos animais, pois muitos são os parâmetros a serem levados em conta na produção de larvas. Supõe-se que animais fracos não tenham a mesma habilidade para sobreviver em ambientes extremos como animais saudáveis. Conseqüentemente, as proporções de sobrevivência refletem a capacidade de resistência dos animais (Dhert *et al.*, 1992b). Sendo assim, testes de estresse agudo usando fatores ambientais como agente estressante têm sido sugeridos para distinguir animais saudáveis de fracos (Tackaert *et al.*, 1989; Bauman & Jamandre, 1990), e são usados em laboratórios comerciais como ferramentas no controle de qualidade das PLs. Provavelmente o primeiro teste para avaliar a qualidade de larvas foi realizado no Japão quando Watanabe *et al.* (1983) mediram a

sobrevivência de larvas do pargo japonês (*Pagrus major*) 24 h após a exposição destas ao ar por 5 segundos. Desde então, vários métodos têm sido propostos, os quais geralmente envolvem a exposição dos animais por um curto período de tempo a fatores de estresse ambiental (salinidade, temperatura, concentrações de amônia, pH, ou formalina) em que suas condições fisiológicas determinarão a habilidade para sobreviver (Tackaert *et al.*, 1989; Briggs, 1992; Dhert *et al.*, 1992a; Fegan, 1992; Ako *et al.*, 1994; Samocha *et al.*, 1998).

Na maioria das vezes os critérios referidos acima são considerados em conjunto e, portanto, utilizados conjuntamente na avaliação da qualidade de PLs. Embora todos sejam usados, nenhum deles é considerado suficientemente sensível ou padronizado para prover uma conclusão e avaliação segura das condições fisiológicas das larvas.

O teste de estresse a salinidade têm sido utilizado como critério para avaliar a qualidade de larvas e pós-larvas em aquicultura. A salinidade pode afetar propriedades funcionais e estruturais dos organismos através das mudanças na osmo-concentração total, proporções relativas de solutos, coeficientes de absorção e saturação de gases dissolvidos e densidade e viscosidade (Kinne, 1964). Tackaert *et al.* (1989) desenvolveram uma metodologia para quantificar o efeito das dietas e também para servir de ferramenta para avaliar a qualidade dos camarões antes de serem transferidos para viveiros de engorda. O teste depende da espécie e do estágio larval, mas de forma geral os camarões peneídeos são testados em água marinha diluída, enquanto camarões de água doce e peixes são testados em água hipersalina. Geralmente os indivíduos são coletados aleatoriamente de tanques de produção e expostos a solução teste em pelo menos três repetições. A partir deste momento as mortes são monitoradas em intervalos constantes de tempo até não serem mais registradas. O valor médio dos tratamentos (obtido após a soma de mortalidades acumuladas em cada intervalo de tempo) é chamado índice de estresse acumulado (IEA) e reflete a resistência ao estresse. Quanto maiores os valores numéricos do índice, maior a sensibilidade das larvas e vice-versa (Dhert *et al.*, 1992b).

A utilização de metanúplios enriquecidos com HUFA resultou no aumento da tolerância ao estresse de salinidade em pós-larvas de *Penaeus monodon* (Sorgeloos & Léger, 1992; Tackaert *et al.*, 1989; Rees *et al.*, 1994a; Kontara *et al.*, 1995) e em larvas do caranguejo *Eriocheir sinensis* (Naihong *et al.*, 1999).

A temperatura é um dos principais fatores limitantes numa grande variedade de processos biológicos, desde a velocidade de simples reações químicas até a distribuição ecológica de espécies animais (Hardy, 1981). Esse fator influencia diretamente a sobrevivência, o desenvolvimento, a taxa de crescimento e o comportamento de larvas de diversas espécies de peixes e crustáceos (Arana, 1997). Vários estudos têm demonstrado que os níveis ótimos de salinidade e temperatura se alteram durante o desenvolvimento dos peneídeos (Charmantier *et al.*, 1988; Tsuzuki *et al.*, 2000). A resposta ao estresse à temperatura também vem sendo utilizada como critério de qualidade e segue metodologia similar aos testes de estresse à salinidade. As sobrevivências são monitoradas em intervalos constantes de tempo até que mortes não são mais registradas. Os valores médios dos tratamentos (obtido após a soma de mortalidades acumuladas) são registrados como índice de estresse acumulado (IEA) e refletem a resistência das larvas ao estresse (Dhert *et al.*, 1992b).

Juvenis de *Litopenaeus stylirostris* alimentados com dietas ricas em HUFA apresentaram um aumento na resistência quando submetidas ao teste de estresse a temperatura (diminuição de 11°C) (Chim *et al.*, 2001).

A amônia é o principal produto final do catabolismo protéico em peixes teleósteos e crustáceos (Campbell, 1973), representando aproximadamente de 70 a 95% do nitrogênio total excretado (Kaushik, 1998). Em solução aquosa a amônia é encontrada como íon (NH_4^+) e a molécula não-ionizada (NH_3), as quais co-existem em um equilíbrio como segue:



Este equilíbrio é governado principalmente pelo pH do meio e, secundariamente, pela temperatura (Armstrong *et al.*, 1978; Tomasso, 1994). Dependendo do deslocamento do equilíbrio será produzida preferencialmente uma das diferentes formas da amônia, a não-ionizada ou gasosa (NH_3), ou a ionizada (NH_4^+) (Armstrong *et al.*, 1978; Colt & Armstrong, 1981). Altos níveis de pH aumentam a concentração de NH_3 em relação a NH_4^+ . A toxicidade da amônia para organismos aquáticos está atribuída principalmente à forma não-ionizada

(NH₃), pois esta é capaz de se difundir livremente através das membranas biológicas, o que não acontece com a forma ionizada (NH₄⁺) (Tomasso, 1994). Muitas disfunções têm sido sugeridas como contribuição ou como principal mecanismo de toxicidade. Essas disfunções incluem danos às brânquias (Smart, 1976), redução do transporte de oxigênio e aumento no consumo de oxigênio pelos tecidos (Colt & Armstrong, 1981) e desequilíbrio de água e sais minerais (Tomasso, 1994). Além disso, se os níveis de amônia aumentam na água, a excreção pelos animais diminui, e os níveis de amônia no sangue e outros tecidos aumentam, podendo resultar em uma elevação do pH do sangue e efeitos adversos na estabilidade das membranas e reações enzima-catalizadora (Tomasso, 1994), o que pode eventualmente levar a morte dos animais. A exposição de peixes e crustáceos a altas concentrações de amônia causa aumento da ventilação branquial, hiperexcitabilidade, convulsões e morte (Maltby, 1995).

Os testes de toxicidade de amônia são uma prática rotineira em estudos de ecotoxicologia, sendo que a sua metodologia é descrita no Standard Methods of Water and Wastewater (Greenberg *et al.*, 1992). Cada teste consiste de pelo menos de cinco concentrações crescentes de amônia e um controle. Geralmente, testes agudos com animais aquáticos requerem que a taxa de sobrevivência do controle seja de 90% ou mais para serem considerados válidos. O número de organismos expostos em cada teste é governado pelo tamanho dos organismos. A precisão do teste depende da variabilidade da resposta dos organismos, número de organismos expostos a cada concentração, número de repetições, diferenças entre concentrações e variação das concentrações testadas (Greenberg *et al.*, 1992). A mortalidade é o efeito adverso mais frequentemente usado para demonstrar a toxicidade aguda. O critério geralmente usado para detectar a morte de crustáceos é a ausência de movimento dos apêndices e a ausência de resposta a estímulos mecânicos. A exposição por 24 hs as diferentes concentrações permite o cálculo da concentração média letal para 50% da população (chamada CL50), concentração essa que leva a morte de 50% da população em 24 hs. Os dados fornecidos pela CL50 mostram a variabilidade dos animais testados. Por essa razão, os intervalos de confiança de 95% ao redor dos valores médios são muito importantes (Greenberg *et al.*, 1992).

Larvas de *M. rosenbergii* alimentadas com metanúplios de *Artemia* enriquecidos simultaneamente com AGAI e ácido ascórbico (AA) apresentaram melhores taxas de metamorfose e crescimento e maior tolerância à exposição à amônia (Cavalli *et al.*, 2000).

2- OBJETIVOS

2.1- OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito dos ácidos graxos na sobrevivência, crescimento, morfologia e tolerância ao estresse de pós-larvas do camarão *Farfantepenaeus paulensis* através do enriquecimento de *Artemia franciscana* com diferentes níveis destes compostos.

2. 2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar os efeitos do enriquecimento de *Artemia franciscana* com diferentes ácidos graxos na sobrevivência, crescimento e morfologia de pós-larvas do camarão *F. paulensis*;
- b) Determinar a tolerância à salinidade, temperatura e amônia de pós-larvas do camarão *F. paulensis* alimentadas com *Artemia franciscana* contendo diferentes ácidos graxos;
- c) Determinar o perfil de ácidos graxos da *Artemia franciscana* enriquecida com diferentes ácidos graxos ou não e nas pós-larvas alimentadas com estes alimentos.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Local do Estudo

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Maricultura, Estação Marinha de Aqüicultura (EMA), do Departamento de Oceanografia, FURG, localizado na cidade do Rio Grande, RS.

3.2 - Origem das larvas

As larvas de *F. paulensis* utilizadas neste estudo foram provenientes de cultivos realizados rotineiramente na EMA-FURG. Reprodutores capturados no litoral de Santa Catarina foram induzidos à reprodução em laboratório seguindo as metodologias descritas por Marchiori & Cavalli (1993) e Marchiori (1996).

As larvas foram mantidas em tanques circulares com capacidade de 12.000 litros, 25-26°C, salinidade de 27 e densidade de 200 náuplios/L. A partir do estágio de protozoé I (PZI), as mesmas começaram a receber alimentação na forma de algas fitoplanctônicas (*Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis* nas densidades de 8×10^4 e 5×10^4 , respectivamente). Atingido o estágio de mÍsis I, as larvas foram transferidas para o sistema experimental.

3.3 – Sistema experimental e qualidade de água

Foram utilizados nove tanques cilindro-cônicos com capacidade de 100 L preenchidos com 40 litros de água marinha (Figura 1). A densidade de estocagem utilizada foi de 60 larvas por litro, num total de 2.400 larvas por tanque. Utilizou-se água do mar filtrada (filtro Cuno 5 µm) com salinidade 27, aquecedores com termostato para manter a água a 26–27°C e aeração constante. A taxa de renovação de água foi de 100% ao dia. O fotoperÍodo foi controlado automaticamente em 14h de luz por dia e a intensidade luminosa

foi de aproximadamente 180 lux (medido com fotômetro Chauvin Arnoux, modelo CA 810).



