

LUÍS FILIPE DAS NEVES CUNHA

**FISIOLOGIA E NUTRIÇÃO DE LARVAS DO
CAMARÃO LIMPADOR *LYSMATA AMBOINENSIS*
(DE MAN, 1888) NOS PRIMEIROS DIAS DE VIDA**

UNIVERSIDADE DOS AÇORES

PONTA DELGADA

2005

LUÍS FILIPE DAS NEVES CUNHA

**FISIOLOGIA E NUTRIÇÃO DE LARVAS DO
CAMARÃO LIMPADOR *LYSMATA AMBOINENSIS*
(DE MAN, 1888) NOS PRIMEIROS DIAS DE VIDA**

Relatório de estágio para conclusão da licenciatura em
Biologia – ramo de Ambiente e Evolução

Orientadores Científicos:

Professora Doutora Ana Costa

Professor Doutor Nuno Simões

UNIVERSIDADE DOS AÇORES

PONTA DELGADA

2005

Agradecimentos

É com muito prazer que vejo este trabalho chegar ao fim, com ele encerro um capítulo académico muito importante da minha vida, a minha licenciatura na Universidade dos Açores.

Em primeiro lugar quero agradecer a Deus, pois sem a fé, marcada na costura do meu ser nada teria sido alcançado.

Aos meus pais Ruben e Maria de Lurdes Cunha por me terem dado o possível e o impossível e por me terem apoiado sempre. Aos meus irmãos Ruben, Mário e Sara e ao resto da família em geral por todos os momentos em que estivemos juntos, mas ainda mais pelos momentos em que estive distante mas que sempre senti o carinho e apoio familiar. Ao meu afilhado Gonçalo pela sua energia e boa disposição, o qual espero que cresça e tenha as mesmas ou melhores oportunidades que eu.

Ao Dr. Nuno Simões e à Dra. Ana Costa pela orientação no estágio, mas mais que isso, por me terem brindando com a sua amizade. A todos os meus professores de licenciatura, que promoveram o espírito curioso e crítico que há em mim.

A todas as pessoas que me ajudaram no decurso dos trabalhos experimentais, à Maite pelo seu apoio nos meus problemas com estatística, à Gaby pelo seu apoio nos problemas nutricionais das minhas larvas, à Paloma e à Adriana pelo apoio no fornecimento do cultivo vivo, Ariadna pelo apoio nas análises laboratoriais, ao Kike e à Liz pelo apoio na manutenção dos meus camarões, ao Carlos, Gemma e Andrés por se terem revelado bons amigos.

À Alicia pelo seu carinho e à sua família por me ter acolhido quando estive em terras *Xalapeñas*. Ao Francisco por ter sido um amigo sempre interessado e por me ter acolhido em Ponta Delgada, nos meus momentos *stressantes* antes da apresentação da tese. A todos os meus amigos, cuja lista só cabe no meu coração.

E por fim, aos eternos Tunídeos por todos os momentos de loucura saudável nos quais me perdi e me encontrei vezes sem conta.

Índice

1. Introdução	72
1.1. Objectivos	92
2. Espécies Marinhas Ornamentais	92
2.1. O mercado de espécies marinhas ornamentais	92
2.2 Exploração, Impacto ambiental e sustentabilidade	112
3. <i>Lysmata amboinensis</i> (De Man, 1888)	142
3.1 Importância económica	142
3.2 Sistemática e filogenia	162
3.3 Distribuição geográfica	192
3.4 Morfologia e anatomia	192
3.5 Ecologia	202
3.6 Reprodução e crescimento	212
3.7 Ciclo de vida e vida larvar	222
4. Cultivo em cativeiro	262
4.1 Nutrição	272
4.2 Índices da condição nutricional e fisiológica	292
4.3 Manutenção de larvas	302
4.4 Nutrição Larvar	342
5. Material e Métodos	422
5.1 Condições de cultivo	422
5.2 Manutenção dos reprodutores	422
5.3 Colecta e cría larvar	442
5.4 Cultivos secundários	452
5.4.1 Artemia	452
5.4.2 Microalgas	462
5.4.3 Rotíferos	472
5.5 Observações das larvas em cultivo	472
5.6 Taxas fisiológicas	482
5.7 Análises bioquímicas	482
5.8 Ensaios experimentais em larvas de <i>Lysmata amboinensis</i>	502
5.8.1 Efeito da alimentação no primeiro dia de vida	502
5.8.2 O efeito de microalgas como primeiro alimento	512
5.8.3 Efeito de alimento enriquecido	522
5.8.4 Efeitos da densidade de alimento e de larvas	532
5.8.5 Comparação de duas dietas de rotíferos enriquecidos com diferentes produtos comerciais	542
6. Resultados	562
6.1 Ensaios experimentais em larvas de <i>Lysmata amboinensis</i>	562
6.1.1 Efeito da alimentação no primeiro dia de vida	562
6.1.2 O efeito de microalgas como primeiro alimento	592
6.1.3 Efeito de alimento enriquecido	612
6.1.4 Efeitos da densidade de alimento e de larvas	622
6.1.5 Comparação de duas dietas de rotíferos enriquecidos com diferentes produtos comerciais	642
7. Discussão	662

7.1 Ensaios experimentais em larvas de <i>Lysmataamboinensis</i>	662
7.1.1 Efeito da alimentação no primeiro dia de vida	672
7.1.2 O efeito de microalgas como primeiro alimento	702
7.1.3 Efeito de alimento enriquecido	712
7.1.4 Efeitos da densidade de alimento e de larvas	722
7.1.5 Comparação de duas dietas de rotíferos enriquecidos com diferentes produtos comerciais	732
8. Conclusão <u>752</u>	
9. Bibliografia <u>772</u>	

1. Introdução

A maioria das espécies ornamentais marinhas, ao contrário do que acontece com as espécies de água doce, provêm do meio natural, principalmente de recifes coralinos (Hoff, 2001; Lin *et al.*, 2002). Esta pressão verifica-se com maior intensidade nos mares do Indo – Pacífico, onde países como as Filipinas e Indonésia ocupam o primeiro lugar como depredadores de biodiversidade marinha (Wabnitz *et al.*, 2003). Esta exploração caracteriza-se pela colecta e respectiva remoção de organismos com interesse aquarofilístico, causando um impacto na biodiversidade não só pela remoção de organismos chave, mas também pela destruição causada por técnicas como o uso de explosivos ou de químicos como o cianeto de sódio que não só afectam a espécie alvo como todas as outras espécies dentro dos limites de exposição a técnica (Moore e Best, 2001; Wood, 2001a; Wabnitz *et al.*, 2003).

A aquacultura de espécies ornamentais marinhas surge assim como uma forma de atenuar a pressão no meio natural (Lubbock e Polunin, 1975; Rubec, 1988; Landau, 1992; Wood, 2001b). No entanto, para que este processo se torne realidade é necessário juntar esforços científico-tecnológicos de forma a desenvolver as técnicas actuais e universais de criação de espécies ornamentais marinhas em cativeiro (Landau, 1992), pois apesar da expansão exponencial de tal mercado poucas espécies são cultivadas (Delbeek, 1987; Lin, 2001; Wabnitz *et al.*, 2003).

Assim, devem desenvolver-se estudos sobre a biologia e ecologia das espécies mais populares em aquariofilia (Moe, 2003; Wabnitz *et al.*, 2003), bem como esforços em introduzir no mercado, de forma comercialmente aceitável, espécies que, apesar de menos populares devido a desconhecimento, apresentam enorme potencial de produção em cativeiro, possibilitando uma maior diversidade de espécies cultivadas em cativeiro e um maior leque de escolha ao cliente (Landau, 1992; Calado *et al.*, 2001).

Os invertebrados ocupam um lugar de destaque no mercado aquarofilístico, onde as denominadas equipas de limpeza (conjunto de diferentes organismos de diferentes classes, em geral invertebrados, que têm um estatuto fundamental no aquário devido ao seu papel detritívoro ou de limpador, contribuindo para o equilíbrio do sistema) constituem um dos produtos mais populares nas lojas de especialidade (pers.com). Os camarões limpadores de géneros como *Lysmata* sp., *Stenopus* sp., *Thor* sp., são bastante populares e comuns entre as mascotes aquarofilistas (Moe, 2003; Wabnitz *et al.*, 2003; Calado *et al.*, 2003a). Apesar disso, tal como acontece com a

maioria das espécies ornamentais marinhas, estas espécies carecem de estudos a nível da produção em cativeiro assim como estudos da sua biologia geral e ciclo de vida e o seu papel nos ecossistemas naturais (Landau, 1992; Ekaratne, 2000; Wabnitz *et al.*, 2003) o que resulta num desconhecimento generalizado do impacto produzido pela exploração e remoção de tais organismos do ambiente natural (Thoney *et al.*, 2003).

Algumas tentativas de produção destes animais em cativeiro foram realizadas tanto por investigadores como por aquaríofistas amadores (Crompton, 1994; Riley, 1994; Wilkerson, 1995; Kotter, 1997; Palmtag e Holt, 2001; Moe, 2003; Simoes *et al.*, 2003; Calado *et al.*, 2003b), mas em geral com um sucesso muito reduzido. Apesar disso, de acordo com Calado *et al.* (2003a) para algumas espécies como *Lysmata wurdemanni*, *Lysmata seticaudata* e *Lysmata rathbunae*, foram criados protocolos de criação em cativeiro, e para espécies como *Lysmata amboinensis*, *Thor amboinensis*, *Stenopus hispidus* e *Lysmata debelius* (Kotter, 1997; Calado *et al.*, 2003b) grandes esforços estão a ser desenvolvidos na sua reprodução em massa em cativeiro devido ao seu alto valor no mercado de aquaríofilia (Moe, 2003; Wabnitz *et al.*, 2003).

O camarão limpador do Indo-Pacífico *Lysmata amboinensis* [que, segundo Hayashi (1975) é um sinónimo de *Lysmata grabbami*, um camarão limpador do Atlântico] é uma das espécies mais populares em aquaríofilia (Moe, 2003; Wabnitz *et al.*, 2003), tanto reconhecido pelas suas cores brilhantes como pelo seu comportamento de limpador facultativo (Limbaugh *et al.*, 1961; Delbeek, 1987). Esta espécie, no estado adulto, é muito fácil de manter em cativeiro, aceitando quase qualquer tipo de alimento (Lin *et al.*, 2002) e, devido ao seu papel de limpador, pode ajudar a libertar de certa forma pressão sobre o sistema de filtragem do aquário.

Lysmata amboinensis apresenta um ciclo larvar metamórfico durante o qual regista grande mortalidade em cativeiro (Kotter, 1997). Um dos aspectos mais citados como responsável por esta mortalidade registada no cultivo em cativeiro é a falta de conhecimento sobre aspectos de zootecnia, assim como da própria biologia da espécie ou/e canibalismo (Fletcher *et al.*, 1995a; Rufino e Jones, 2001; Lin *et al.*, 2002; Calado *et al.*, 2003a; Ramirez, 2004) que segundo Simoes *et al.* (2003) pode ser devido a falta de disponibilidade de alimento. De acordo com os esquemas de alimentação propostos por Fletcher (1995a) e Zhang *et al.*, (1997b) normalmente não se proporciona alimento durante o primeiro dia de vida pois de acordo com estes autores, as larvas vivem das reservas vitelinas e ainda não abriam a boca ao ambiente exterior, (lecitotrofismo ou endotrofismo das larvas). Simões *et al.* (2003) contrariou estas observações registando a

presença de microalgas no tracto digestivo de larvas de *Lysmata debelius* poucas horas depois da eclosão. No mesmo estudo, verificaram-se melhoras significativas na sobrevivência dos primeiros estados larvares, quando alimentados desde o primeiro dia depois da eclosão.