Figura 1. (a) Tanques cilindro-cônicos utilizados no experimento; (b) cano PVC (3cm de diâmetro e 46cm de altura) perfurado e recoberto com uma tela de náilon com cobertura de malha de 300µm.

Os parâmetros físico-químicos acompanhados durante o experimento foram temperatura, pH, amônia total, nitrito e nitrato. A temperatura e pH foram monitorados diariamente utilizando o pHmetro HandyLab 2BNC Schott (precisão de 0,1°C e 0,01, respectivamente). A cada dois dias foram coletadas amostras de água antes da renovação para análise das concentrações de amônia, nitrito e nitrato, as quais foram determinadas segundo UNESCO (1983), Bendschneider & Robinson (1952) e o kit comercial “nitrat-test 1.11169” da Merck® (Darmstadt, Alemanha), respectivamente. Esse kit permite a determinação de concentrações nos intervalos de 0-10, 10-25, 25-50, 50-75 e de 50-100 miligramas de nitrato por litro.

3.4 – Delineamento e manejo experimental

Três tratamentos experimentais, com três repetições cada, foram criados:

- 1) larvas alimentadas com náuplios recém-eclodidos de *A. franciscana* (NA);
- 2) larvas alimentadas com metanáuplios de *A. franciscana* enriquecidos com uma emulsão a base de ácidos graxos saturados (AGS); e
- 3) larvas alimentadas com metanáuplios de *A. franciscana* enriquecidos com uma emulsão a base de ácidos graxos altamente insaturados (AGAI).

No presente estudo, portanto, os tratamentos experimentais passarão a ser chamados NA, AGS e AGAI, respectivamente. As emulsões usadas neste estudo (ICES 0/-/C e ICES 50/0,6/C) são produzidas de acordo com as especificações do International Council for the Exploration of the Sea – ICES (Copenhague, Dinamarca) e contém 0% e 50% de ácidos graxos altamente insaturados da família n-3, respectivamente (ICES, 1994). Neste estudo somente foram utilizados cistos de *A. franciscana* provenientes do Grande Lago Salgado, EUA.

O enriquecimento da *Artemia* foi executado de acordo com Merchie *et al.* (1995). Duas doses de 0,3 g.L⁻¹ de emulsão foram adicionadas em intervalos de 12 horas. A densidade de náuplios durante o enriquecimento foi de 150 a 200mL⁻¹, sendo estes mantidos em água do mar a 28 ± 1°C e aeração constante. Após 24 horas, os metanáuplios foram coletados numa malha de 120 µm e lavados em água corrente para remover qualquer resíduo de emulsão. Os diferentes tipos de *Artemia* foram oferecidos às larvas duas vezes ao dia (10:00 e 22:00 hs). Para a alimentação à noite, estas foram mantidas a 4°C até a sua utilização (Merchie, 1996). Do estágio de mísis I até pós-larva 10 (pós-larva no 10° dia de desenvolvimento) só foi fornecido *Artemia* como alimento, ou seja, em nenhum momento organismos fitoplanctônicos foram adicionados.

A densidade inicial de *A. franciscana* foi de 2 indivíduos/mL, atingindo 8 indivíduos/mL no final do período experimental, o qual teve duração de 16 dias. Diariamente, antes da renovação da água foi realizada uma contagem por amostragem da

quantidade de alimento restante e, sendo assim, o valor inicial era mantido ou aumentado progressivamente à medida que as larvas se desenvolviam.

Ao atingir o estágio de pós-larva 1 (PL1), estas foram retiradas dos tanques e contadas individualmente para verificar a sobrevivência em cada unidade experimental. Pelo menos 30 indivíduos de cada unidade foram conservados em formaldeído 4% para determinação do comprimento total (medida da extremidade do rostro até a extremidade do telson, CT). Adicionalmente, o índice de desenvolvimento (ID) foi estimado em cada unidade experimental de acordo com Villegas & Kanazawa (1979):

$$ID = \sum A_i / N,$$

onde A_i é o valor absoluto do número de indivíduos em cada estágio, sendo atribuído um valor arbitrário para cada estágio larval (misis I = 10, misis II = 20, misis III = 30 e pós-larva 1 = 40) e N é o número de camarões examinado em cada amostra.

As PL1 restantes foram então recolocadas nas respectivas unidade e mantidas sob as mesmas condições anteriores até atingirem a idade de PL10.

As PL10 de cada unidade experimental foram contadas individualmente para estimar a sobrevivência e pelo menos 30 delas foram conservadas em formaldeído 4 % para determinação do comprimento total (CT). Algumas pós-larvas foram submetidas aos testes de estresse à amônia, salinidade e a temperatura. As PL10 restantes foram mantidas congeladas (-20°C) até serem submetidas à análise de ácidos graxos.

3.5 – Testes de Estresse

3.5.1- Teste de estresse à salinidade

PL10 de cada um dos três tratamentos foram submetidas a um teste de estresse à salinidade, o qual foi realizado com cinco repetições. Grupos de 10 pós-larvas foram transferidos para potes plásticos com capacidade de 200 mL contendo água a 26-27 ° C e salinidade 10. Este valor de salinidade foi definido em estudo realizado previamente em

nosso laboratório e utilizando pós-larvas de *F. paulensis* da mesma idade. O número de indivíduos mortos (sem movimento dos pleópodos e sem reação ao toque com uma pipeta) foi monitorado a intervalos de 10 minutos durante 1 hora. A sensibilidade ao estresse de salinidade foi expresso pelo índice de estresse acumulado (IEA), o qual foi calculado como a soma das mortalidades acumuladas observadas no período do teste (Dhert *et al.*, 1992b).

3.5.2- Teste de estresse à temperatura

A metodologia empregada nos teste de estresse à temperatura é similar à utilizada nos testes de estresse à salinidade. Cinco grupos de 10 PL10 de cada tratamento foram transferidos de 26-27°C para potes plásticos contendo 200 mL de água a 16–17°C e salinidade de 27. O número de indivíduos mortos (conforme definido anteriormente) foram monitorado a intervalos de 10 minutos durante 1 hora. O intervalo de temperatura utilizado neste teste também foi definido em estudo prévio realizado em nosso laboratório. A sensibilidade ao estresse de temperatura foi expresso pelo índice de estresse acumulado, o qual foi calculado como a soma das mortalidades acumuladas observadas no período do teste (Dhert *et al.*, 1992b).

3.5.3- Teste de toxicidade à amônia

O procedimento para o teste de toxicidade a amônia foi baseado na metodologia apresentada por Greenberg *et al.* (1992). Os testes foram realizados com duas repetições em uma série de recipientes plásticos com capacidade de 2 litros. Estes recipientes foram mantidos em banho termostaticado a 26-27°C, com aeração constante e salinidade 27. Grupos de 50 PL10 de cada um dos três tratamentos foram expostos durante 24 hs a cinco concentrações crescentes de amônia total (15, 30, 45, 60, 90 mg/L N-AT; $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$) e um controle (sem adição de amônia). As concentrações de amônia total foram baseadas nos resultados apresentados por Ostrensky & Wasielesky (1995) para esta espécie. Uma solução estoque de amônia foi preparada com o reagente NH_4Cl (P.A.) na concentração de

15.000 ppm de N-AT e adicionada aos recipientes plásticos imediatamente após a estocagem das pós-larvas.

Após 24 hs de exposição, as PL que não apresentaram movimentos dos apêndices e não responderam a estímulos mecânicos foram consideradas mortas. Baseado na taxa de mortalidade, a concentração média letal para 50% da população (CL 50 24-hs) foi estimada com o método Trimmed Spearman Karber (Hamilton *et al.*, 1977).

3.6 – Determinação do perfil de ácidos graxos

Três amostras de náuplios e meta-náuplios de *Artemia* e duas amostras das PL10 de cada tratamento foram lavadas intensamente com água destilada e congeladas a -20° C até a análise. Após descongelamento, as amostras foram lavadas novamente, maceradas e preparadas para análise. Os conteúdos de lipídeos totais foram gravimetricamente medidos após extração com clorofórmio/metanol (2:1,v/v), de acordo com o método de Folch *et al.* (1957). Os ácidos graxos das amostras foram preparados com o conteúdo de lipídeos totais através da saponificação com KOH (50%). Os ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) foram preparados por esterificação com trifluoreto-boro em metanol (7%) de acordo com Metcalfe & Schmitz (1961). Os EMAG foram então separados através de cromatografia gasosa em um cromatógrafo Shimadzu GC-15 A (Shimadzu Corporation, Quioto, Japão) equipado com um detector de chama ionizante (DCI) e uma coluna capilar de sílica Omegawax 320 X 30 m X 0,32 mm (Supelco Inc., Bellefonte, Pennsylvania, EUA). Gás hidrogênio foi usado como o portador de gás a uma taxa de fluxo de 4,0 mL/min. O injetor e o detector de temperatura foram programados para 240°C e 250°C, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada para ser isotérmica a 205°C. Os EMAG foram identificados pelo padrão de referência PUFA n° 3, de óleo de savelha puro (Cód: 4-7085-U; Supelco Inc., Bellefonte, Pennsylvania, EUA) e quantificados usando o modelo integrador Shimadzu C-R4A (Shimadzu Corporation, Quioto, Japão). Essas análises foram realizadas na Unidade de Tecnologia do Pescado da Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro – FIPERJ.

3.7 – Análises Morfológicas

As PL10 de cada unidade experimental que foram conservadas em formaldeído 4% para determinação do comprimento total também foram submetidas à análise para detectar possíveis diferenças morfológicas entre os diferentes tratamentos. Foram analisadas o número de cerdas do quinto somito abdominal, número e posição dos espinhos do telson e número de espinhos rostrais. Para essas análises, as pós-larvas foram observadas ao microscópico Olympus BX -50, sendo suas imagens capturadas e digitalizadas com auxílio de câmera digital Samsung modelo SCC 131. As medidas referentes ao comprimento total (medida da extremidade do rostró até a extremidade do telson, CT), foram feitas com auxílio do software de domínio público Image Tool . Para as análises do número e posição de espinhos do telson, foi realizada a dissecação dos mesmos e suas imagens capturadas como explicadas acima. A análises do número de cerdas do quinto somito abdominal e número de espinhos rostrais foram realizadas através de observação, levando em consideração as descrições de Iwai (1978).

3.8 – Análise Estatística

Os resultados de comprimento total, testes de estresse a temperatura e salinidade, índice de desenvolvimento, número de cerdas do quinto somito abdominal e posição central do telson foram submetidos à análise de variância (ANOVA), levando em consideração as premissas necessárias, ou seja, normalidade, homocedasticidade e independência das variáveis.