Apesar do ciclo de vida de várias espécies já se ter completado em laboratório (Calado *et al.*, 2003a), o longo e variável período das fases larvares é o principal problema e obstáculo no cultivo destas espécies com fim comercial. Identificar as condições de cultivo e dietas apropriadas é essencial para melhorar a qualidade das larvas e encurtar as fases larvares (Lin *et al.*, 2002).

1.1. Objectivos

O presente estudo foi realizado na “Unidad de Docencia y Investigación de la Facultad de Ciencias de la UNAM en Sisal, estado de Yucatán, México.

Foram efectuados 5 ensaios com os quais se pretendeu atingir os seguintes objectivos:

- determinar a existência de endotrofismo nas larvas durante o primeiro dia de vida;
- registar pela primeira vez para *Lysmata amboinensis* valores de consumo de oxigénio, actividade enzimática e quantidades de alguns metabolitos larvares;
- determinar se as microalgas surtem algum efeito sobre as larvas no primeiro dia de vida e abordar o comportamento trófico das larvas;
- averiguar se a sobrevivência depende da concentração de alimento e da relação deste com o efeito da densidade de larvas;
- comparar se um alimento enriquecido é melhor do que um alimento não enriquecido;
- determinar o efeito de duas dietas comerciais que diferem na quantidade de proteína e de lípidos.

2. Espécies Marinhas Ornamentais

2.1. O mercado de espécies marinhas ornamentais

Entende-se por espécie ornamental marinha qualquer organismo que se mantenha em cativeiro com um único propósito lúdico.

O poder de compra dos aquaríofilas é a força motriz do mercado de espécies ornamentais. Enquanto muitos dos peixes e invertebrados ornamentais de água doce são criados em cativeiro, os organismos marinhos, devido a terem requerimentos mais complexos, tornam-se bem mais complicados de criar em cativeiro, o que por sua vez tem impedido o desenvolvimento da aquacultura ornamental marinha (Palmtag e Holt, 2001).

Estima-se que, só nos Estados Unidos, se mantém cerca de 89 milhões de peixes de água doce, em 12,1 milhões de aquários, enquanto que 5,9 milhões de peixes de água salgada são mantidos em 1,1 milhões de aquários (Wabnitz *et al.*, 2003). Em todo mundo possivelmente, cerca de 1,5-2 milhões de pessoas possuem aquários de água salgada (Hoff, 2001). De facto, de acordo com Wabnitz *et al.* (2003) só entre 1991 e 1993 vários milhões de peixes foram alvo do mercado de aquaríofilia marinha. Muitas das espécies utilizadas associam-se a recifes de coral e outras a outros tipos de *habitats*, tais como, pradarias submersas, mangais, e sapais ou praias vasosas.

Países como as Filipinas, a Indonésia, as ilhas Salomão, o Sri Lanka, a Austrália, as ilhas Fiji, as Maldivas e Palau, no seu conjunto, foram responsáveis por 98% do total de peixes exportados entre 1997 e 2002, sendo que os dois primeiros, são responsáveis por 80 % do total no mercado dos típicos peixes marinhos de aquário e de muitos dos corais vivos - estes últimos principalmente na Indonésia (Olivotto *et al.*, 2003). Destes, cerca de 2%, abastecem o mercado local sendo o restante alvo de exportação (Ekaratne, 2000). Os Estados Unidos da América, o Reino Unido, a Holanda, a França e a Alemanha foram os principais importadores para o mesmo período de tempo, sendo responsáveis por 99% do total das importações de peixes ornamentais marinhos (Wabnitz *et al.*, 2003).

Mais de um milhão de invertebrados foram alvo de comércio entre 1998 e 2002, muitos provenientes do Indo-Pacífico, dos quais os mais procurados são os corais (61 espécies de coral mole e 140 de coral pétreo), enquanto que para os restantes invertebrados somam-se cerca de 516 espécies, embora estes números devam ser considerados com cautela devido à problemas na identificação taxonómica de em invertebrados marinhos (Wabnitz *et al.*, 2003).

Dentro do leque de invertebrados marinhos, à parte dos corais, os mais populares são os crustáceos pertencentes ao género *Lysmata* e *Stenopus* e um grupo de anémonas pertencentes ao género *Heteractis*. Outras espécies, com especial importância, são os moluscos *Turbo* spp., *Trochus* spp., e *Tridacna* spp (bivalves gigantes). Em conjunto,

estas espécies representam 67% de todas as espécies de invertebrados marinhos comercializados entre 1998 e 2003 (Moe, 2003; Wabnitz *et al.*, 2003).

É importante salientar que a maioria dos invertebrados comercializados são organismos que se alimentam de algas, parasitas ou tecido morto (como os camarões limpadores) ou de animais mortos (como no caso de caranguejos eremitas). Estes animais revelam-se importantes no controlo do crescimento de algas e parasitas que poderiam encontrar um hospedeiro ideal em peixes mantidos em aquário, e de certa forma libertar a pressão sobre os sistemas de filtragem. No entanto, a sua remoção do meio natural pode provocar redução na biodiversidade dos recifes e contribuir para a deploração dos ecossistemas afectados (Lin, 2001).

A exploração de crustáceos marinhos também tem sofrido um aumento considerável em resposta à procura no comércio ornamental marinho (Bruce, 1975; Delbeek, 1987; Lin *et al.*, 1999; Wabnitz *et al.*, 2003). Entre os principais crustáceos comercializados encontram-se os denominados camarões limpadores. Pertencentes a distintos grupos taxonómicos, estas espécies, em geral, têm uma coloração muito atractiva, sendo muito fáceis de manter como adultos em condições de cativeiro (Wabnitz *et al.*, 2003).

2.2 Exploração, Impacto ambiental e sustentabilidade

A indústria ornamental marinha tem sido acusada de ser responsável pela destruição de *habitats* e degradação de populações selvagens de organismos marinhos (Wilkerson, 1995; Palmtag e Holt, 2001).

Em contraste com as espécies ornamentais de água doce, a maioria dos organismos marinhos no mercado de aquariofilia tem a sua origem no meio selvagem, em ecossistemas dos recifes de coral, de áreas tropicais e subtropicais do mundo (Kenchington, 1985). Estas regiões são responsáveis pela maior parte da exportação a nível mundial de espécies ornamentais marinhas com o objectivo de fornecer o mercado de aquariofilia marinha (Olivotto *et al.*, 2003; Wabnitz *et al.*, 2003).

Os recifes de coral contêm uma enorme riqueza biológica tanto a nível de biodiversidade como de *habitats*, suportam milhares de espécies de peixe, invertebrados, algas, plâncton, e muitos outros organismos (Goslinger *et al.*, 1996; Olivotto *et al.*, 2003). A sua importância reside tanto a nível biológico como comercial, turístico e cultural, funcionando muitas vezes como uma protecção natural de zonas costeiras, fornecendo paisagens únicas e beleza natural à região (Wabnitz *et al.*, 2003).

O comércio de organismos para a aquariofilia é a única fonte de subsistência de milhares de pescadores de comunidades costeiras por todo o mundo, pois em áreas com poucas alternativas de rendimento, o mercado de espécies ornamentais torna-se um alicerce na sobrevivência da comunidade (Ekaratne, 2000; MAC, 2001). Exemplo desta situação são países de grande biodiversidade marinha como as Filipinas e a Indonésia, cujas áreas costeiras são, simultaneamente, das mais densamente povoadas do mundo, com grandes taxas de crescimento, o que torna a pressão sobre os recursos costeiros enorme, ameaçando gravemente os maiores recifes de coral do mundo (Lin *et al.*, 1999).

A sustentabilidade de qualquer recurso aquático depende da pressão exercida pelo fluxo da exploração e, pela sua própria natureza, os recursos piscícolas são regeneráveis, mas isto depende da capacidade de recuperação ligada ao ciclo reprodutivo e crescimento das espécies (Ekaratne, 2000).

Muitos dos recifes de coral do mundo estão a ser explorados, degradados e severamente ameaçados pela actividade antropogénica como a poluição, a sobre-exploração pesqueira, a colecta destrutiva, o uso de certas práticas pesqueiras, o desenvolvimento costeiro, a construção de marinas, portos e pelas alterações climáticas (MAC, 2001).

Os recifes são afectados, directamente, pelo uso de técnicas destrutivas ou, indirectamente, pela captura de espécies chave, o que acaba por afectar outras espécies e processos ecológicos, como por exemplo, o caso dos camarões e peixes limpadores, cuja remoção do meio natural pode favorecer uma redução na diversidade biológica devido ao seu papel de controlo sobre o crescimento de parasitas (Yap e Gomez, 1985; Rubec, 1986; Richmond, 1997; Bryant *et al.*, 1998; Bruckner, 2000).

Quando os recifes de corais são protegidos, a recuperação das populações de organismos dependentes dos recifes tais como peixes, crustáceos, moluscos, etc., pode ser rápida mas quando os próprios corais do recife são destruídos, a recuperação é complicada pois impede o assentamento e crescimento de corais jovens. Neste caso são necessárias décadas para o processo de recuperação (Smith, 1999).

O comércio internacional de corais vivos, outros invertebrados marinhos, peixes de recife, rocha “viva”, areia “viva”, e areia de coral, quando não controlado e gerido de forma correcta e a sobre-exploração dos mesmos recursos por colecta e práticas de pesca destrutivas contribuem para o declínio e degradação dramática dos recifes de coral (Wabnitz *et al.*, 2003).

Para a gestão eficiente das populações naturais é necessário conhecer a biologia e ecologia das espécies, como também a ecologia do sistema, de forma a evitar a sobre-exploração e declínio dos recursos (Ekaratne, 2000). Assim torna-se urgente uma gestão eficiente de forma a assegurar a sustentabilidade dos recursos marinhos e a conservação dos recifes de coral em benefício de gerações futuras (MAC, 2001; Wabnitz *et al.*, 2003).

Organizações internacionais têm tentado, desde há mais de uma década, persuadir os colectores a utilizarem redes em vez do cianeto de sódio (Olivotto *et al.*, 2003). A realidade é que é muito mais fácil utilizar e conseguir mais rendimento com uma técnica que danifica o meio ambiente do que com uma forma segura para o ambiente. Assim, por muito que se invista na educação das populações, será sempre muito complicado uma mudança da situação actual (Ekaratne, 2000).

Na realidade, apesar da enorme gama de ameaças sobre os recifes de coral, só um escasso conjunto de países criou regulamentos para controlar a exploração dos recursos vivos destinados à aquariofilia marinha. Com a aplicação de legislação específica e de restrições (*e. g.* quotas, tamanho mínimo de captura) já demonstraram que é possível a sustentabilidade desta actividade (Lin, 2001; Wabnitz *et al.*, 2003), apesar de até à data não existir um sistema objectivo e independente que verifique a situação a nível internacional (MAC, 2001).

Provavelmente tanto os aquários públicos como a aquacultura comercial, não serão suficientes para fornecer e suportar as suas próprias necessidades, sendo inevitável a continuação da exploração dos ecossistemas selvagens. Neste caso é necessário que esta exploração se faça de forma sustentável, em zonas menos danificadas, evitando explorar as mais danificadas. É essencial a cooperação entre os colectores, organizações de conservação, organizações governamentais, nos países importadores, para que se desenvolvam estratégias de gestão que visem uma exploração sustentável dos recursos marinhos (Thoney *et al.*, 2003), como também desenvolver a tecnologia da aquacultura de espécies ornamentais, de forma a garantir um suporte à procura comercial porquanto minimiza os impactos negativos no ambiente natural (Landau, 1992; Lin, 2001; Wabnitz *et al.*, 2003).

O desenvolvimento da tecnologia em aquacultura mostra-se extremamente importante para que se proporcionem condições óptimas de cultivo de espécies ornamentais em cativeiro. Este desenvolvimento só poderá ser possível quando forem desenvolvidos protocolos de criação para as mais variadas espécies (Landau, 1992).

A aquacultura de espécies ornamentais alvo é extremamente urgente para que se possa aliviar a pressão que actualmente existe sobre os delicados ecossistemas marinhos vítimas dos impactos causados pela sobre-exploração e pelo uso de técnicas de captura destrutivas, de forma que a curto prazo possa suprimir parte do mercado existente (Wabnitz *et al.*, 2003).

Para que se possa desenvolver uma produção em cativeiro de espécies ornamentais com sucesso é necessário conhecer a sua biologia, a sua ecologia como a própria ecologia do sistema em que ela está inserida (Landau, 1992; Olivotto *et al.*, 2003). Por outro lado a falta de conhecimento ao nível do estado de certas espécies alvo na natureza implica dificuldades em implementar a sua conservação (Wabnitz *et al.*, 2003).

Segundo Moe (2003), a cultura e propagação de corais, como de outros organismos, está começar a expandir-se rapidamente. Poderá mesmo estar a entrar numa fase logarítmica de crescimento.

Os camarões limpadores encontram-se entre os mais populares em aquariofilia. Daí resulta uma enorme procura/oferta sobre a espécie que provoca pressões nos delicados ecossistemas onde, por vezes, estas espécies são consideradas espécies chave. Apesar de, para algumas espécies, o ciclo de vida já ter sido descrito, a longa e variável fase larvarl continua a ser o principal obstáculo à sua produção em cativeiro, devido a elevada mortalidade durante esta etapa (Lin *et al.*, 2002). Uma melhor compreensão das condições ideais de cultivo das larvas possibilitará um produto final mais homogéneo e menores custos de produção (Planas e Cunha, 1999).

3. *Lyasmata amboinensis* (De Man, 1888)

3.1 Importância económica

De acordo com vários autores (Kotter, 1997; Zhang *et al.*, 1998a; Wabnitz *et al.*, 2003; Calado *et al.*, 2003a), entre as espécies dos denominados camarões limpadores explorados pelo mercado de aquariofilia marinha, nove pertencem ao género *Lyasmata*: *L. debelius*, *L. grabhami*, *L. amboinensis* (fig. 1), *L. wurdemanni*, *L. intermedia*, *L. multicissa*, *L. rathbunae*, *L. californica*, *L. seticaudata* e quatro ao género *Stenopus*: *S. cyanoscelis*, *S. hispidus*, *S. tenuirostris* e *S. zanzibaricus*.

Lyasmata amboinensis (De Man, 1888) é uma espécie bastante procurada comercialmente para a aquariofilia marinha, devido à sua resistência (apesar de sensível

a alterações bruscas no meio) (Delbeek, 1987; Moe, 2003). Segundo (Hardman, 1999; Hoff, 2001; Lin *et al.*, 2002; Wabnitz *et al.*, 2003) o género *Lysmata* é aquele que é alvo



Fig 1. Adultos de *Lysmata amboinensis* em condições de cativeiro.

de maior troca comercial no mercado mundial de invertebrados ornamentais marinhos.

O seu preço varia com o tamanho. Para um tamanho de 5 cm podemos ter um preço mínimo de 18 dólares americanos (cerca de 15 euros) até preços de 29 dólares americanos (cerca de 23 euros)(tab. I).

Tabela. I Preços de mercado de *Lysmata amboinensis* obtidos em empresas especializadas em aquariorfilia com páginas de venda na internet.

Nome científico	Tamanho	Preços (ano de 2005)	Páginas de internet de empresas de aquariorfilia
<i>Lysmata Amboinensis</i>	5 cm	\$18.00	[1]
	Pequeno	\$36.00	[2]
	2 a 3 cm	\$ 15.99	
	4 a 4,5 cm	\$ 18.99	[3]
	4,5 a 6 cm	\$ 21.99	
	*	\$14.00	[4]
	2 a 3 cm	\$ 15.99	
	4 a 4,5 cm	\$ 18.99	[5]
	4,5 a 6 cm	\$ 21.99	
	2,5 a 5 cm	\$17.99	[6]
	2,5 cm	\$23.00	
4 cm	\$26.00	[7]	
5 cm	\$29.00		

3.2 Sistemática e filogenia

De acordo com a mais recente classificação taxonômica dos crustáceos (Martin e Davis, 2001) a ordem decápoda divide-se em duas subordens *Dendrobrachiata* (camarões penaeideos e sergestideos) e *Plyeocyemata* (os restantes crustáceos decápodes) onde se encontra a Infraordem Caridea. Os membros pertencentes à Infraordem Caridea, têm a forma tipicamente de um camarão (fig. 2) e, incorporam o maior número de camarões limpadores ornamentais conhecidos, incluindo *Lysmataamboinensis* (Martins e Calazans, 2003; Calado *et al.*, 2003a). Esta infraordem está subdividida em 16 super-famílias, em que as mais procuradas pelo mercado de ornamentais são apenas 4 famílias: *Palaemonidae*, *Hippolytidae*, *Alpheidae* e *Rhynchochinetidae* (Criales, 1979; Gwaltney e Brooks, 1994; Omori *et al.*, 1994; Wicksten, 1995; Grippa e D' Acoz, 1996). Outra infra-ordem que contém importantes espécies de camarões limpadores ornamentais, é a Infraordem Stenopodidea, que apresenta apenas duas famílias, das quais, a Stenopodidae inclui os populares camarões boxeadores *Stenopus hispidus* e *S. scutellatus*.

Nos carídeos o cefalotórax é mais ou menos cilíndrico (fig. 2), os primeiros dois pares de pernas são quelados ou subquelados (possuem pinças) e o primeiro ou segundo

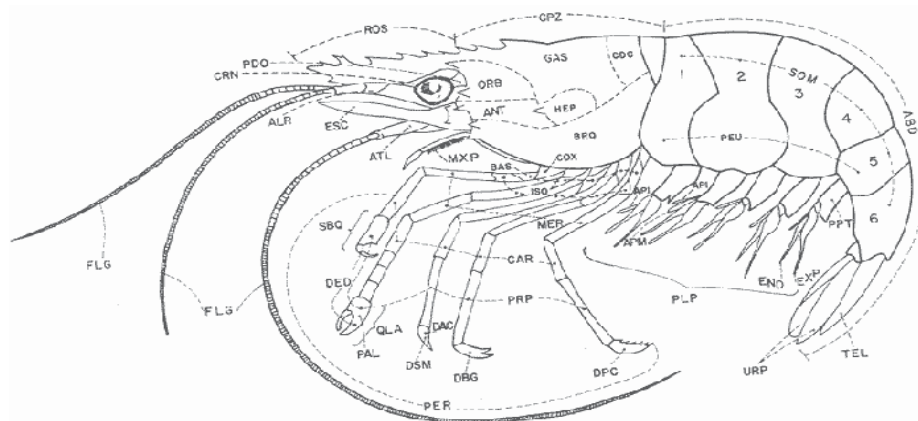


Figura 2 – Esquema geral de um camarão carídeo adaptado de Carvacho and Rios (1981), mostrando os termos que se utilizam na identificação dos espécimes: ABD abdômen. ALR pedúnculo antenular. ANT região antenal. API apêndice interno. APM apêndice masculino. ATL pedúnculo antenal. BAS basis. BRQ região branquial. CAR carpo. CDC região cardíaca. COX coxa. CPZ carapaça. CRN córnea. DAC dactilo. DBG dactilo biunguiculado. DED dedos. DPC dactilo pectinado. DSM dactilo simples. END endopódito. EXP exopódito. FLG flagelos. GAS região gástrica. HEP região hepática. ISQ isquion. MER mero. MXP terceiro maxilípode. ORB região orbital. PAL palma. PDO pedúnculo ocular. PEU pleuras. PER pereópodes. PLP pleópodes. PPT protopódito. PRP própode. QLA quela. ROS rosto. SBQ subquela. SOM somitos. TEL telson. URP urópodes.

par são em geral mais forte, ou mais longo, que os restantes (Barnes, 1974). Segundo Dixon *et al.* (2003), o terceiro par aparentemente não parece quelado, mas na realidade é, o que apesar de não ser filogeneticamente significativo, serve para distinguir os camarões carídeos de outros decápodes pois tanto os dendrobranquiados como os stenopodídeos tem o terceiro par de pereiopodes distintamente quelados. O segundo segmento abdominal do exoesqueleto sobrepõe o primeiro e terceiro segmento abdominal (Barnes, 1974; Landau, 1992).

Esta infraordem contém o maior número de espécies de camarões, entre os quais a família Hippolytidae, os membros desta família apresentam entre várias características: um rostro com dentes, que pode ser curto ou longo, não ultrapassando o escafocérito; os olhos não se encontram cobertos pela carapaça; o sétimo artículo do segundo par de maxilípedes está inserido lateralmente, relativamente ao sexto artículo; os dois primeiros pares de pereópodes são robustos, e distintos; o primeiro par de pereópodes apresenta quelas curtas e robustas e o segundo par apresenta o carpo dividido, mais ou menos, em cinco artículos (Calado e Narciso, 2002).

Apesar de compartilharem uma organização morfológica e anatómica semelhante, as distintas espécies apresentam um alto grau de variação nas suas especializações, nichos ecológicos, preferências por hábitat, tipos de alimentação, estratégias reprodutivas, etc., mesmo dentro do próprio género. Os camarões limpadores caracterizam-se por estarem geralmente associados a micro-habitats relativamente seguros (refúgio ou hospedeiro) (Correa e Thiel, 2003). Algumas espécies do género *Lysmata* são limpadores obrigatórios ou facultativos (Stevens e Anderson, 2000; Lin e Zhang, 2001b)(fig. 3), outras podem ser comensais de anémonas marinhas (Barnes, 1974; Stevens e Anderson, 2000). A simbiose de limpeza no meio marinho é uma relação na qual certos crustáceos, como camarões ou caranguejos, e peixes removem parasitas assim como todo o tipo de partículas indesejadas a outros animais, principalmente peixes (Bruce, 1983; Delbeek, 1987; Burukovsky, 2000). Os limpadores, usualmente tem uma cor conspícua que contrasta com o meio ambiente (Debelius, 1985). As formas tropicais parecem mais especializadas que as formas de águas temperadas e obtêm uma maior porção de alimento na limpeza, devido a movimentos mais elaborados para a atrair os peixes que desejem ser limpos (Limbaugh *et al.*, 1961; Criales e Corredor, 1977; Criales, 1979). Algumas destas espécies desenvolveram relações simbióticas com outros organismos, a maioria destas, entre camarões (*Lysmata wurdemanni*, *Periclimenes yucatanicus*, *Periclimenes peddersoni*) e anémonas, em águas tropicais (Limbaugh, 1961;

Fautin *et al.*, 1995; Stevens e Anderson, 2000). Este tipo de relação entre o camarão e a anêmona pode contribuir de forma significativa para a distribuição de populações de camarões (Ross, 1983; Stevens e Anderson, 2000).