Os resultados percentuais (taxas de sobrevivência e as concentrações de ácidos graxos) foram transformados (raiz quadrada do arcoseno) antes de serem submetidas a ANOVA. Os valores referentes ao número de cerdas do telson foram divididos por 100 e transformados pela raiz quadrada do arcoseno antes de serem analisados. Os valores não transformados são apresentados nos resultados. O teste *post-hoc* utilizado foi o de Tukey a um nível de significância de 95%. Comparações entre os valores das CL 50 foram feitas através da sobreposição dos intervalos de confiança de 95% (Greenberg *et al.*, 1992).

4- RESULTADOS

Os parâmetros físico-químicos analisados durante o período experimental constam na Tabela 1. Como é possível observar, a temperatura, salinidade e amônia não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$), enquanto que o pH e o nitrito apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$). As concentrações de nitrato ficaram abaixo da faixa de 50 mg/L e não diferiram entre os tratamentos ($p > 0,05$).

Tabela 1. Médias e erro padrão da temperatura (°C), salinidade, pH, amônia total (mg/L N-AT), nitrito (mg/L N-NO₂) e nitrato (mg/L N-NO₃) durante o período experimental. Letras sobrescritas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$).

	NA	AGS	AGAI	Erro padrão
Temperatura	26,2	26,1	26,0	0,10
pH	8,12 ^b	8,17 ^a	8,18 ^a	0,01
Salinidade	27	27	27	0,00
Amônia	0,58	0,48	0,51	0,06
Nitrito	0,05 ^b	0,04 ^{ab}	0,04 ^a	0,003

As taxas de sobrevivências de PL1 apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo que as larvas alimentadas com *Artemia* enriquecida com AGAI apresentaram taxas de sobrevivência superiores do que os demais tratamentos (Tabela 2). Já na idade de PL10, a sobrevivência no tratamento AGAI foi significativamente superior a AGS, porém não diferiu de NA ($p > 0,05$). Os valores médios obtidos para o comprimento total das PL1 não mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$), mas as PL10 alimentadas com NA foram significativamente ($p < 0,05$) maiores que os demais tratamentos, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2. Médias e erro padrão das taxas de sobrevivência (%) e comprimento total (mm) de PL1 e PL10 de *Farfantepenaeus paulensis* nos diferentes tratamentos. Letras sobrescritas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$).

	NA	AGS	AGAI	Erro padrão
Sobrevivência PL1	88,0 ^b	76,4 ^b	97,7 ^a	2,18
Comprimento total PL1	5,83	5,71	5,93	0,07
Sobrevivência PL10	82,9 ^{ab}	74,8 ^b	88,3 ^a	1,79
Comprimento total PL10	9,19 ^a	8,58 ^b	8,69 ^b	0,07

Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre a taxa de metamorfose dos diferentes tratamentos, estimada pelo Índice de desenvolvimento (ID) (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios e erro padrão do índice de desenvolvimento (ID) de *Farfantepenaeus paulensis* nos diferentes intervalos de tempo (horas) até alcançarem o estágio de pós-larva 1. Não foram detectadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Tempo (horas)	NA	AGS	AGAI	Erro Padrão
48	21,89	20,22	21,89	1,28
72	28,89	29,66	30,89	0,83
78	30,11	29,33	29,67	0,27
96	35,11	34,77	34,22	0,91
104	36,44	37,22	37,22	0,59
120	39,88	39,44	39,77	0,33

A análise morfológica das PL10 indicou que a conformação central do telson (Fig.2) e o número de cerdas do quinto somito abdominal apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), enquanto que o número de espinhos rostrais e o número de cerdas no telson não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) (Tabela 4).

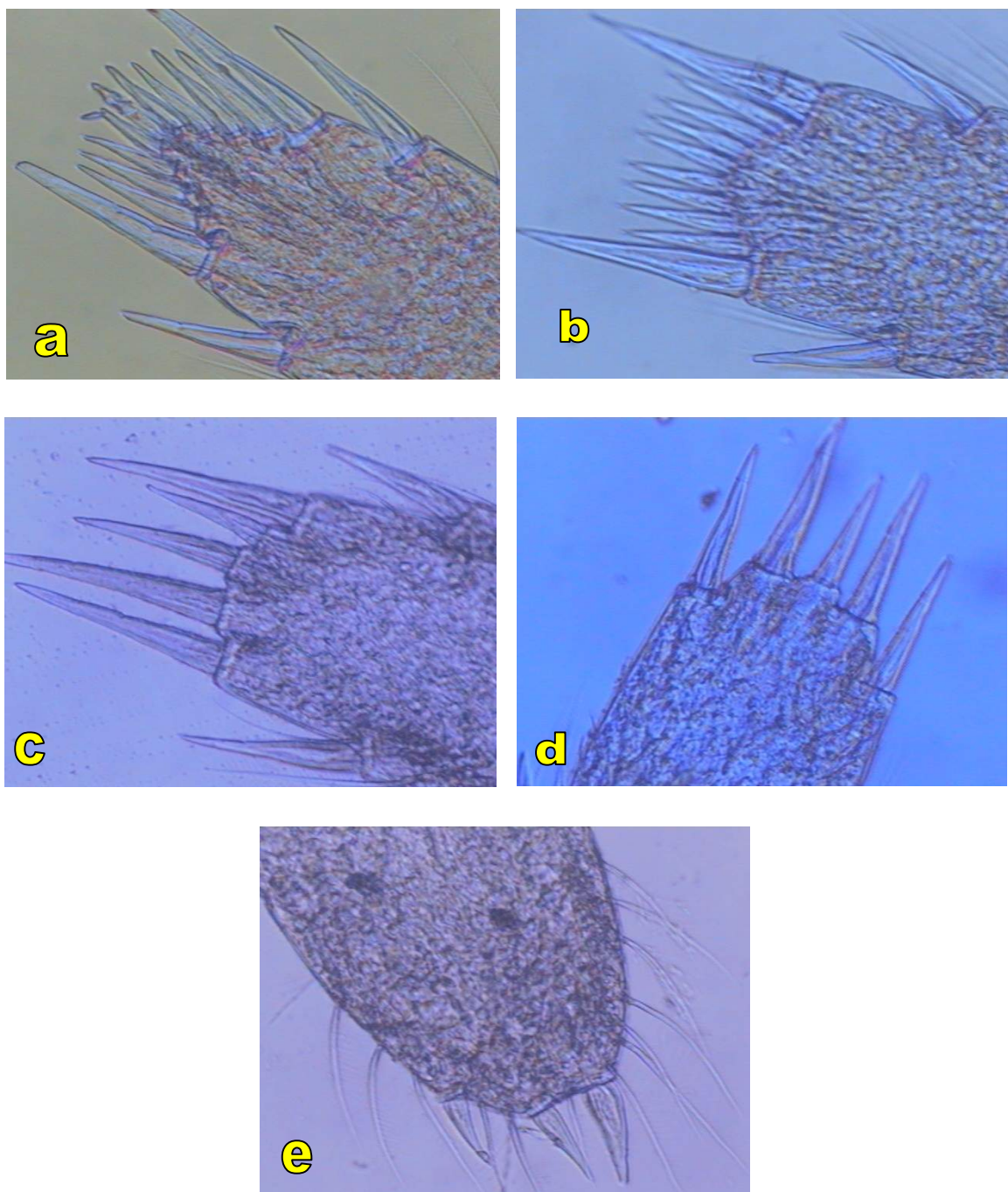


Figura 2. (a) Conformação central do telson de Post larva 11; (b) Conformação central do telson de Post larva 10; (C, D e E) Conformações centrais do telson com deformações

Tabela 4. Médias e erro padrão dos resultados morfológicos de PL10 de *Farfantepenaeus paulensis* nos diferentes tratamentos. Letras sobrescritas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Variáveis	NA	AGS	AGAI	Erro padrão
Conformação central do telson	8,74 ^a	8,40 ^b	8,77 ^a	0,07
Cerdas no quinto somito abdominal	13,81 ^a	12,22 ^b	12,27 ^b	0,15
Número de espinhos rostrais	3,77	3,72	3,77	0,06
Número de cerdas do telson	0,31	0,31	0,31	0,004

Os resultados dos testes de estresse à salinidade e temperatura, expressos como índices de estresse acumulado (IEA), também não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, como pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5. Médias e erro padrão dos índices de estresse acumulado (IEA) a salinidade e temperatura de PL10 de *Farfantepenaeus paulensis* nos diferentes tratamentos. Não foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos ($n=5$).

	NA	AGS	AGAI	Erro Padrão
IEA salinidade	168	182	286	32,5
IEA temperatura	26	22	8	11,6

A Figura 3 mostra que os valores de CL50 24 hs de amônia total (N-AT) para PL10 apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), sendo que pós-larvas alimentadas com *Artemia* enriquecida com AGAI apresentaram tolerância superior ao estresse à amônia do que as pós-larvas dos demais tratamentos. Por sua vez, as PL10 do tratamento NA tiveram uma tolerância à amônia significativamente superior que ao tratamento AGS.

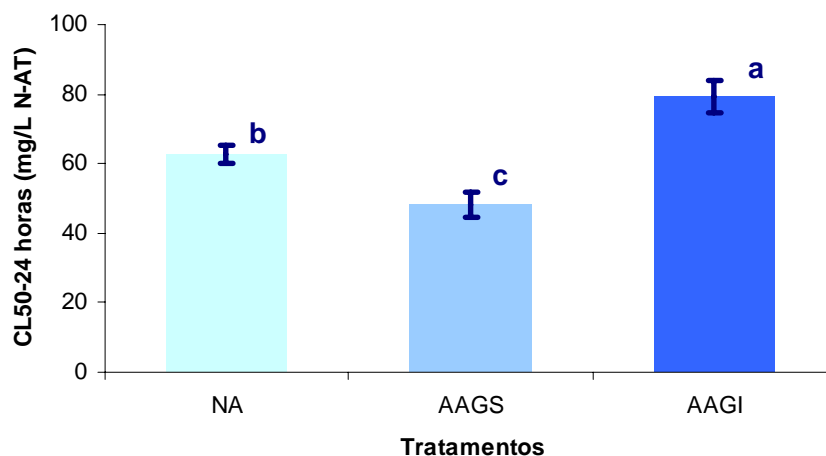


Figura 3. Valores médios e intervalo de confiança (95%) das CL 50 24hs de amônia total (N-AT) para PL10 de *Farfantepenaeus paulensis* nos diferentes tratamentos. Letras sobrescritas representam diferenças significativas.

O perfil de ácidos graxos nos náuplios e meta-náuplios de *Artemia* utilizados no experimento estão apresentados na Tabela 6. As análises demonstraram diferenças significativas ($p < 0,05$) na composição de ácidos graxos entre náuplios recém-eclodidos e metanáuplios de *Artemia* enriquecidos com AGS e AGAI. A concentração total de ácidos graxos saturados foi significativamente diferente entre os diferentes tratamentos ($p < 0,05$). Os maiores níveis foram encontrados por AGS, seguido de AGAI e NA. O total de ácidos graxos monoinsaturados e total de n-6 PUFA também apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, muito embora com tendências similares. Os maiores valores foram observados na seguinte ordem decrescente: NA, AGAI e AGS. Já com relação ao n-3 HUFA, os meta-náuplios enriquecidos com AGAI apresentaram valores significativamente maiores ($p < 0,05$) que os demais tratamentos, enquanto NA apresentou valores intermediários. Níveis significativamente maiores de EPA e DHA foram encontrados nas *Artemia* enriquecidas com AGAI do que nos demais tratamentos. Observou-se também que a *Artemia* enriquecida com AGS apresentou menores níveis de ambos EPA e DHA, enquanto os náuplios de *Artemia* apresentaram valores intermediários entre os tratamentos AGAI e AGS.

Tabela 6. Valores médios (\pm desvio padrão) dos principais ácidos graxos (% área) na *Artemia* recém eclodida e enriquecida com diferentes emulsões de lipídios (n=3).

Ácido graxo	NA	AGS	AGAI
10:00	12,6 \pm 5,6 ^b	31,0 \pm 5,6 ^a	1,2 \pm 0,7 ^c
12:0	1,7 \pm 0,4 ^c	37,1 \pm 8,3 ^b	51,8 \pm 0,9 ^a
14:0	1,0 \pm 0,2 ^b	5,1 \pm 1,6 ^a	1,5 \pm 0,4 ^b
15:0	0,4 \pm 0,1 ^c	0,8 \pm 0,2 ^b	1,6 \pm 0,2 ^a
16:0	7,5 \pm 1,7 ^a	1,8 \pm 0,1 ^b	2,0 \pm 0,1 ^b
16:1n-7	8,0 \pm 1,4 ^a	1,9 \pm 0,3 ^b	2,5 \pm 0,2 ^b
16:1n-9	1,0 \pm 0 ^a	0,5 \pm 0,1 ^c	0,7 \pm 0,1 ^b
17:0	1,4 \pm 0,2 ^a	0,6 \pm 0,1 ^b	0,3 \pm 0,2 ^b
18:0	0,8 \pm 0,2 ^{ab}	0,5 \pm 0,1 ^b	1,0 \pm 0,2 ^a
18:1n-9	14,9 \pm 2,9 ^a	1,4 \pm 0,4 ^b	1,9 \pm 0,2 ^b
18:1n-7	0,1 \pm 0 ^a	0,1 \pm 0,1 ^a	0,2 \pm 0 ^a
18:2n-6	4,3 \pm 0,9 ^a	0,9 \pm 0,2 ^b	1,0 \pm 0,1 ^b
18:3n-6	0,9 \pm 0,5 ^a	0 \pm 0 ^b	0,2 \pm 0 ^{ab}
18:3n-3	21,1 \pm 3,1 ^a	5,4 \pm 1,2 ^b	7,9 \pm 0,7 ^b
18:4n-3	6,1 \pm 1,0 ^a	2,4 \pm 0,5 ^b	3,4 \pm 0,3 ^b
20:0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,2 \pm 0
20:1n-7 + 9	0,9 \pm 1,1 ^b	1,9 \pm 0,2 ^{ab}	3,4 \pm 0,2 ^a
20:3n-6	0 \pm 0 ^b	0 \pm 0 ^b	0,3 \pm 0 ^a
20:4n-6	0,5 \pm 0,1 ^a	0,1 \pm 0,1 ^b	0,2 \pm 0 ^{ab}
20:4n-3	0,2 \pm 0 ^a	0 \pm 0,1 ^c	0,2 \pm 0 ^a
20:5n-3	2,2 \pm 0,5 ^b	0,4 \pm 0,1 ^c	3,8 \pm 0,7 ^a
22:0	0 \pm 0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0
22:4n-9	0,3 \pm 0	0,2 \pm 0,3	0,1 \pm 0
22:4n-6	0 \pm 0 ^b	0 \pm 0 ^b	0,2 \pm 0,1 ^a
22:5n-6	0 \pm 0 ^b	0 \pm 0 ^b	0,1 \pm 0 ^a
22:6n-3	0,2 \pm 0,1 ^b	0,6 \pm 0,6 ^{ab}	2,2 \pm 0,8 ^a
Σ Saturados	25,5 \pm 3,4 ^c	77,1 \pm 1,2 ^a	59,7 \pm 2,0 ^b
Σ Monoinsaturados	25,7 \pm 3,0 ^a	6,3 \pm 0,8 ^c	9,7 \pm 0,7 ^b
Σ (n-6) PUFA ¹	5,6 \pm 0,3 ^a	1,0 \pm 0,2 ^c	1,7 \pm 0,1 ^b
Σ (n-3) HUFA ²	2,6 \pm 0,4 ^b	1,0 \pm 0,7 ^c	6,2 \pm 0,2 ^a
Relação DHA/EPA	0,1 \pm 0,1	1,3 \pm 1,7	0,6 \pm 0,3
Relação (n-3)/(n-6)	0,5 \pm 0,1 ^b	1,0 \pm 0,7 ^b	3,7 \pm 0,3 ^a

¹ Σ (n-6) \geq 18:2n-6 ² Σ (n-3) \geq 20:3n-3

O perfil de ácidos graxos das PL10 indica que níveis significativamente menores de DHA foram encontrados no tratamento AGS (Tabela 7). Entretanto, as concentrações totais de ácidos graxos saturados, monoinsaturados, n-6 PUFA e n-3 HUFA não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.

Tabela 7. Média (\pm DP) dos principais ácidos graxos (% área) nas PL10 de *Farfantepenaeus paulensis* alimentadas com *Artemia* recém-eclodida ou enriquecida com diferentes emulsões (n=2).

Ácido graxo	NA	AGS	AGAI
10:0	5,4 \pm 0,4	1,0 \pm 0,7	3,3 \pm 0,1
12:0	30,6 \pm 8,4	26,4 \pm 3,0	35,2 \pm 12,3
14:0	1,2 \pm 0,8	1,0 \pm 0,3	1,2 \pm 0,8
15:0	0,6 \pm 0,3	0,5 \pm 0,2	0,6 \pm 0,4
16:0	5,8 \pm 1,2	10,8 \pm 0,0	9,5 \pm 0,3
16:1n-7	1,9 \pm 1,4	3,2 \pm 0,1	2,4 \pm 1,8
16:1n-9	0,8 \pm 0,2	1,0 \pm 0,1	0,8 \pm 0,8
17:0	0,3 \pm 0,5	0,6 \pm 0,0	0,3 \pm 0,5
18:0	0,8 \pm 0,3	7,7 \pm 0,7	1,1 \pm 0,6
18:1n-9	4,5 \pm 3,5	7,5 \pm 0,5	9,3 \pm 0,3
18:1n-7	0,1 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,1
18:2n-6	1,7 \pm 0,8	2,4 \pm 0,2	1,5 \pm 0,5
18:3n-6	0,1 \pm 0,2	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1
18:3n-3	9,4 \pm 8,7	10,8 \pm 1,1	6,8 \pm 5,0
18:4n-3	3,1 \pm 1,9	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
20:0	0,4 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
20:1n-7 + 9	2,5 \pm 0,5	2,0 \pm 0,6	2,2 \pm 0,9
20:3n-6	0,2 \pm 0,1	0,0 \pm 0,0	0,01 \pm 0,1
20:4n-6	0,8 \pm 0,5	1,3 \pm 0,1	0,6 \pm 0,4
20:4n-3	0,4 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
20:5n-3	5,3 \pm 4,9	7,2 \pm 0,5	4,5 \pm 3,9
22:0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
22:1	0,3 \pm 0,4	1,4 \pm 2,0	1,0 \pm 0,3
22:4n-9	1,3 \pm 0,8	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1
22:4n-6	0,2 \pm 0,4	0,7 \pm 0,9	0,1 \pm 0,1
22:5n-6	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
22:5n-3	0,5 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1
22:6n-3	1,5 \pm 0,1 ^a	0,5 \pm 0,1 ^b	1,7 \pm 0,3 ^a
24:1	0,4 \pm 0,6	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,3
Σ Saturados	45,5 \pm 8,1	48,4 \pm 2,9	51,8 \pm 13,5
Σ Monoinsaturados	10,3 \pm 4,8	14,2 \pm 0,4	15,1 \pm 1,7
Σ (n-6) PUFA ¹	3,2 \pm 1,8	4,6 \pm 1,1	2,4 \pm 1,5
Σ (n-3) HUFA ²	20,4 \pm 11,5	19,6 \pm 1,9	14,0 \pm 9,4
Relação DHA/EPA	0,5 \pm 0,4	0,1 \pm 0,1	0,5 \pm 0,4
Relação (n-3)/(n-6)	6,3 \pm 0,1	4,3 \pm 0,6	5,5 \pm 0,3

¹ Σ (n-6) \geq 18:2n-6 ² Σ (n-3) \geq 20:3n-3

5- DISCUSSÃO

A análise dos parâmetros físico-químicos de qualidade de água monitorados durante este estudo sugerem que, de modo geral, as condições ambientais foram favoráveis para o cultivo das larvas do camarão-rosa *F. paulensis*. A única exceção seria a salinidade, que, com uma média de 27, pode ser considerada sub-ótima para a larvicultura desta espécie (Fontainhas *et al.*, 1993; Marchiori, 1996). Entretanto, uma vez que as taxas médias de sobrevivência estiveram acima de 74%, este parâmetro provavelmente não afetou significativamente os resultados aqui obtidos. Os valores de temperatura estiveram dentro dos recomendados por Boff & Marchiori (1984). Estes autores obtiveram as melhores taxas de sobrevivência nos estádios de mÍsis e pós-larva de *F. paulensis* nas faixas de 25-30°C e 20-30°C, respectivamente. O valor médio de pH variou de 8,12 a 8,18 e, mesmo apresentando diferenças significativas entre os tratamentos, esteve próximo ao nível recomendado por Santos & Marchiori (1992) e, portanto, não deve ter afetado o desenvolvimento dos animais. As concentrações de amônia total e nitrito estiveram dentro dos níveis de segurança para a larvicultura de *F. paulensis* estimados por Ostrensky *et al.* (1992) e Ostrensky & Poersch (1993), respectivamente.