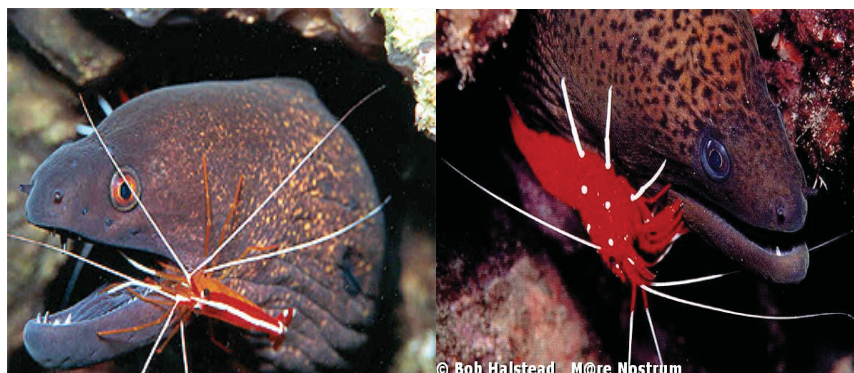


Figura 3. Exemplos de comportamento limpador. *Lysmata amboinensis* á esquerda (in [8]) e *Lysmata debelius* á direita (in [9])

A espécie *Lysmata amboinensis* foi descrita pela primeira vez por De Man (1888) e é conhecida por alguns nomes comuns como camarão limpador do Indo-Pacífico, camarão listado e camarão raiado (Yasir, 1995; Kotter, 1997; Ramirez, 2004). Hayashi (1975) considerou *Lysmata amboinensis* um sinónimo de *Lysmata grabhami*, sinonímia comumente aceite por vários autores apesar de (Hayashi, 1975) apenas se ter baseado na semelhança morfológica e comportamental.

Segundo Bruce (1974) *L. amboinensis* encontra-se classificado da seguinte forma:

Phylum: **Artropoda**

Sub-Phylum: **Crustacea** Brunnich, 1772

Classe: **Malacostraca** Latreille, 1802

Subclasse: **Eumalacostraca** Grobben, 1892

Súper-Orden: **Eucarida** Calman, 1904

Orden: **Decapoda** Latreille, 1802

Subordem: **Pleocyemata** Burkenroad, 1963

Infra-Orden: **Caridea** Dana, 1852

Súper-Família: **Alpheoidea** Rafinesque, 1815

Família: **Hippolytidae** Dana, 1852

Género: ***Lysmata***

Espécie: ***L. amboinensis*** De Man, 1888

3.3 Distribuição geográfica

O camarão limpador *Lysmata amboinensis* tem a sua localidade tipo em Amboina na Indonésia (Abele e Kim, 1986) mas encontra-se nos mares circuntropicais na região do indo-pacífico em recifes de coral e zonas rochosas (fig. 4) (Bruce, 1974; Abele e Kim, 1986; Calfo e Fenner, 2003). Foi reportado no Oceano Pacífico, nas ilhas Sociedade (Randall, 1958), Hawaii (Feder, 1966), Amboina na Indonésia (DeMan, 1888; Holthuis, 1947), Japão (Hayashi, 1975), Bali (Debelius, 1983), Mar Vermelho (Faulkner e Smith, 1970; Calfo e Fenner, 2003), no Oceano Índico (em Mombaça) (Bruce, 1974), no Oceano Atlântico foram reportados para a ilha da Madeira (Gordon, 1935; Saldanha, 1995), para as Florida Keys, Nordeste do México e para as Bahamas (Limbaugh *et al.*, 1961), para as ilhas Antilhas e para o Brasil (Lubbock e Polunin, 1975), para o Caribe Mexicano (Simões com. pess.). Foram reportadas associações desta espécie com a anêmona *Stoichactis heliacanthus* (Chace, 1972) e grandes densidades populacionais [*e.g.* mais de cem indivíduos em Bali (Debelius, 1983)]. A sua distribuição batimétrica vai desde os 3 aos 91 metros de profundidade (Chace, 1997).

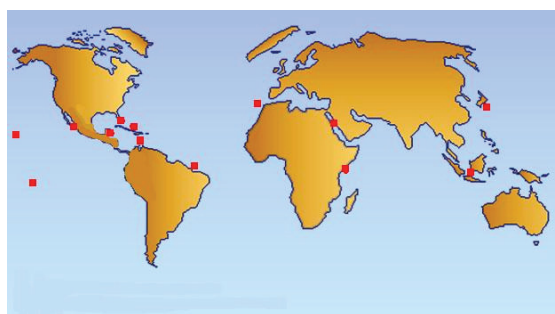


Figura 4. Distribuição geográfica de *Lysmata amboinensis*

3.4 Morfologia e anatomia

O género *Lysmata* apresenta um tegumento pouco rígido. O rostro apresenta dentes dorsais e, geralmente também, dentes ventrais, sem lâmina ventral. A carapaça não possui espinhos supra-orbitais, hepáticos e branquiestegais, mas apresenta espinhos antenares e, ocasionalmente, espinhos pterigo-estomianos. O pedúnculo ocular não está oculto pela carapaça. As antenulas apresentam estilocéritos. O pedúnculo antenar não

ultrapassa o pedúnculo antenular. As mandíbulas não apresentam palpos ou processo incisivo. Os pereópodes não possuem exopóditos e apresentam epipóditos terminais em forma de gancho. O carpo do segundo par de pereópodes está subdividido em treze a trinta e seis artículos. O terceiro par de pereópodes dos machos funcionais não apresenta o dáctilo e própódio preênseis. O primeiro segmento abdominal não apresenta as pleuras bifurcadas. O telson possui dois pares de espinhos dorso-laterais (Chace, 1997).

L. amboinensis apresenta como características morfológicas principais: um escafocerito que ultrapassa ligeiramente o pedúnculo ocular; um rostró com 4 ou 6 dentes ventrais; os espinhos antenais são distintos da zona de depressão do ângulo ventral da órbita; uma carapaça com espinhos pterigo-estomianos na margem anteroventral; um estilocerito caindo um pouco para fora da margem distal do segmento da base antenular; os espinhos distais do escafocerito ultrapassando distintamente a margem da lâmina; o exopódito do terceiro maxilípede atinge a meia distância do antepenúltimo segmento; os carpos do segundo pereópode composto por dezassete a vinte e três segmentos (artículos)(Chace, 1992; Kotter, 1997).

Apresenta uma faixa dorsal de cor vermelha viva com uma banda branca central desde o rostrum até à cauda, onde se interrompe em pontos brancos (Delbeek, 1987), característica esta, distinta em *Lysmata grabhami* (fig 5).

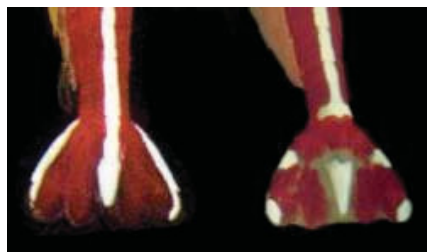


Figura 5. Padrão de cauda de *Lysmata amboinensis* (à direita) e de *Lysmata grabhami* (à esquerda) (in [10])

3.5 Ecologia

Os camarões limpadores *Lysmata amboinensis* são observados frequentemente em áreas rochosas abertas mas protegidas por grutas e outras cavidades, onde, geralmente, se posicionam nos tectos (Lubbock e Polunin, 1975). Esta espécie tem uma função bastante importante no meio natural onde participa numa relação de simbiose de limpeza com outro organismo, geralmente, um peixe, removendo parasitas, tecido

morto e todo o tipo de partículas indesejadas (Fletcher *et al.*, 1995a; Fiedler, 1998) sendo, por isso, conhecido como camarão limpador.

Os camarões, em geral, são descritos como omnívoros ou carnívoros, alguns camarões marinhos como bentofágicos com uma tendência para a carnívoros. Outras espécies, como *Macrobrachium* spp., são consideradas herbívoras (D'Abramo, 2002). Um aspecto comum a todos os camarões é a constante actividade em procura de alimento (Cuzon *et al.*, 2000).

3.6 Reprodução e crescimento

A espécie *Lysmata amboinensis* apresenta um complexo processo de reprodução à semelhança do descrito, pormenorizadamente, por Bauer (Bauer e Holt, 1998a; Bauer, 2001; Baeza e Bauer, 2004) para *Lysmata wurdemanni* sendo hermafrodita protândrico simultâneo (Yasir, 1995; Bauer e Holt, 1998b; Lin e Zhang, 2001a), o que quer dizer que ambos os animais de um casal podem ser machos ou fêmea, tendo gónadas desenvolvidas para cada sexo (Wunsch, 1996). Segundo (Correa e Thiel, 2003) existem dentro da família Hippolytidae cerca de 8 espécies que demonstram este tipo de hermafroditismo. Um individuo hermafrodita simultâneo tem uma grande vantagem no *fitness* pois em baixa densidade populacional tem a possibilidade de se cruzar com qualquer indivíduo da população (Lin e Zhang, 2001b).

A cópula em *Lysmata amboinensis* pode ocorrer imediatamente a seguir a uma muda da fêmea (Barnes, 1974; Delbeek, 1987). O macho deposita o seu esperma no receptáculo espermático da fêmea. Esta, segundo Barnes (1974), pode armazenar o esperma por um período de vários meses, durante o qual pode fertilizar os ovos com o esperma em reserva.

Durante a cópula o sémen é recolhido pelo primeiro par de pleópodes e transferido para a fêmea através do segundo par de pleópodes (Calado e Narciso, 2002). Os ovos fecundados ficam fixos aos pleópodes graças às secreções das glândulas adesivas que se encontram nos estérnitos abdominais das fêmeas (Barnes, 1974). Os adultos de *L. amboinensis* apresentam uma estreita ligação entre o ciclo da muda e a desova, ocorrendo, em geral, a muda sempre depois de uma desova (obs. pess.). Este comportamento reprodutivo leva a ritmos estáveis de produção de larvas com intervalos de desova repetidos no tempo e sempre associados ao evento da muda, como ocorre em muitos outros carídeos. O crescimento pode definir-se segundo Rosas *et al.* (2000) como uma resposta integradora, na qual se resumem as adaptações fisiológicas,

bioquímicas e moleculares dos organismos. Durante o desenvolvimento larvar, o crescimento parece ser controlado tanto por factores internos (e. g. Subramoniam, 2000; Smith *et al.*, 2000; Kiris *et al.*, 2005; Zapata-Perez *et al.*, 2005) como por factores externos (e. g. (Mugnier e Justou, 2004; Zhu *et al.*, 2004; Lemonnier *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2004) ao organismo. Assim, é necessário compreender todo o conjunto de interações para otimizar a sua criação em cativeiro.

3.7 Ciclo de vida e vida larvar

A espécie *L. amboinensis* tem um desenvolvimento larvar metamórfico, ou seja sofre um conjunto de modificações morfo-funcionais durante o seu desenvolvimento que foi descrito em completo por Wunsch (1996).

Em geral, a eclosão dos ovos de *L. amboinensis* ocorre à noite (obs. pess.) e as larvas tornam-se parte do plâncton. O seu primeiro estado larvar denomina-se de Zoea (com várias fases distintas morfologicamente, denominando-se por vezes por Zoea I, Zoea II,...) (Ver fig.6 e fig. 7).

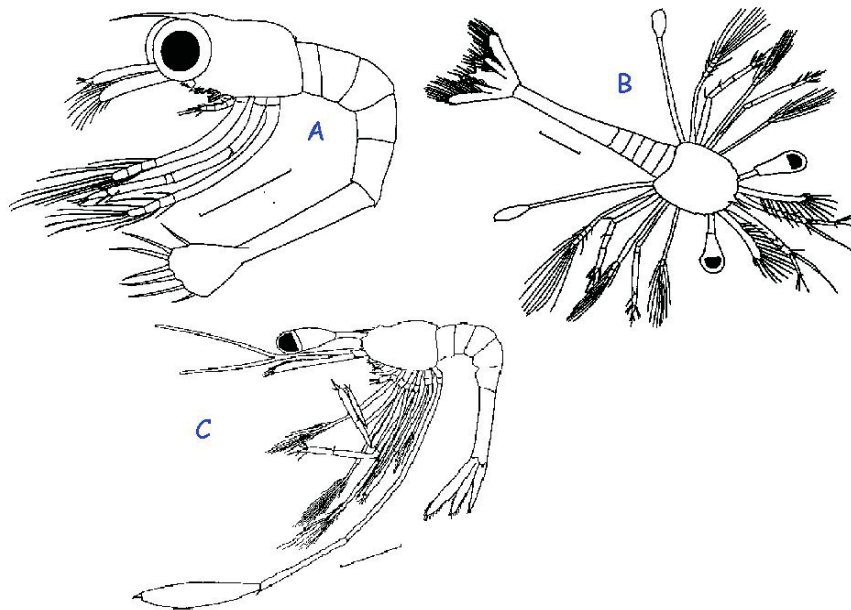


Figura 6. Fases larvares de *Lysmata amboinensis* (adaptado de Wunsch, 1996): A- Zoea I, escala 0,5mm; Zoea IV, escala 0,5mm; Zoea VI, escala 1mm.

As larvas de *L. amboinensis* desenvolvem uma cor vermelha durante os primeiros estádios devido á presença de cromatóforos (Rufino e Jones, 2001), durante o

primeiro estágio larval pode-se considerar como características principais, a presença de olhos sésseis e falta de urópodes (Fig X – A), só a partir de Zoea 2 (fig. X – B) é que os olhos se tornam pedunculados, e em Zoea 3 (Fig X – C) aparece um par de urópodes assim como a gema dos pereopodes 5, os quais se desenvolvem de tal forma que em fases seguintes chegam a apresentar maior tamanho que o próprio animal, uma característica presente no gênero e para a qual alguns estudos foram realizados, e que demonstraram que estas estruturas largas e em forma de “remo” são usadas pelas larvas para darem voltas de 360° relacionadas certamente com a seu comportamento alimentar e/ou com manobras de escape a predadores (Wunsch, 1996; Rufino e Jones, 2001). As principais características distintivas das diferentes fases larvares apresentam-se na Tabela II e identificadas na figura 8.



Figura 7. Larvas de *Lysmata amboinensis*. A – Zoea 1; B – Zoea 2; C – Zoea 3.

Tabela II. Características morfológicas de fases larvares para *Lysmata amboinensis* (adaptado de Kotter, 1997)

Estádio	Idade aprox. (días)	Duração aprox. (días)	Comprimento aprox. (mm)	Características morfológicas distintas
Zoea ₁	1	3-4	2,6	Olhos sésseis (sem pedúnculos), sem urópodes
Zoea ₂	6	3-4	2,9	Olhos pedunculados, sen urópodes
Zoea ₃	8	3-4	3,2	Urópodes presentes, os interiores continuam pequenos telson triangular, gema P5
Zoea ₄	13	3-4	3,4	P5 desenvolvido mas pequeno, telson quase rectangular
Zoea ₅	17	3-4	3,7	P5 bem desenvolvido, extremo em forma de pá desenvolvido, P2 desenvolvido, telson rectangular P5 igual a 1,5x comprimento do corpo, P3 completamente
Zoea ₆	19	3-4	4,6	desenvolvido, telson um pouco afilado, antena: flagelo tão longo quanto o pedúnculo P5 > 1,5x comprimento do corpo, P4
Zoea ₇	22	3-4	5,0	completamente desenvolvido, antena: flagelo 1,5x mais longo que o pedúnculo P3 e P4: propodes do endopodo
Zoea ₈	26	3-4	5,7	desenvolvido em forma de pá, antena: flagelo 2x mais longo que o pedúnculo

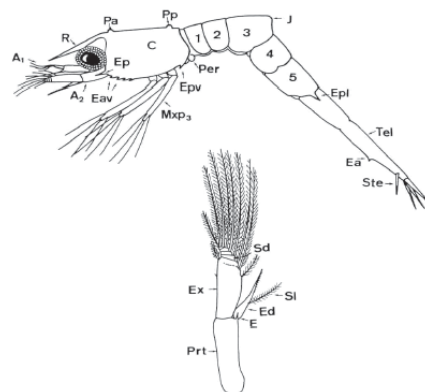


Figura 8. Nomenclatura das estruturas cuticulares e apêndices larvares adaptado de Negreiros-Fransozo *et al.* (1996) Em cima: Vista lateral de uma larva de camarão carídeo: C: carapaça; 1-5: somito abdominal 1-5; A1: anténula; A2: antena; Ea: espinho anal; Eav: espinho anteroventral; Ep: espinho pterigostomial; Epl: espinho posterolateral; Epv: espinho posteroventral; J: joroba; Mxp3: maxililípede 3; Pa: papila anterior; Pp: papila posterior; Per: pereiópodo; R: rostro; Ste: sedas do telson; Tel: telson. Em baixo: Vista dorsal de uma antena de camarão carídeo: Ed: endopodito; E: espinho; ex: exopodito; Prt: protopodito; Sd: segmento distal; SI: seda lateral.

Formatada: Justificado

Na natureza, estas larvas, depois de eclodir, passam um período muito longo na coluna de água como zooplâncton, garantindo uma dispersão adequada e permitindo uma escolha do substrato para o assentamento. Após uma série de fases larvares, os indivíduos voltam ao substrato, dando origem a uma pós larva denominada parva onde praticamente todas as estruturas dos adultos estão presentes (Crompton, 1992; Fletcher *et al.*, 1995a; Kotter, 1997).

Segundo (Le Vay *et al.*, 2001), as fases larvares dos crustáceos utilizam vários níveis tróficos nas estratégias de alimentação. De acordo com o mesmo autor, as espécies de carídeos apresentam em geral fases larvares carnívoras, o que se verifica em *Lysmata amboinensis* (Lin *et al.*, 2002). Torna-se importante salientar que estas larvas, como membros do plâncton se alimentam de zooplâncton, este por sua vez, constituído, na maior parte, por proteína (tab. III), assim esta deve ser incluída nas dietas destas larvas.

Tabela III. Quantidades nutricionais do plâncton em % de peso e seco e a energia em $J.mg^{-1}$ (adaptado de Le Vay (2001).

	fitoplâncton	zooplâncton
Proteína	33	54
Carboidratos	23	16.5
Lípidos	5.7	16
Energia	13.9	21.8

4. Cultivo em cativeiro

Em qualquer sistema aquícola é necessário aproximar as condições de cativeiro ao biota natural da espécie (Burford *et al.*, 2004). Para o sucesso da criação em cativeiro é também importante conhecer a biologia reprodutora e o desenvolvimento larvar da espécie em questão, através do estudo e aplicação de técnicas adequadas para indução do comportamento reprodutor, para a incubação e a maturação em cativeiro (Landau, 1992).

Perceber os parâmetros físico-químicos da água torna-se essencial, pois segundo Landau (1992), a qualidade de água, a sua manutenção, monitorização e a sua fonte são necessariamente os factores mais importantes para o sucesso de qualquer sistema de aquacultura. Um organismo poderá ser afectado negativamente quando colocado num meio com características abióticas fora das indicadas para essa espécie, o que provoca uma redução da sua imunidade e resistência contra certos microrganismos patogénicos (Wang e Chen, 2004). Isto pode ocorrer com o aumento da concentração de certos compostos resultantes da excreção do organismo, nomeadamente, os compostos azotados, que poderão aumentar a susceptibilidade de infecção, ou até, mesmo a morte devido ao seu efeito citotóxico (Tseng e Chen, 2004) e também com flutuações na concentração salina (Wang e Chen, 2004).

A temperatura tem um papel preponderante no desenvolvimento larvar. Com temperaturas mais elevadas do que nas condições do meio natural, pode encurtar-se o período de desenvolvimento (Martins e Calazans, 2003). O aumento da temperatura aumenta a dissolução de sais na água, o que pode provocar, no meio, situações tóxicas para os organismos. No entanto, a diminuição brusca da temperatura pode provocar choques térmicos e mesmo a morte. Mudanças no pH poderão causar distúrbios homeostáticos na fisiologia do animal (Landau e Sanchez, 1991).

Devido à sensibilidade de certos organismos a mudanças, no meio, é necessário, no caso de se pretender introduzir um organismo num novo sistema, aclimatizá-lo às novas condições de vida. O período de aclimatização deverá ser ajustado para cada espécie (Landau, 1992).

O camarão limpador, no estado adulto, apresenta uma boa resistência em aquário, apesar de ser sensível a mudanças bruscas, em qualquer factor ambiental, tanto químico (*e. g.* variações para elevadas concentrações de metabolitos resultantes de

excreção), como físico (e. g. variação da temperatura) ou biológico (como a introdução de predador).

Devido ao seu papel de limpador pode ajudar a libertar de certa forma pressão sobre o sistema de filtragem do aquário. Quando mantidos em cativeiro aceitam qualquer tipo de comida congelada ou seca, apesar de existirem preferências (Yasir, 1995; Wunsch, 1996; Kotter, 1997; Simoes *et al.*, 1998).

4.1 Nutrição

Segundo Gutiérrez (2002), o alimento e respectiva composição nutricional variam de espécie para espécie e, em cada espécie, varia entre as várias fases do ciclo de vida, denominando-o por Alimento Espécie-Estádio-Específico. Isto deve-se a diferentes regimes alimentares, tanto entre espécies como entre estádios diferentes, na mesma espécie. Por exemplo, os animais carnívoros têm uma maior necessidade de proteína de origem animal na sua dieta, sendo, por vezes, catastrófica a administração de proteína vegetal (Cruz-Suárez *et al.*, 2005).

Determinar, com exactidão, quais são os requerimentos nutricionais dos crustáceos torna-se muito complicado, devido a perda de nutrientes das dietas quando se dissolvem na água e a grande variedade de espécies. De qualquer forma, pode determinar-se um padrão de dieta típica geral (Hardman, 1999).

Com excepção das vitaminas, ácidos gordos essenciais, e carotenoides, pouco se conhece sobre os requerimentos nutricionais das larvas de carídeos, tais como hidratos de carbono e proteínas (Meyers, 1996)

Os camarões carídeos, mais bem estudados, como *Palaemon* sp. e *Macrobrachium* sp., são carnívoros desde o primeiro estágio larvar, apresentando mandíbulas bem desenvolvidas e selectividade em relação às presas (Meyers e Latscha, 1997). A maioria aceitará qualquer alimento particulado desde que seja quimicamente atractivo, já que os crustáceos são muito sensíveis a pistas químicas (Vincent, 1989).

Em relação às proteínas é necessário estudar as proporções presentes nas dietas para cada espécie, pois os níveis óptimos de proteína estão muitas vezes abaixo do que é fornecido, o que implica uma redução na proporção proteica e consequente diminuição de perda de nutrientes para a água.