Os perfis de ácidos graxos dos náuplios recém-eclodidos de *Artemia* e dos metanáuplios enriquecidos refletem a composição das emulsões utilizadas durante o processo de enriquecimento. Os resultados confirmam que o enriquecimento com emulsão com 50% de n-3 HUFA proporcionou um aumento significativo nos níveis de HUFA nos metanáuplios de *Artemia*, principalmente em termos de EPA e DHA, quando comparados com aqueles enriquecidos com emulsão com 0% de HUFA. Por sua vez, os náuplios recém-eclodidos de *Artemia* apresentaram valores intermediários de HUFA. Os níveis de ácidos graxos saturados foram maiores nos metanáuplios enriquecidos com ácidos graxos saturados quando comparados com os náuplios recém-eclodidos de *Artemia*, enquanto os metanáuplios de *Artemia* enriquecidos com HUFA apresentaram valores intermediários. Resultados similares aos aqui encontrados foram relatados por Rees *et al.* (1994a), Narciso *et al.* (1999), Cavalli *et al.* (2000) e Han *et al.* (2000).

As PL10 do tratamento AGS possuíam níveis comparativamente menores de DHA, muito embora as concentrações de ácidos graxos saturados, monoinsaturados, n-6 PUFA e n-3 HUFA não tenham apresentado diferenças entre os tratamentos. Primeiramente, deve-se considerar que os resultados do presente estudo mostram a presença de uma grande variação nos valores dos ácidos graxos dos diferentes tratamentos, o que pode ser devido ao pequeno número amostral, o que, conseqüentemente, dificulta a detecção de possíveis diferenças entre os tratamentos. Além disso, sob o ponto de vista biológico, sabe-se que, quando alimentados com dietas deficientes em ácidos graxos essenciais, alguns crustáceos são capazes de reter seletivamente estes compostos, fenômeno este chamado de retenção seletiva (Tidwell *et al.*, 1997). É possível, portanto, que apesar dos níveis de n-3 HUFA serem significativamente mais altos no tratamento AGAI, as pós-larvas dos demais tratamentos tenham retido seletivamente estes ácidos graxos.

No presente estudo, constatou-se que pós-larvas de *F. paulensis* alimentadas com metanúplios enriquecidos com emulsão com em 50% de HUFA apresentaram taxa de sobrevivência superiores do que os demais tratamentos, o que confirma resultados encontrados em outras espécies. Léger *et al.* (1985) obtiveram melhores taxas de sobrevivência alimentando larvas e pós-larvas de *L. stylirostris* com *Artemia* enriquecida com HUFA. Abelin (1991) mostrou que pós-larvas de *P. monodon* alimentadas com *Artemia* enriquecida com HUFA apresentaram taxas de sobrevivência significativamente maiores. Rees *et al.* (1994a) obtiveram taxas de sobrevivências superiores a 60% para pós-larvas de *P. monodon* alimentadas com *Artemia* enriquecida com 200 e 300 ppm de emulsão rica em HUFA, enquanto que os grupos de larvas alimentado com náuplios de *Artemia* recém-eclodidos, metanúplios de *Artemia* enriquecidos com 100 ppm e 400 ppm dessa mesma emulsão apresentaram taxas de sobrevivência de apenas 18%, 20% e 40%, respectivamente. Lemm & Lemarie (1991) obtiveram aumentos de 48% na taxa de sobrevivência de *Morone saxatilis* quando as larvas deste peixe foram alimentadas com *Artemia* enriquecida com altas concentrações de HUFA, e de 64% para larvas alimentadas com *Artemia* com concentração média de HUFA. Domingues *et al.* (2001) obtiveram taxas de sobrevivência significativamente maiores em larvas do misidáceo *Mysidopsis almyra* alimentadas com *Artemia* enriquecida (59,1%) do que nas alimentadas com náuplios de

Artemia (41,4%). Naihong *et al.* (1999) obtiveram altas taxas de sobrevivência em larvas do caranguejo *Eriocheir sinensis* alimentadas com *Artemia* enriquecida com altos níveis de EPA. Por outro lado, um estudo anterior realizado com *F. paulensis* (Pontes & Andreatta, 2003) não encontrou diferenças na taxa de sobrevivência de pós-larvas alimentadas com náuplios de *Artemia* recém-eclodida e metanáuplios de *Artemia* enriquecidos com diversas emulsões ricas em HUFA. Esta aparente discrepância entre os resultados do presente estudo com os de Pontes & Andreatta (2003) pode ser devida às diferenças no delineamento experimental destes estudos, como, por exemplo, a utilização de pós-larvas de diferentes faixas de idade/desenvolvimento, a duração do período experimental e até mesmo diferenças em termos de composição das emulsões utilizadas e manejo da alimentação.

Com relação ao comprimento total, as PL1 do presente estudo não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, isto pode estar relacionado ao período de tempo de alimentação ter sido insuficiente para que eventuais diferenças pudessem ser expressas. Neste sentido, as PL10 alimentadas com náuplios recém-eclodidos de *Artemia* foram significativamente maiores do que as PL10 dos tratamentos enriquecidos. Resultados similares foram encontrados por Rees *et al.* (1994a), onde o enriquecimento de *Artemia* com HUFA não teve efeito no comprimento total de pós-larvas de *P. monodon*. Naquele estudo, assim como neste, as pós-larvas alimentadas com náuplios de *Artemia* tiveram maiores taxas de crescimento do que as alimentadas com *Artemia* enriquecida. Este menor crescimento pode não estar diretamente relacionado com os níveis de HUFA, mas talvez devido às diferenças nas taxas de sobrevivência entre os tratamentos. É provável que uma menor sobrevivência tenha reduzido a competição por alimento e espaço e, conseqüentemente, permitido um melhor crescimento nesses tratamentos. De forma similar, Domingues *et al.* (2001) não encontraram diferenças significativas no tamanho de larvas do misidáceo *M. almyra* alimentadas com náuplios de *Artemia* ou *Artemia* enriquecida com HUFA. Dhert *et al.* (1990) encontraram que larvas do peixe barramundi (*Lates calcarifer*) exibiram igual crescimento quando alimentadas com náuplios de *Artemia* e *Artemia* enriquecida com HUFA. Ako *et al.* (1994) não obtiveram diferenças significativas em relação ao crescimento de larvas da tainha *Mugil cephalus* alimentadas com alimentos enriquecidos e não-enriquecidos.

Já outros autores obtiveram resultados significativos em termos de taxa de crescimento utilizando meta-náuplios de *Artemia* enriquecidas com HUFA (Léger *et al.*, 1985; Lemm & Lemarie, 1991; Abelin, 1991). Devresse *et al.* (1990) e Romdhane *et al.* (1995) utilizaram *Artemia* enriquecida com diferentes quantidades de HUFA e obtiveram efeitos positivos em termos de taxas de crescimento de larvas de *M. rosenbergii*. Furuita *et al.* (1999), investigando o efeito dos níveis de n-3 HUFA sobre larvas do linguado japonês, *Paralichthys olivaceus*, obtiveram taxas de sobrevivência e crescimento superiores, mas não diferentes significativamente, quando alimentadas com *Artemia* enriquecidas com HUFA. Ao contrário daquelas alimentadas com *Artemia* enriquecida com ácido oléico (18:1n-9), ou seja, deficientes em n-3 HUFA, que mostraram baixas taxas de sobrevivência e crescimento.

Os resultados das análises morfológicas do presente estudo indicam que o número de cerdas do quinto somito abdominal e a conformação central do telson foram significativamente diferentes entre os tratamentos, embora não tenham sido detectadas diferenças em termos de número de espinhos dorso-rostrais e número de cerdas do telson. Com relação às cerdas do quinto somito abdominal, as PL10 alimentadas com náuplios recém-eclodidos de *Artemia* apresentaram um número significativamente maior de cerdas, o que está de acordo com os resultados de crescimento total. De acordo com Iwai (1978), o número de cerdas da margem ventral do quinto segmento abdominal seria o critério mais conclusivo na definição da idade ou do sub-estádio de pós-larvas das espécies da família Penaeidae da região Centro-Sul do Brasil. Entretanto, nossos resultados mostraram que a composição de ácidos graxos do alimento afetou significativamente o número de cerdas do quinto somito abdominal, apesar das pós-larvas dos diferentes tratamentos terem rigorosamente a mesma idade. Portanto, os presentes resultados sugerem a necessidade de cautela na utilização deste parâmetro como critério na definição da idade ou do estágio de desenvolvimento dos Penaeidae. Os resultados de Soares (1999) apóiam esta hipótese. No seu estudo sobre o desenvolvimento e crescimento de pós-larvas de *F. paulensis* em laboratório, esta autora concluiu que a utilização do número de cerdas no quinto somito abdominal não foi eficaz como critério para a identificação dos estádios de

desenvolvimento, visto que pós-larvas de mesma idade apresentavam grandes variações no número de cerdas.

Já em termos de conformação da posição central do telson, as PL10 alimentadas com náuplios recém-eclodidos de *Artemia* e metanáuplios de *Artemia* enriquecidos com HUFA se encontravam significativamente mais desenvolvidas do que as alimentadas com *Artemia* enriquecidas com ácido graxo saturado.

Em vista das dificuldades encontradas na definição de critérios sobre o desenvolvimento morfológico das pós-larvas de *F. paulensis* no presente estudo, faz-se necessário à realização de estudos mais aprofundados sobre este tema, principalmente no que tange a definição da idade ou estágio de desenvolvimento desta espécie. Charmantier *et al.* (1987), por exemplo, sugerem a utilização do número de dentes dorso-rostrais como critério para a identificação do estágio de desenvolvimento pós-larval.

Nossos resultados também indicam que os índices de desenvolvimento das larvas de *F. paulensis* não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Da mesma forma que em relação ao comprimento total das PL1, o curto espaço de tempo que os animais foram submetidos aos diferentes tratamentos talvez não tenha permitido a expressão de possíveis diferenças. Apesar disso, vale ressaltar que Gallardo *et al.* (1995) observaram diferenças significativas no índice de desenvolvimento de larvas de *Litopenaeus setiferus* alimentadas com diferentes quantidades de náuplios de *Artemia* suplementados com microalgas. Os maiores valores foram encontrados para os tratamentos com 1, 1,5 e 2 náuplios/mL e os menores para 0,1 e 0,5 náuplios/mL. Assim, a comparação dos resultados do presente estudo com os de Gallardo *et al.* (1995) sugere que a quantidade de alimento vivo fornecido (náuplios de *Artemia*) provavelmente seja um fator mais importante na definição da taxa de desenvolvimento morfológico das larvas de camarão do que a composição de ácidos graxos deste mesmo alimento vivo.

Testes agudos utilizando parâmetros ambientais ou químicos (salinidade, temperatura, formalina ou amônia) como fatores estressantes vêm sendo propostos na avaliação da qualidade de larvas e pós-larvas produzidas em laboratório (Tackaert *et al.*, 1989; Briggs, 1992; Dhert *et al.*, 1992a; Fegan, 1992; Samocha *et al.*, 1998; Cavalli *et al.*, 2000). Vários autores (Tackaert *et al.*, 1989; Dhert *et al.*, 1990a; 1992b; Rees *et al.*, 1994b;

Naihong *et al.*, 1999; Furuita *et al.*, 1999) observaram um aumento significativo na tolerância à salinidade de formas jovens de várias espécies de peixes e crustáceos quando estas eram alimentadas com altos níveis de n-3 HUFA. O fornecimento de dietas ricas em HUFA também resultou no aumento na resistência de juvenis de *L. stylirostris* expostos a condições estressantes de salinidade e temperatura (Chim *et al.*, 2001) e numa maior tolerância de *M. rosenbergii* à amônia (Cavalli *et al.*, 2000).