A necessidade de proteína pode estar relacionada ainda à forma de estrutura desta e à sua constituição em aminoácidos já que, diferentes espécies requerem diferentes perfis de aminoácidos. Em síntese, é necessário determinar o nível máximo

de proteína digestível para um crescimento máximo, em cada espécie (Cruz-Suárez *et al.*, 2005). Para camarões carídeos quase não existem estudos sobre esta área.

Quanto aos requerimentos em hidratos de carbono (HC), convém salientar que também variam de espécie para espécie. Segundo (Rosas *et al.*, 2000), a capacidade de uso e aproveitamento dos HC indicam as condições particulares a que cada espécie esteve sujeita durante a sua evolução. Por outro lado, os HC complexos representam uma importante fonte de estimulantes à resposta imunitária (Cuzon *et al.*, 2000).

Segundo González-Félix e Perez-Velazquez (2002), é necessário desenvolver esforços para um melhor entendimento do metabolismo dos lípidos nos camarões, as interações entre os vários tipos de lípidos e destes com outros nutrientes, de forma a perceber os requerimentos nutricionais de lípidos, essenciais ao longo do ciclo de vida. Estes autores verificaram que os ácidos gordos altamente insaturados (denominados HUFAS “highly unsaturated fatty acid”) e os fosfolípidos, entre outros, são fundamentais na composição das dietas, para que se possa atingir um crescimento, eficiência alimentar e sobrevivência máximos em decápodes.

Os lípidos parecem ter um papel fundamental como reserva durante o desenvolvimento embrionário de carídeos. A necessidade de lípidos pode também indicar uma independência relativa de fontes de energia externas, durante os primeiros momentos de vida, já que a maior parte da quantidade presente inicialmente se mantém até próximo do momento de eclosão (Wehrmann e Graeve, 1998).

A concentração óptima de vitaminas, na dieta dos crustáceos não é claramente conhecida, apesar de se saber que são de vital importância pois estão intimamente ligadas a inúmeras reacções químicas nas células, mais concretamente nas reacções de oxidação e redução (Lehninger, 1987; Hardman, 1999).

Os pigmentos carotenos são comuns à maioria dos crustáceos. São necessários na formação do cefalotórax e na formação dos olhos, sangue, ovários e glândula intestinal (Anger, 2001). Como os carotenos são sintetizados apenas pelas plantas, tem que se incluir estes, ou os seus precursores, nas dietas para crustáceos (Meyers e Latscha, 1997; Lin *et al.*, 2002).

Vários autores (Simoes *et al.*, 1998; Lin e Zhang, 2001a) relatam que em cativeiro os camarões pertencentes ao género *Lysmata* demonstram uma grande flexibilidade alimentar, aceitando facilmente um leque variado de alimento vivo.

Os alimentos são escolhidos pelo seu valor nutritivo, proporções de aminoácidos, digestibilidade de proteínas, nível de suculência, avaliabilidade e o custo, entre outros (Cuzon *et al.*, 2002).

Segundo (Molina-Poveda *et al.*, 2002), os horários de alimentação devem ser ajustados com o ritmo circadiano de produção de enzimas digestivas, para favorecer a digestão dos alimentos, e assim obter um máximo aproveitamento destes. Os estados de muda, poderão, também, alterar o regime alimentar (Vega-Villasante *et al.*, 2000), tornando-se necessário ajustar o alimento de acordo com a fase do ciclo de muda já que, por vezes, os animais comem menos (Molina *et al.*, 2000; Molina-Poveda *et al.*, 2002). Em *Lysmata debelius* verificou-se que a mudança de uma dieta baseada em poliquetas e bivalves frescos se traduziu num aumento da produção de larvas, mas em *Lysmata amboinensis* e *Lysmata wurdemanni*, esta mudança de dieta não pareceu surtir qualquer efeito (Holt, 2001).

De acordo com (Cuzon *et al.*, 2002), o controlo correcto da alimentação oferece vários benefícios, desde uma optimização dos custos da produção até uma diminuição do tempo em que o alimento fica na água antes de ser consumido, reduzindo a perda de nutrientes para a água e respectiva contaminação.

4.2 Índices da condição nutricional e fisiológica

Um dos índices utilizado como forma indicadora da condição nutricional das larvas de decápodes é a razão Triacilgliceridos (TAG): colesterol. Nas larvas de decápodes os lípidos neutros como os TAG representam a principal fonte de energia com também a forma predominante de reservas (Fraser, 1989; Anger, 2001). O colesterol é um importante precursor das hormonas esteroides assim como também faz parte da estrutura das membranas das células eucarióticas (Lehninger, 1987). Devido à função estrutural, este, em geral é independente do estado nutricional do organismo, constituindo um bom denominador para o índice devido à sua constância com o peso seco das larvas (Anger, 2001). Um outro indicador bastante utilizado é a actividade enzimática, mais especificamente a actividade enzimática da tripsina (Kumlu, 1997), já que esta está intimamente relacionada com a estratégia alimentar dos organismos (Anger, 2001).

4.3 Manutenção de larvas

A investigação sobre organismos ornamentais marinhos tem como principal objectivo reduzir e otimizar o tempo de crescimento até atingir o tamanho mínimo para venda. O maior problema, e aquele que apresenta o principal obstáculo na criação de espécies ornamentais com fim comercial, é o efeito de “bottleneck” das fases larvares (Wilkerson, 1995; Lin *et al.*, 2002). Em camarões carídeos a longa e variável fase larvar é excepcionalmente delicada (Wunsch, 1996), e espécies com fases larvares longas geralmente têm uma elevada mortalidade (Calado *et al.*, 2003a). Assim, um dos maiores problemas na aquacultura de camarões carídeos é a falta de conhecimento da sua biologia larvar, nomeadamente, o grande desconhecimento sobre o tipo de alimentação e condições de cultivo ideais.

Poucas espécies do género *Lysmata* têm sido cultivadas com êxito em cativeiro, e em consequência, existe muito pouca informação sobre o seu desenvolvimento larvar, sua fisiologia e ecologia, existindo assim uma enorme lacuna de conhecimento a nível das suas necessidades alimentares (Fletcher *et al.*, 1995b; Kotter, 1997; Zhang *et al.*, 1997b; Zhang *et al.*, 1998c; Hardman, 1999; Lin *et al.*, 2001; Rufino e Jones, 2001; Yasir, 2001; Simoes *et al.*, 2003).

Em geral, entre as tentativas de criação em cativeiro de camarões limpadores destacam-se os trabalhos de Blanchard (1992), de Wunsch (1996), de Kotter (1997), de Zhang *et al.* (1998c), de Palmtag e Holt (2001), de Calado *et al.* (2003b) e de Simões *et al.* (2003).

Em 1997 Kotter conseguiu cultivar *Stenopus hispidus* apesar do pouco sucesso (1 pós-larva ao fim de 142 dias). Outras tentativas de cultivar esta mesma espécie, mas com menos sucesso, foram as de (De Castro e Jory, 1983) que manteve larvas vivas durante 35 dias a densidades de 10 larvas por litro alimentadas com *Artemia* (4 a 10 nauplios por ml), e com uma sobrevivência de apenas 7 dias.

Blanchard (1992) tentou cultivar *Lysmata grabhami*, sem conseguir que as larvas ultrapassassem a fase de zoea VII.

Lysmata wurdemanni foi cultivado com sucesso pela primeira vez por (Riley, 1994), com tempos de desenvolvimento larvar menores em comparação com as demais espécies cultivadas (tab. IV).

Pós-larvas de *L. debelius* foram obtidas pela primeira vez em laboratório por (Wunsch, 1996) e (Kotter, 1997), usando métodos de cultivo semelhantes aos usados

para *Stenopus hispidus*. O período de desenvolvimento larvar variou entre 90 e 100 dias, obtendo 21 pós-larvas.

Estes organismos em cativeiro demonstram um período larvar longo (142 dias, tab. IV) para *Lysmata amboinensis* com estádios larvares delicados. De todos os camarões limpadores cultivados, *Lysmata amboinensis* é um dos que apresenta um período larvar mais longo, sendo ultrapassado por *Stenopus hispidus* que chega a ultrapassar os 210 dias antes da última muda metamórfica para pós-larva. No entanto existem espécies do género *Lysmata* com apenas 22 dias de desenvolvimento larvar - e. g. *L. wurdemanni* (ver tabela IV).

Tabela IV. Comparação de algumas características reprodutivas entre algumas famílias de carídeos e de Stenoponídeos.

Infraordem	Família	Espécie	Fecundidade	Intervalo entre desoves (dias)	Tempo de desenvolvimento larvar (dias)	Autor
Caridea	Hippolytidae	<i>Lysmata wurdemanni</i>	1202 (1707)	9-11	30-67	(Crompton, 1992; Crompton, 1994)
		“			90-110	(Zhang et al., unpublished)
		“			25-36	(Zhang et al., 1998b)
		“			43	(Kurata, 1970)
		“			22	(Calado et al., 2003a)
		“			110	(Goy, 1991)
		<i>L. amboinensis</i>			140	(Fletcher et al., 1995b)
		“		14-18		(Yasir, 1995)
		“	400 (1650)		142	(Kotter, 1997)
		<i>L. debelius</i>	350 (1650)		75-158	(Fletcher et al., 1995a)
		“	500 (1600)		99	(Kotter, 1997)
		“	400-500	14-16		(Yasir, 1995)
		“	500-3500	10-20	75	(Palmtag e Holt, 2001)
		<i>L. seticaudata</i>			43	(Couturier-Bhaud, 1974)
		“			27	(Calado et al., 2004)
		<i>L. rathbunae</i>			25-35	(Zhang et al., 1998b)
		“			14	(Wilkerson, 1995)
		“	50-700	9-12	19-26	(Wittenrich, 2002)
<i>Lysmata anchisteus</i>	30				(Knowlton e Alavi, 1995)	
<i>Exhippolysmata oplophoroides</i>	2742 (5.215)				(Chacur e Negreiros-Fransozo, 2005)	

	<i>Hippolyte nicholsoni</i>	25		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>Hippolyte zostericola</i>	104		(Negreiros-Fransozo <i>et al.</i> , 1996)	
	<i>Latreutes fucorum</i>	127		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>Thor manningi</i>	37		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>Tozeuma carolinense</i>	190		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>Trachycaris restricta</i>	431		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>Alpheus armillatus</i>	280		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>A. heterochaelis</i>	203		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>A. normanni</i>	328		(Corey e Reid, 1991)	
Alpheidae	<i>Synalpheus aeglas</i>	42		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>S. brooksi</i>	6		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>S. fritzmuller</i>	173		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>S. herricki</i>	46		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>S. longicarpus</i>	195		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>S. pectininger</i>	10		(Corey e Reid, 1991)	
	<i>Stenopus hispidus</i>		120-210	(Fletcher <i>et al.</i> , 1995a)	
	“	180	123	(Kotter, 1997)	
	“	2,557		(Chockley e St Mary, 2003)	
	“	1229 (2320)		(Zhang <i>et al.</i> , 1998a)	
Stenopodidea	Stenopodidae	“	11-15; 15-27	(Zhang <i>et al.</i> , 1997a)	
		<i>Stenopus scutellatus</i>		43-70	(Zhang <i>et al.</i> , 1997b)
		“	806-1589		(Lin e Shi, 2002)

O processo de cria larvar para *L. amboinensis* foi completado por Wunsch (1996) que, apesar disso, obteve uma elevadíssima mortalidade (99%). Para esta espécie são relatados vários problemas, entre eles, o longo período larvar e uma grande dificuldade em conseguir induzir a última muda, quando a larva Zoea 10, planctónica, passa para Pós-Larva 1, bentónica (Simoes *et al.*, 2003). Por outro lado, é comentado o canibalismo entre larvas de *Lysmata* (Kotter, 1997; Rufino and Jones, 2001) que, segundo Knowlton e Alavi (1995), pode ser devido a falta de alimento disponível. Segundo Kotter, (1997) esta mortalidade, causada, intra especificamente, poderá ser evitada ou minimizada diminuindo a concentração de larvas por volume dado que, um menor número de larvas num dado volume diminui a probabilidade de duas larvas se encontrarem. De facto, segundo os resultados de Ramirez (2004) verifica-se existir uma relação inversamente proporcional entre a sobrevivência e a densidade de larvas de

cultivo, registando-se uma maior mortalidade nas densidades mais altas, parcialmente causada pela ocorrência de canibalismo e de *stress*. A densidade de larvas, num cultivo para os primeiros estádios larvares, deve ser, segundo Ramirez (2004), de 3 a 10 larvas l⁻¹. Podem observar-se as condições de cultivo de algumas das espécies de camarões ornamentais na tabela V.