Apesar da grande quantidade de estudos relacionando os n-3 HUFA a um aumento da tolerância a estes parâmetros, no presente estudo os valores dos índices de estresse acumulado (IEA) a salinidade e temperatura não apresentaram diferenças significativas entre as PL10 dos diferentes tratamentos, muito embora as PL10 alimentadas com HUFA tenham apresentado um aumento na tolerância à amônia. É provável que os níveis de temperatura e salinidade utilizados nos respectivos testes de estresse não tenham sido capazes de refletir a sensibilidade das pós-larvas aqui testadas, ou seja, que os níveis de salinidade e temperatura aqui utilizados, definidos em estudos prévios, não foram estressantes o suficiente para os animais. Assim a utilização de apenas um nível do parâmetro estressante (caso dos testes de temperatura e salinidade) contrasta com a metodologia utilizada no teste de amônia, onde as pós-larvas foram expostas a concentrações crescentes deste composto e, conseqüentemente, permitiu a estimativa da CL50. Sendo assim, ao se utilizar um só nível de salinidade/temperatura, corre-se o risco de que os diferentes lotes de animais a serem testados não respondam de forma similar. Samocha *et al.* (1998) e Cavalli *et al.* (2000) encontraram grandes variações entre os diferentes lotes de larvas e pós-larvas de crustáceos testados quanto a sua tolerância a salinidade/formalina e a amônia total. Estas variações poderiam ser devidas, por exemplo, a diferenças genéticas ou até mesmo a pequenas diferenças no histórico nutricional ou nas condições ambientais e de manejo a que estes animais foram expostos previamente à realização dos testes.

As PL10 de *F. paulensis* alimentadas com *Artemia* enriquecida com HUFA apresentaram maior tolerância à amônia total. Apesar do delineamento do presente estudo não permitir uma explicação conclusiva, várias hipóteses, as quais podem atuar em conjunto ou não, podem ser levantadas a esse respeito. Primeiramente, deve-se considerar que os n-3

HUFA são essenciais para os crustáceos, uma vez que eles são incapazes de sintetizá-los *de novo* (Tacon, 1987; Léger *et al.* 1992; D’Abramo, 1997). Desta forma, camarões com deficiência ou baixos níveis destes compostos teriam uma menor capacidade de tolerar variações ambientais e, conseqüentemente, a exposição a fatores estressantes. Alguns estudos têm ressaltado o papel dos n-3 HUFA na permeabilidade das membranas celulares e no aumento da capacidade fagocitária dos leucócitos (Watanabe, 1993; Furuita *et al.*, 1999; Chim *et al.*, 2001). Níveis comparativamente maiores de EPA e DHA aumentariam a permeabilidade das membranas e, desta forma, conferiria uma maior flexibilidade frente a condições ambientais adversas (Watanabe, 1993). Nos crustáceos, as baixas temperaturas podem causar um efeito deletério na estrutura e no funcionamento das membranas biológicas, e os HUFA, ao modificarem a composição das membranas celulares, promoveriam um aumento na fluidez destas estruturas (Chim *et al.*, 2001). Deste modo, é provável que uma dieta rica em HUFA poderia conduzir a uma melhor viscosidade das membranas celulares, o que resultaria numa melhor adaptação dos camarões ao estresse ambiental, tal como uma diminuição repentina na temperatura e salinidade (Chim *et al.* 2001). Uma outra possibilidade seria a de que, ao serem expostos a altos níveis de amônia, os camarões passam a mobilizar preferencialmente os lipídeos de reserva, visto que estes têm a vantagem de prover mais energia do que proteínas e carboidratos. Racotta *et al.* (2000) observaram um aumento significativo nos níveis de acilglicerol na hemolinfa de *L.vannamei* exposto a altos níveis de amônia. Desta forma, é provável que camarões com maiores níveis de HUFA nos seus tecidos teriam uma maior capacidade de tolerar níveis altos de amônia. Neste sentido, larvas de *M. rosenbergii* alimentadas com *Artemia* enriquecida com HUFA e ácido ascórbico apresentaram uma maior tolerância à exposição à amônia (Cavalli *et al.*, 2000).

Do ponto de vista técnico, o fornecimento de *Artemia* enriquecida com n-3 HUFA se demonstrou vantajoso na produção e na qualidade das pós-larvas de *F. paulensis*, pois maiores taxas de sobrevivência e um aumento na tolerância à amônia foram observadas no presente estudo. Portanto, os nossos resultados confirmam resultados anteriores com outras espécies em que alimentos enriquecidos com HUFA resultaram em melhores taxas de sobrevivência, crescimento, metamorfose e tolerância a fatores ambientais. Ao nível

comercial, o incremento das taxas de sobrevivência, crescimento e metamorfose podem significar uma redução significativa nos custos de produção através da diminuição do ciclo de cultivo ou com menores gastos em alimentação e mão-de-obra. Deve-se, porém, ter em mente que estes resultados somente se tornam aparentes ao final do período de cultivo. Além disso, a produção de pós-larvas com maior tolerância às flutuações de parâmetros ambientais têm grande importância, principalmente se considerarmos que a transferência das pós-larvas produzidas em laboratório para viveiros de engorda é uma etapa crítica num programa de cultivo. Um aumento na tolerância dos camarões ao estresse causado por fatores ambientais poderá resultar em maiores taxas de sobrevivência, pois mesmo sendo as condições de cultivo e de aclimação satisfatórias, as variações nas condições ambientais e o estresse causado pela coleta, manipulação e transporte das pós-larvas podem afetar sensivelmente a viabilidade do processo de cultivo. Do ponto de vista econômico, porém, o nosso estudo não permite nenhum comentário. Estudos de viabilidade econômica se fazem necessários para se determinar se o enriquecimento de *Artemia* com emulsões ricas em HUFA seria também vantajoso sob este aspecto.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCC, 2003. A carcinicultura brasileira em 2002. Revista da ABCC, Ano 5, N°1.
- ABCC, 2004. Cenário nacional e internacional sobre cultivo e produção de camarão marinho. Disponível no site <http://www.abccam.com.br>.
- ABELIN, P.1991. Development and evaluation of unconventional forms of *Artemia sp.* as food for penaeid shrimp. Ghent, Belgium (Tese de Doutorado), 189 pp.
- AKO, H.; TAMARU, C. S.; BASS, P. & LEE, C.-S. 1994. Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by the feeding of enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, **122**: 81-90.
- ANDREATTA, E. R.; BELTRAME, E. ; SILVA, I. D.; CERQUEIRA, V. R. & LUGLIO, M. P. 1987. Alimentação de pós-larvas de *Penaeus paulensis* Pérez - Farfante,1967. Estudo de dieta artificial. In: *II Seminário sobre Ciências do Mar*, Florianópolis, SC. Anais.p.101-107.
- ANGER, K. & DARWIRS, R.R., 1981. Influence of starvation on the larval development of *Hyas araneus* (Decapoda, Majidae). *Helgol. Mee.*, **34**: 287-311.
- ARANA, L.V. 1997. Princípios Químicos de Qualidade da Água em Aqüicultura- Uma Revisão para Peixes e Camarões. Editora da UFSC, Florianópolis. 166p.
- ARELLANO, E. 1990. Fatty acid composition of wild and cultured *Penaeus vannamei* as a method to evaluate postlarval quality. In: Abstracts of the World Aquaculture Society Meeting. Ottawa: National Research Council Canada, p.50.
- ARMSTRONG, D.A.; CHIPPENDALE, D.; KNIGHT, A.W. and COLT, J.1978. Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvar, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biological Bulletin*, **154**: 15- 31.
- BARDACH, J. E.; RYTHER, J. H. & MCLARNEY, W. O. 1972. Aquaculture: the farming and husbandry of freshwater and marine organisms. John Wiley & Sons, New York, EUA. 868 p.
- BAUMAN, R.H.; JAMANDRE, D.R.1990. A practical method for determining quality of *Penaeus monodon* (Fabricius) fry for stocking in grow-out ponds. In: New, M.B.,

- Saran, H., Singh, T. Editors. Technical and economic aspects of shrimp farming. Proceedings of the Aquatech 90 Conference, Kuala Lumpur: Infofish, p.124-137.
- BELTRAME, E.; ANDREATTA, E. R.; PEREIRA, C. M. & SILVA, I. D. 1986. Maturation in captivity of the pink shrimp *Penaeus paulensis* Pérez - Farfante, 1967. Effect of the stocking density of spawners on nauplii production. *In: I Inter- American Congress of Aquaculture*. Resumos.p.73.
- BENDSCHNEIDER, K. & ROBINSON, R.J. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in seawater. *Journal of Marine Research*, **11**: 87-96.
- BOFF, H. M. & MARCHIORI, M.A. 1984. The effect of temperature on larval development of the pink shrimp *Penaeus paulensis*. *Atlântica*, **7**: 07-13.
- BRETT, M.T.; MÜLLER- NAVARRA D.C. 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. *Freshwater Biology*, **38**: 483-499.
- BRIGGS, M.R.P.1992. A stress test for determining vigour of post-larval *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture and Fisheries Management*, **23** 633-637.
- BUENO, S. L. de S., 1989. Técnicas, Procedimentos e Manejos para a Produção de Pós-larvas de Camarões Peneídeos. Maricultura da Bahia S/A, CIRM, Brasília.
- CAMPBELL, J. 1973. Nitrogen excretion. In: C.L. Prosser, ed. Comparative Animal Physiology. W.B. Saunders, Philadelphia., p. 279- 316.
- CAVALLI, R.O.; VIEIRA E. & WASIELESKY, W. J. 1995. Efeito da temperatura, salinidade, luz e origem dos reprodutores na eclosão de larvas do camarão-rosa *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *In: III Encontro Sul-Brasileiro de Aquacultura*. Ibirubá, RS. Anais. P. 8-13.
- CAVALLI, R.O.; WASIELESKY, W. J.; FRANCO, C. S. & FILHO, K.M. 1996. Evaluation of the short-term toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Penaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda) broodstock. *Arq. Biol. Tecnol.*, **39** (3): 567-575.
- CAVALLI, R.O.; SCARDUA M. P. & WASIELESKY, W. J. 1997. Reproductive performance of different-sized wild and pond-reared *Penaeus paulensis* females. *Journal of the World Aquaculture Society*, **28** (3): 260-267
- CAVALLI, R.O.; BERGHE, E.V.; LAVENS, P.; THUY, N.T.T.; WILLE, M. & SORGELLOS, P. 2000. Ammonia toxicity as a criterion for the evaluation of larval

- quality in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **125**: 333-343.
- CERQUEIRA, V. R., BELTRAME, E. 1989. Efeito do uso de dieta artificial como complemento de algas e *Artemia* na larvicultura do camarão-rosa *Penaeus paulensis*. In: *II Simpósio Brasileiro de Cultivo de Camarão*. João Pessoa. PB. Anais...p.491-501.
- COLT, J.E. & ARMSTRONG, D.A.1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish, and molluscs. In: Allen, L.J., Kinney, E. C. (Eds.), *Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture*. Fish Culture Section, American Fisheries Society, Northeast Society of Conservation Engineers, Bethesda, MD, pp. 34-47.
- CHARMANTIER, G.; BOUAICHA, N.; CHARMANTIER- DAURES, M.; THUET, P. & TRILLES, J.P. 1987. Tolérance à la salinité au cours du développement larvaire et post-larvaire de *Penaeus japonicus*. *Equinoxe*, N° 17.
- CHARMANTIER, G.; CHARMANTIER-DAURES, M.; BOURARICHA, N.; THUET, P.; AIKEN, D. E.; TRILLES, J. P., 1988. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two decapod crustaceans: *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. *Biological Bulletin*, **175**:102-110.
- CHIM, L.; LEMAIRE, P.; DELAPORTE, M.; MOULLAC, G.L.; GALOIS, R. & MARTIN, J. L. M. 2001. Could a diet enriched with n-3 highly unsaturated fatty acids be considered a promising way to enhance the immune defences and the resistance of *Penaeid* prawns to environmental stress? *Aquaculture Research*, **32**: 91-94.
- D'ABRAMO, L.R. 1997.Triacylglycerols and fatty acids. Pages 71-84 in *Crustacean Nutrition*, L.R. D'Abramo, D.E. Conklin & D.M. Akiyama, editors. World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- D'ABRAMO, L. R. & SHEEN, S-S. 1993. Polyunsaturated fatty acid nutrition in juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, **115**:63-86.
- DEVRESSE, B.; ROMDHANE, M.S.; BUZZI, M.; RASOWO, J.; LÉGER, P.; BROWN, J. & SORGELOOS, P.1990. Improved larviculture outputs in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* fed a diet of *Artemia* enriched with n-3 HUFA and phospholipids. *World Aquaculture*, **21**: 123-125.

- DHERT P.; LAVENS, P.; DURAY, M. & SORGELOOS, P. 1990. Improved larval survival at metamorphosis of Asian seabass (*Lates calcarifer*) using ω 3- HUFA- enriched live food. *Aquaculture*, **90**: 63-74.
- DHERT P.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P. 1992a. Stress evaluation: a tool for quality control of hatchery- produced shrimp and fish fry. *Aquaculture Europe* **17**: 6-10.
- DHERT P.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P. 1992b. A simple test for quality evaluation of cultured fry of marine fish. *Med. Fac.Landbouww*, Univ. Gent, 57/4b.
- D'INCAO, F. 1999. Subordem DENDROBRANCHIATA (camarões marinhos). In: BUCKUP, L.; BOND- BUCKUP, G. Os Crustáceos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, p. 275 – 299.
- DOLCI, D.; WASIELESKY, W.; CAVALLI, R.O. & SILVA, T. 1996. Desarrollo de estructura para el cultivo del camarón rosado *Penaeus paulensis* en jaula y corrales. In: *IX Congreso Latino Americano de Acuicultura*. Coquimbo, Chile. Anais.p.140-143.
- DOMINGUES, P. M.; TURK, P. E.; ANDRADE, J.P. & LEE, P.G. 2001.Effects of enriched *Artemia* nauplii on production, survival and growth of the mysid shrimp *Mysidopsis almyra* Bowman 1964 (Crustacea: Mysidacea). *Aquaculture Research*, **32**: 599-603.
- FAO, 2002. The state of world fisheries and aquaculture fisheries resources: trends in production, utilization and trade. Disponível no site <http://www.fao.org/docrep/005/y7300/y73004htm#>.
- FEGAN, D.F., 1992. Recent developments and issues in the penaeid shrimp hatchery industry. In: Wyban, J., editor. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, World Aquaculture Society Meeting. Baton Rouge: *World Aquaculture Society*, p. 55-70.
- FOLCH, J.; LEES, M. & STANLEY, G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, **266**: 497-509.
- FONTAÍNHAS, M.A.P.; OLIVERA, A. & VINATEA, L. 1993. Sobrevivência, metamorfose e crescimento de larvas de *P. paulensis* (Pérez- Farfante, 1967)

- submetidas a diferentes salinidades. *In*: VIII Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca. Aracaju- Sergipe- Brasil.
- FURUITA, H.; KOOICHI, K. & TAKEUCHI, T.1999. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* nauplii on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, **170**: 59-69.
- GALLARDO, P. P.; ALFONSO, E.; GAXIOLA, G.; SOTO, L. A. & ROSAS, C. 1995. Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, **131**: 239-252.
- GREENBERG, A.E.; CLESCERI, L.S. & EATON, A.D. 1992 Standard Methods for the examination of water and wastewater (18th Ed.). Washington, USA: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation.
- GURNEY, R. 1942. Larvae of Decapod Crustacea. *Ray Soc. London*. 306 pp.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.S.; THURSTON, R.V., 1977. Trimmed Spearman Karber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science Technology*, **11**: 714-719.
- HAN, K.; GEURDEN, I. & SORGELOOS, P. 2000. Enrichment strategies for *Artemia* using emulsions providing different levels of n-3 highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture*, **183**: 335-347.
- HARDY, R. 1981. Temperatura e Vida Animal. Temas de Biologia. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária Ltda. EDUSP. V.24, 91p.
- ICES, 1994. Report of ICES Working Group on Mass Rearing of Juvenile Marine Fish. International Council for the Exploration of the Sea, Committee Meeting, Mariculture Comm. F, 6.
- IWAI, M. 1978. Desenvolvimento larval e pós-larval de *Penaeus (Melicertus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 (Crustacea, Decapoda) e o ciclo de vida dos camarões do gênero *Penaeus* da região centro-sul do Brasil. São Paulo, USP. 138p. (Tese de Doutorado).

- KAUSHIK, S. J. 1998. Factors Affecting Nitrogen Excretion in Teleosts and Crustacea. In: Abstracts of 4th Int. Aquatic Nutrition, La Paz B.C.S. Mexico.
- KINNE, O. 1964. The effects of temperature and salinity on marine and brackish water animals. *Oceanogr. Mar. Biol. Arm. Rev.*, **2** : 281-329.
- KONTARA, E.K.; LAVENS, P.& SORGELLOOS, P. 1995. Dietary effects of DHA/EPA on culture performance and fatty acid composition of *Penaeus monodon* postlarvae. In: Proceedings-Larvi'95-Fish & Shellfish Larviculture Symposium. P.Lavens, E. Jaspers, & I. Roelants (Eds). European Aquaculture Society, Special Publication N°24, Gent, Belgium.
- LARA, D. B. G. & MACKAY, R. 1974. Contribuição ao estudo da larvicultura do camarão-rosa *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. *ACARPESC Científica*, **3**: 1-36.
- LAVENS, P.; SORGELLOOS, P. 1991. Production of *Artemia* in culture tanks. In: *Artemia Biology*. Browne, A.R., Sorgeloos, P. & Trotman, G.N.A., editors, p.317- 350. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- LAVENS, P.; SORGELLOOS, P. 1996. Manual on the production and use live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*. n°361. Rome, FAO. 295p.
- LAVENS, P.; SORGELLOOS, P. 2000. Experiences on importance of diet for shrimp postlarval quality. *Aquaculture*, **191**: 169-176.
- LÉGER, PH. & SORGELLOOS, P. 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries. In: Fast, A.W. & Lester, J.L., editors. *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam. p 225-244.
- LÉGER, P.; BENGTON, D. A.; SIMPSON, K. L.; SORGELLOOS, P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Ocean. Mar. Biol.*, **24**: 521-623.
- LÉGER, PH.; BIEBER, G. F. & SORGELLOOS, P. 1985. International study on *Artemia*. In: XXXIII. Promising results in larval rearing of *Penaeus stylirostris* using a prepared diet as algal substitute and for *Artemia* enrichment. *Journal of the World Aquaculture Society*, **16**: 354-367.

- LEMM, C.A. & LEMARIE, D.P. 1991. Survival and growth of larval striped bass (*Morone saxatilis*) fed *Artemia* enriched with highly unsaturated fatty acids (HUFA). *Aquaculture*, **99**: 117-126.
- LEMOS, D.; EZQUERRA, J.M.; GARCIA-CARREÑO, F.L. 2000 Protein digestion in penaeid shrimp: digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. *Aquaculture*, **186**:89-105.
- MAIA, E. P., 1993. Progresso e Perspectivas da carcinicultura marinha no Brasil. In: Simpósio Brasileiro sobre o Cultivo do Camarão. 4, João Pessoa, 1993. Anais. p. 185 – 196.
- MALTBY, L.1995. Sensitivity of the crustaceans *Gammarus pulex* (L.) and *Astilus aquaticus* (L.) to short-term exposure to hypoxia and unionized ammonia: observations and possible mechanism. *Water Research*, **29**: 781-787.
- MARCHIORI, M.A. 1996. Guia Ilustrado de Maturação e Larvicultura do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967).Rio Grande: Ed.Furg.
- MARCHIORI, M.A & CAVALLI, R.O. 1993. Maturação em escala comercial de *Penaeus paulensis* em sistemas de recirculação semi-fechado. In: *IV Simpósio Brasileiro de Cultivo de Camarão*, João Pessoa, PB. Anais...p. 385-398.
- MARCHIORI, M.A & BOFF, M. H. 1983. Induced maturation, spawning and larvae culture of the pink shrimp *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante,1967. *Mems. Assoc. Latinoam. Acuicult.*, **5**:331-337.
- MARCHIORI, M.A 1982. Maturation and spawning of the shrimp *Penaeus paulensis* in laboratory recirculation system. In: Simpósio Internacional Sobre Utilização de Ecossistemas Costeiros: Planejamento, Poluição e Produtividade. Resumos.p.76.
- MERCHIE, G.,1996. *Artemia*: use of nauplii and meta-nauplii. In: Lavens P, Sorgeloos P, editors. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fish. Tech. Paper 361, Rome, Italy: FAO, p.137-163.
- MERCHIE, G.; LAVENS, P.; RADULL, J.; NELIS, H.; DE LEENHEER, A. & SORGELOOS, P., 1995. Evaluation of vitamin C-enriched *Artemia* nauplii for larvae of the giant freshwater prawn. *Aquaculture International*, **3**: 355-363.