Tabela V. Condições de cultivo de alguns camarões ornamentais.

Espécie	Densidade (larvas l ⁻¹)	Temperatura (°C)	Salinidade (‰)	pH	Volume (l)	Mudança de água (% diário)	Autor
<i>Lysemata amboinensis</i>	15	15, 20, 25, 30	34-35	7.9 – 8.4	2	100	(Kotter, 1997)
"	28.5	26	34-35	7.9 – 8.4	2	100	(Kotter, 1997)
"		± 27	± 32	± 8.2			(Fletcher <i>et al.</i> , 1995a)
<i>L. debelius</i>	12.5 y 25	27-29	34-35	7.9-8.4	2	100	(Sangha, 1996)
"	25, 50, 75, 100	26-28	35.3-35.6	8.0-8.2	2	50	(Simoes <i>et al.</i> , 2003)
"	15, 30, 45, 50, 60	22, 24, 26, 28	20, 25, 30, 35	7,9-8,4	2	100	(Kotter, 1997)
"		± 27	± 32	± 8.2			(Fletcher <i>et al.</i> , 1995a)
"	14	25-28	33-37	8,0-8,2	18		(Palmtag e Holt, 2001)
<i>L. seticaudata</i>	18	22 ± 1	35 ± 1		200		(Calado, 2004)
<i>L. wurdemanni</i>	6	29	33-35		2,5		(Zhang <i>et al.</i> , 1998b)
"	1	26-30	30		0,2		(Zhang <i>et al.</i> , 1998b)
"	20 - 30	25-27	30-36		1-150	25-90	(Crompton, 1992)
"		28-30	30-35				(Creswell e Lin, 1997)
"		27-29	31-33		0,22		(Lin <i>et al.</i> , 2001)
"	1	27-28	31		20		(Zhang <i>et al.</i> , 1998c)
"	8	26±1	35±1				(Calado <i>et al.</i> , 2003a)
"	1-2	27	30		25-75		(Lin e Zhang, 2001b)
<i>L. rathbunae</i>		27		8,2	75		(Wittenrich, 2002)
<i>Exhippolysmata oplophoroides</i>	1	22-25	30		0,125	100	(Martins e Calazans, 2003)
<i>Stenopus scutellatus</i>	8	26.5-29	28-30		2,5	50	(Zhang <i>et al.</i> , 1997b)
"		27-28	32-36				(Lin e Shi, 2002)
<i>S. hispidus</i>		± 27	± 32	± 8.2			(Fletcher <i>et al.</i> , 1995a)

Em geral, em todas as tentativas de cultivo de larvas de carídeos, com potencial para o mercado de aquariorfilia marinha, registou-se elevada taxa de mortalidade, relacionada

com a alimentação e canibalismo, principalmente nos primeiros estádios larvares (Kotter, 1997).

Os intervalos de temperatura, salinidade, pH, volume usado e frequência de mudança da água são reportados na tabela V Simoes *et al.* (2003) testaram 4 temperaturas (15, 20, 25 e 30 °C) no cultivo de *L. debelius* e reportaram mortalidade total a 15°C e, mortalidade muito elevada, a 30 °C, indicando claramente os limites inferior e superior de temperatura, para o cultivo larvar desta espécie. As temperaturas reportadas pela maioria dos autores que trabalharam no cultivo larvário de espécies do género *Lysmata* encontram-se entre 27 e 29 °C. A salinidade pode oscilar entre 30 e 35 ‰, mas o pH varia entre 7,9 e 8,4 (tab. V). A renovação da água de cultivo parece ser um aspecto bastante importante no cultivo de larvas destes organismos e muitos autores referem uma renovação diária de 100%, explicada pela necessidade de água oceânica com turbidez reduzida. Por outro lado, esta mudança de água proporciona um bom método para fornecer o alimento vivo (náuplios de artemia, rotíferos, microalgas) permitindo disponibilizar sempre alimento fresco e com alto conteúdo energético(Simoes *et al.*, 2003).

4.4 Nutrição Larvar

Geralmente, a alimentação, durante as fases larvares, é substancialmente diferente da alimentação da fase adulta, sendo necessários alimentos com elevada qualidade, utilizando por vezes as fontes de nutrientes nativas da espécie (Cuzon *et al.*, 2002). O êxito do cultivo das diferentes espécies de camarão depende, em grande medida, de uma nutrição adequada e da forma em como o alimento é administrado aos animais, revelando especial importância na eficiência de conversão alimentar (Molina-Poveda *et al.*, 2002). A cultura das fases larvares de muitos crustáceos e peixes depende directamente da disponibilidade de alimento vivo, tanto animal como vegetal (D'Abramo, 2002) como também do tamanho da presa (Anger, 2001). Na figura 9 pode observar-se o tamanho de algumas das presas mais utilizadas no cultivo de larvas de *Lysmata amboinensis*, os rotíferos assinalados pela letra **A** e os nauplios de artemia assinalados pela letra **B**.

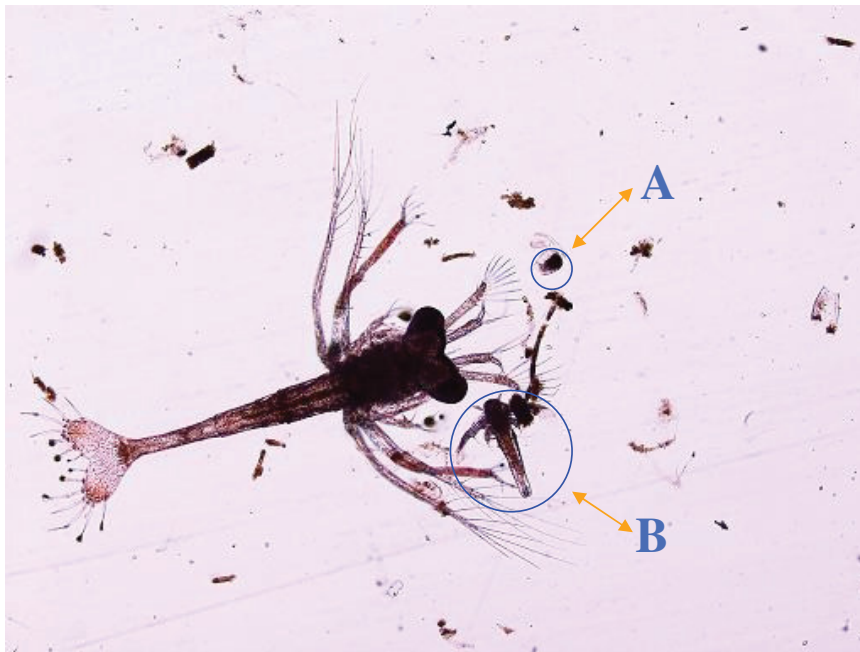


Figura 9. Zoea 1 de *Lysmata amboinensis* perante as suas presas. A – Rotífero (*Brachionus plicatilis*); B – nauplio de artemia (*Artemia fransiscana*)

De acordo com Fletcher *et al.* (1995b), durante as primeiras 6 horas de vida, as larvas de *Lysmata* perdem a coloração, reduzem a natação e podem morrer em 24 horas. Segundo estes autores, as larvas demonstram movimentos peristálticos ao nível do tubo digestivo terminal, indicando assim, uma ingestão de água e, possivelmente, uma capacidade de ingerir alimento. Esta hipótese pode sugerir que a actividade alimentar começa bastante cedo, de forma a suprimir as carências energéticas mesmo antes das reservas terem acabado, indiciando que a administração de alimento às larvas recém eclodidas poderá aumentar a sua sobrevivência (Simoes *et al.*, 2003).

O principal problema, com o crescimento das fases larvares, é que estas têm um tamanho muito reduzido, sendo por vezes tão pequenas que até têm dificuldade em ingerir rotíferos como primeiro alimento (Delbeek, 1987).

Segundo , todas as estratégias alimentares utilizadas, no cultivo larvar comercial incluem o uso de alimento vivo. Aproximadamente 20 espécies de algas são cultivadas, visando a alimentação de invertebrados marinhos, como rotíferos (o género mais utilizado é *Brachionus plicatilis*), copepodes (nomeadamente os géneros *Tigriopus*, *Calanus* e *Acartia*) e branquiopodos (em que o universalmente utilizado é

Artemia spp.), que servem de alimento às fases larvares dos mais variados organismos cultivados. *Isochrysis galbana*, *Chlorella* sp., *Nanochloris* sp., *Nanochloropsis* sp. e *Tetraselmis* sp., são espécies de algas, que se usam frequentemente para alimentar estas culturas acessórias de invertebrados (Lazo, 2000).

Em geral, a manutenção deste alimento vivo necessita de alguns cuidados, nomeadamente, trabalho e espaço (Lazo, 2000).

Segundo Matsuno (1991), uma dieta baseada exclusivamente em *Artemia* é suficiente para o desenvolvimento larvar da maioria dos carídeos quando reforçada com ácidos gordos e carotenos, para o crescimento rápido das larvas. No entanto, é necessário administrar a quantidade óptima de náuplios de artémia durante as fases larvares, o que otimiza os custos de produção e minimiza os problemas relacionados com a qualidade de água na larvicultura (Barros e Valenti, 2003), evitando assim perdas de nutrientes que poderiam contaminar o sistema. Por outro lado Zhang *et al.* (1998c) obtiveram em *Lysmata wurdemanni* maiores taxas de ingestão para uma concentração de artémia de 20 náuplios por ml, do que com concentrações de 2 a 5 náuplios por ml.

Os náuplios de *Artemia*, recém-eclodidos ou metanáuplios enriquecidos com distintos produtos têm sido a base da alimentação de larvas de carídeos (tab. VI), A composição nutricional dos quistos desencapsulados de artémia é similar para com os náuplios recém nascidos e ambos têm grandes coeficientes de digestibilidade (Landau e Sanchez, 1991). Também se têm usado rotíferos e nemátodos com bons resultados (Fletcher *et al.*, 1995b). De acordo com os esquemas de alimentação propostos por Fletcher (1995a) e Zhang *et al.*, (1997b), normalmente, não se proporciona alimento durante o primeiro dia de vida pois as larvas apresentam reservas vitelinas e ainda não têm a boca nem o tracto digestivo aberto ao ambiente exterior. Recentemente, Simões *et al.*(2003) contrariaram estas observações registando a inclusão de microalgas no tracto digestivo de larvas de *Lysmata debelius* a partir da eclosão.