- METCALFE, A. P. & SCHMITZ, A.A. 1961. The rapid preparation of fatty acids for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, **33**: 363- 364.
- MEYDANI, M. 2000. Omega-3 fatty acids alter soluble markers of endothelial function in coronary heart disease patients. *Nutrition Reviews*, **58(2)**: 56-59.
- MUEDAS, W. & BELTRAME, E.1991. Influencia de la alimentación en reproductores de *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967), considerando su efecto en la producción de nauplios. In: *IV Congresso LatinoAmericano de Aquicultura*, Coquimbo, Chile. Anais... p.149-151.
- NAIHONG, X.; JUJU, S.; GUIZHENG, Z. & SORGELOOS, P., 1999. The effect of *Artemia* sources on growth, survival and salinity stress of crab (*Eriocheir sinensis*) larvae. *Asian F. Science*, **12**: 210-205.
- NARCISO, L.; POUSÃO, F.P.; PASSOS, A. & LUÍS, O. 1999. HUFA content and DHA/EPA improvements of *Artemia sp.* with commercial oils during different enrichment periods. *Aquaculture Research*, **30** (1): 21-24.
- NAVARRO, J.C.; AMAT, F. & SARGENT, J. R., 1993. The lipids of the cysts of freshwater and marine type. *Artemia Aquaculture*, **109**:327-336.
- OULLET, P.; TAGGART, C. T. & FRANK, K. T., 1992. Lipid condition and survival in shrimp (*Pandalus borealis*) larvae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **49**: 368-378.
- OSTRENSKY, A & WASIELESKY, W., 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). *Aquaculture*, **132**: 339-347.
- OSTRENSKY, A. & POERSCH, L.H., 1993. Toxicidade aguda do nitrito na larvicultura do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). *Nerítica*, **7 (1-2)**: 101-107
- OSTRENSKY, A.; MARCHIORI, M.A. & POERSCH, L.H., 1992. Toxicidade Aguda da Amônia no Processo Produtivo de Pós-larvas de *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). *An. Acad. Bras. Ci.*, **64(4)**: 383-389.
- OSTRENSKY, A. 1991. Toxicidade da amônia e do nitrito no processo produtivo de pós-larvas do camarão-rosa, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. Curitiba, UFP. 105p. (Dissertação de Mestrado).

- PEIXOTO, S.; WASIELESKY, W.JR. & LOUZADA, L.JR. 2003. Comparative analysis of pink shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, culture in extreme Southern Brazil. *Journal of Applied Aquaculture*, **14** (1/2): 101-111.
- PÉREZ-FARFANTE, J., 1969. Western Atlantic shrimps of the genus *Penaeus*. *Fish. Bull.*, **67** (3): 461-591.
- PONTES, C.S. & ANDREATTA, E.R. 2003. Efeito da oferta de náuplios de *Artemia franciscana* Enriquecidos com ácidos graxos poliinsaturados sobre o desenvolvimento de pós-larvas do camarão marinho *Farfantepenaeus paulensis*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **32**, (n.6): 1544-1550.
- RACOTTA, I.S. & HERRERA- HERNÁNDEZ, R., 2000. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **125 A**: 437-443.
- REES, J.F.; CURÉ, K.; PIYATIRATITIVORAKUL, S.; SORGELOOS, P. & MENASVETA, P., 1994a. Highly unsaturated fatty acid requirement of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment. *Aquaculture*, **122**:193-207.
- REES, J.F.; CURÉ, K.; PIYATIRATITIVORAKUL, S.; MENASVETA, P., & SORGELOOS, P., 1994b. Osmotic stress resistance as a quality diagnostic for Penaeid postlarvae. *In: The Third Asian Fisheries Forum*. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.p.1025-1028.
- ROCHA, I. P.; ARRAIS FILHO, E. A.; FREITAS, C. M. C. & MARTINS M. M. R. 1989. Considerações sobre a carcinicultura brasileira. *In: Simpósio Brasileiro sobre o cultivo de camarão*, 3, João Pessoa, 1989. Anais. p. 287 – 314.
- ROCHA, I. P. & MAIA, E. P. 1997. Desenvolvimento Tecnológico e Perspectivas de Crescimento da Carcinicultura Marinha Brasileira. 1998. *In: Anais do Aquicultura Brasil' 98*. Volume 1 Recife, 2 a 6 novembro de 1998, p.213.
- ROMDHANE, M.S.; DEVRESSE, B.; LÉGER, Ph. & SORGELOOS, P., 1995. Effects of feeding (ω -3) HUFA-enriched *Artemia* during a progressively increasing period on the larviculture of freshwater prawns. *Aquaculture International*, **3**: 236-242.

- ROUBACH, R.; CORREIA, E.; ZAIDEN, S.; MARTINO, R.C. & CAVALLI, R.O. 2003. Aquaculture in Brazil. *World Aquaculture*, V.34, N°1.
- SÁNCHEZ, C. C., WASIELESKY, W. & CAVALLI, R.O. 1996. Efeito da densidade no crescimento do camarão-rosa *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. In: *IX Semana Nacional de Oceanografia*. Arraial do Cabo/RJ. Anais. 15pp.
- SANTOS, M.H. & MARCHIORI, M.A., 1992. Efeito do pH no desenvolvimento larval do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). In: *Resumo- Encontro Nacional de Aquicultura (VII SIMBRAq- II ENBRAPOA)*, Peuíbe, São Paulo.p.116.
- SAMOCHA, T.M.; UZIEL, N. & BROWDY, C.L.1989. The effect of feeding two prey organisms, nauplii of *Artemia* and rotifers *Brachionus pelicantilis* (Muller), upon survival and growth of larval marine shrimp, *Penaeus semisulcatus* (de Haan). *Aquaculture*, **77**:11-19.
- SAMOCHA, T.M.; GUAJARDO, H.; LAWRENCE, A.L.; CASTILLE, F.L.; SPEED, M.; McKEE, D.A. & PAGE, K.I. 1998. A simple stress test for *Penaeus vannamei* post-larvae. *Aquaculture*, **165**:233-242
- SARGENT, J.R.; HENDERSON, R. J. & TOCHER, D. R. 1989. The lipids. Pages 153- 219 in J.E.Halver, editor. *Fish Nutrition*. Academic Press, New York.
- SARGENT, J.R.; BELL, M. V.; HENDERSON, R. J. & TOCHER, D. R. 1990. Polyunsaturated Fatty Acids in Marine and Terrestrial Food Webs. In: Mellinger J. (ed). *Animal Nutrition and Transport Processes*. 1. Nutrition in Wild and Domestic Animals. *Comp. Physiol.* Basel, Karger, vol 5, pp 11-23.
- SORGELOOS, P. & LÉGER, P.; 1992. Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp and prawn. *Journal of the World Aquaculture Society*, **23** (4): 251-264.
- SORGELOOS, P.; COUTTEAU, P.; DHERT, P.; MERCHIE, G. & LAVENS, P.; 1998. Use of Brine Shrimp, *Artemia* spp., in Larval Crustacean Nutrition: A Review. *Reviews in Fisheries Science*, 6 (1 & 2): 55-68.
- SMART, G.R. 1976. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Fisheries Biology* **8**: 471- 475.

- SOARES, R. B. 1996. Efeito da temperatura na sobrevivência, crescimento e aclimação de pós-larvas do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Pérez-Farfante, 1967). Rio Grande, FURG. 69 p. (Monografia de Graduação).
- SOARES, R. B. 1999. Análise do desenvolvimento e crescimento de megalopas do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em laboratório e resultados preliminares sobre o seu assentamento no Estuário da Lagoa dos Patos. Rio Grande, FURG. 129 p. (Tese de Mestrado).
- SPECK, R. C.; CAVALLI, R. O & MARCHIORI, M. A 1993. Efeito da densidade no crescimento e sobrevivência de pós-larvas de *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967, em sistema de berçário. In: *IV Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarão*, João Pessoa, PB. Anais...p.369-383.
- TACKAERT, W.; ABELIN, P.; DHERT, PH.; & SORGELOOS, P., 1989. Stress resistance in postlarval penaeid shrimp reared under different feeding procedures. In ABCC, editors. *Proceedings III Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarão*. João Pessoa, Brasil.393- 403.
- TACON, A.G.J.1987. The nutrition and feedings of farmed fish and shrimp- A training manual. 1. The essential nutrients. *FAO Field document*, FAO, Brasília, Brasil.
- TIDWELL, J.H., COYLE, S.D., WEBSTER, C.D., SEDLACEK, J.D., WESTON, P.A., KNIGHT, W.L., HILL, S.J., D'ABRAMO, L.R., DANIELS, W.H. & FULLER, M.J. 1997. Relative prawn production and benthic macro invertebrate densities in unfed, organically fertilized, and fed pond systems. *Aquaculture* **149**: 227-242.
- TOMASSO, J.R. 1994. Toxicity of Nitrogenous Wastes to Aquaculture Animals. *Reviews in Fisheries Science*, **2**: 291- 314.
- TSUZUKI, M. Y; CAVALLI, R.O. & BIANCHINI, A. 2000. The effects of temperature, age and acclimation to salinity on the survival of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae. *Journal World Aquaculture Society*, Vol.31, Nº. **3** : 459 -468.
- UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Intergovernmental Oceanographic Commission Manual and Guides 12.
- VILLALON, J. R., 1991. Practical Manual for Semi- intensive Comercial Production of Marine Shrimp. Texas A&M University Sea Grant Program. Galveston, TX, 103 pp.

- VILLEGAS, D. K. & KANAZAWA, A., 1979. Relationship between diet composition and growth of the zoeal and mysis stages of *Penaeus japonicus* Bate. *Fisheries Research Journal of the Philippines*, **4**: 32-40.
- WATANABE, T.; KITAJIMA, C. & FUJITA, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, **34**: 115- 143.
- WATANABE, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol.24, N° 2: 152- 161.
- WASIELESKY, W. JR., CAVALLI, R. O., DOLCI, D. & SILVA, T. M. 1995. Crescimento do camarão-rosa *Penaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda) cultivado em gaiolas e cercados no estuário da Lagoa dos Patos. *In*: II Encontro Sulbrasileiro de Aqüicultura, UFRGS, Ibirubá, RS. Anais. p.14-25.
- WASIELESKY, W. JR., 1999. Produção do camarão marinho *Penaeus paulensis* no sul do Brasil: cultivo em estruturas alternativas. *In*: Oceanos: Fonte de Alimentos. Prêmio Jovem Cientista 1997, CNPq, Fundação Roberto Marinho, Grupo Gerdau, p. 53-106.