Tabela 6. Protocolos de alimentação de larvas de *Lysmata* spp. e respectivas sobrevivências em distintos períodos de tempo experimental. “n” – náuplius de Artemia recém eclodidos, “meta” – metanáuplius de Artemia enriquecidos, “Ch” – microalga *Chaetoceros gracilis*, Nemátodes – espécie *Panagrellus redivivus*, * para nemátodos pigmentados, “DIS” – Dry Immune Selco, “Sc” – microalga *Skeletonema costata*, “Rr” – microalga *Rhinionas reticulata*, “Tc” – microalga *Tetraselmis chuii*.

Espécie	Fase larval	Tipo de alimento	Quantidade		Sobrevivência (%)	Período (días)	Autor
			(ml-1)				
<i>L.</i>							
<i>amboinensis</i>	Zoea ₂	Rotíferos	5		1.8	16	(Kotter, 1997)
“	“	Artemia n	4-5		1.2	16	(Kotter, 1997)
<i>L.</i>							
<i>wurdemanni</i>	Zoea ₂	Artemia n	5-10		2.5	12	(Zhang et al., 1998b)
“	“	Rotíferos	10-15		4.1		(Zhang et al., 1998b)
“	“	Ch	50x10-3-100x10-3		2.9		(Zhang et al., 1998b)
<i>L. debelius</i>	Zoea ₁₋₄	Nemátodes	5-10		31.1	22	(Kotter, 1997)
“	“	Nemátodes	5-10		73.3	16	(Kotter, 1997)
“	“	Nemátodes*	5-10		83.3	16	(Kotter, 1997)
“	“	Artemia n	5		21.1	22	(Kotter, 1997)
“	“	Artemia n	5		79.8	16	(Kotter, 1997)
“	“	Artemia meta.	5		76.7	16	(Kotter, 1997)
“	Zoea _{1,2}	Sem alimento	--		9 ± 5	4	(Simões et al., 2002)
“	Zoea _{1,2}	Artemia n + DIS	3		16 ± 7	4	(Simões et al., 2002)
“	Zoea _{1,2}	Artemia n + DIS + Sc	5 + 50		25 ± 4	4	(Simões et al., 2002)
“	Zoea _{1,2}	Artemia n + DIS + Rr	a5 + m50x10-3		28 ± 6	4	(Simões et al., 2002)
“	Zoea _{1,2}	Artemia n + DIS + Sc + Rr	a5 + m50x10-3		29 ± 3	4	(Simões et al., 2002)
“	Zoea _{1,2}	Artemia n + DIS + Tc	a5 + m50x10-3		53 ± 6	4	(Simões et al., 2002)
“	Zoea _{1,2}	Artemia n + DIS + Tc + Sc	a5 + m50x10-3		60 ± 6	4	(Simões et al., 2002)
“	Zoea _{1,2}	Artemia n + DIS + Tc + Rr	a5 + m50x10-3		50 ± 2	4	(Simões et al., 2002)
“	Zoea _{1,2}	Artemia n + DIS + Tc + Sc + Rr	a5 + m50x10-3		58 ± 8	4	(Simões et al., 2002)

O alimento vivo pode ser enriquecido directamente através da administração de micro dietas ricas em óleos em HUFAS, ou pode ser enriquecido indirectamente através do enriquecimento do alimento que alimentará as presas. Por exemplo, um fornecimento de uma levedura (enriquecida) rica em HUFAS, aos rotíferos e artémia (Lazo, 2000) que irão alimentar as larvas em cultivo. Garcia (2002) verificou que protozoas de peneídeos que ingeriram algas (*Tetraselmis chuii*), fertilizadas com farinha de minhocas (*Eudrilus eugeniae*), aceleravam o desenvolvimento em comparação com as alimentadas apenas com *Tetraselmis*, cultivada em meio inorgânico Miquel-Matue. O que, segundo o autor, pode ser devido, não só a um maior valor nutricional do alimento enriquecido como também a possibilidade dos organismos filtrarem partículas suspensas da mesma farinha, sendo enriquecidos de forma directa.

No mercado existem vários produtos que contêm ácidos gordos, tanto em forma de tioésteres como triglicéridos (*e. g.* Selco, SuperSelco e RotiMac). Também existem produtos baseados em algas ou protistas liofilizados, como o Algamac 2000. Outros produtos como AquaGrow com alto teor em fosfolípidos ricos em HUFAS também estão disponíveis no mercado (Lazo, 2000). Hardman (1999), indica que larvas de *Lysmata debelius* crescem mais quando alimentadas com nematodes enriquecidos com astaxantina, em comparação com larvas alimentadas com nematodes sem pigmentação. Isto sugere que pode ser importante incluir astaxantina nas dietas de larvas de *Lysmata debelius*.

Até ao momento não se conseguiu desenvolver uma dieta artificial para larvas que obtivesse resultados tão satisfatórios como com o alimento vivo (Lazo, 2000), mas o porquê de tal facto ainda não foi totalmente clarificado (García, 2000).

Segundo Lazo (2000) poderão ser apontadas várias razões para um insucesso das dietas artificiais em larvicultura:

- Carecerem de substâncias, nas quantidades apropriadas, que estimulem a sua ingestão de forma a suprimir as carências nutritivas durante o desenvolvimento larvar;
- Não terem conseguido estimular a secreção de zimogénios pelo tubo digestivo, ou por outro lado poderem ter inibido enzimas digestivas aí presentes;

- Poderem provocar danos estruturais nas paredes intestinais;
- Não proporcionarem certos nutrientes essenciais, como aminoácidos e ácidos gordos, vitaminas, e/ou certas substâncias estimuladoras do desenvolvimento e crescimento;
- Não apresentarem os nutrientes essenciais não se apresentarem numa forma estrutural facilmente digestível;
- Apresentarem proporções inadequadas dos nutrientes.

Segundo o mesmo autor, para que se possam desenvolver dietas apropriadas às larvas, é necessário:

- a determinação de níveis de inclusão e proporções de aminoácidos livres, péptidos e proteínas tomando-se em conta a digestibilidade do alimento, pois é provável que as larvas possuam uma necessidade elevada de aminoácidos livres durante os primeiros dias de alimentação exógena, seguida por uma maior necessidade de utilização de péptidos e finalmente possam realizar uma digestão eficiente de proteínas intactas;
- incluir lípidos nas dietas sem elevar muito o custo de produção;
- encontrar o equilíbrio adequado entre a fonte de ácidos gordos essenciais (como os HUFAs ω -3) e aqueles que não se consideram essenciais (como os monosaturados) e que sirvam de substrato para o metabolismo energético;
- avaliar a digestibilidade dos ingredientes *in vitro* e as interacções inibitórias que possam ter alguns deles para com as enzimas digestivas da espécie em questão;
- determinar compostos (ex. a betaína, alanina e/ou substâncias homólogas que cumpram a mesma função) ou/e técnicas alimentícias que incrementem o consumo das dietas artificiais;
- desenvolver dietas que estimulem a concentração de zimogéneos de enzimas digestivas de forma a incrementar a digestão;
- avaliar a utilização de probióticos que aumentem a eficiência da utilização das dietas artificiais em sistemas de cultivo.

Basicamente em qualquer alimento para larvas, que contenha proteínas, lípidos, hidratos de carbono e electrólitos, as interacções entre os constituintes devem ser bem

equilibradas a fim de se conseguir um sistema estável de acordo com as necessidades dos organismos (Pedroza-Islas, 2002).

De forma a otimizar a alimentação e o crescimento de organismos em cultivo, Carrillo (2000) propôs o uso de aditivos alimentares. Estes, segundo o mesmo autor, podem actuar, directamente, sobre os mecanismos fisiológicos, nomeadamente hormonas, aminoácidos, péptidos e compostos nitrogenados de baixo peso molecular ou, indirectamente, através do uso de antibióticos, imunomoduladores, probióticos, antioxidantes, enzimas digestivas, estimuladores do apetite.

É possível aumentar a resistência ao stress e às infecções bacterianas em larvas de peixes e de camarões pela administração, via oral, de imunoestimulantes. Esta administração pode ser feita através do enriquecimento do alimento vivo ou por substituição parcial de dietas artificiais com emulsões ou dietas secas enriquecidas com substâncias imunoestimulantes. Estes aditivos podem ser aplicados depois de um ataque bacteriano de forma a incrementar a sobrevivência, antes e depois da aclimatização ou do transporte de forma a fortificar os organismos (Dehasque *et al.*, 2002).

O termo probiótico é utilizado para descrever suplementos à base de organismos vivos. Dentro dos probióticos mais utilizados, actualmente, encontram-se as leveduras e as bactérias acidificantes (Aguirre-Guzmán, 1992). Segundo (Gomez-Gil *et al.*, 2000), é cada vez mais sustentada a hipótese de que certos microrganismos promovem o equilíbrio sustentável da flora intestinal, tanto de forma natural como quando estes são administrados na dieta como suplemento. Em aquacultura conhece-se a utilização dos probióticos em peixes, nomeadamente no cultivo de tilápias (Flores *et al.*, 2005).

Algumas bactérias têm sido usadas em cultura larvar de organismos aquáticos, introduzidas no sistema directamente ou através de organismos portadores como náuplios de artémia ou rotíferos, mas a sua selecção baseia-se maioritariamente em observações empíricas (Gomez-Gil *et al.*, 2000). Torna-se importante oferecer às larvas um ambiente saudável onde esteja incluída uma comunidade microbiana benéfica e equilibrada (Simões *com. pess.*). Por outro lado a eliminação das bactérias dos tanques de cultivo, ou o emprego de agentes anti-microbianos de forma a controlar as populações microbianas poderão trazer sérios problemas, já que falta esclarecer bastantes aspectos quanto ao

emprego de probióticos nomeadamente se serão perfeitamente seguros (Gomez-Gil *et al.*, 2000). Simões (2002) realça que os probióticos, quando administrados, poderão aumentar os níveis de amónia devido à decomposição do meio enriquecido para o crescimento bacteriano do próprio produto. O mesmo autor levantou uma série de questões, nomeadamente, sobre a possibilidade deste organismos actuarem como suplementos nutricionais, competidores de bactérias patogénicas, ou de os próprios se tornarem patogénicos. Estas questões precisam ser averiguadas experimentalmente para gerar respostas que possibilitem a implementação esclarecida dos probióticos na larvicultura em particular, e na aquacultura em geral.

5. Material e Métodos

5.1 Condições de cultivo

Água de mar natural foi usada tanto para a manutenção dos reprodutores como das larvas. A água do sistema dos reprodutores e do reservatório para a água das larvas foi mantida a 33-34‰ de salinidade (adicionando água doce quando necessário, já que a água do mar, que entrava no sistema em cada mudança, nunca baixou dos 37‰). A temperatura foi mantida a $28 \pm 0,5$ °C através de um termóstato dentro do reservatório, pelo ar condicionado e pelo ventilador do recinto experimental tanto nos tanques de reprodutores como no banho-maria dos ensaios experimentais.

Os parâmetros da água foram constantemente monitorizados, sendo a salinidade (através de um refractómetro) e a temperatura (com um termómetro) observadas diariamente (durante a manhã) e, parâmetros, como o pH, a dureza e os compostos azotados foram verificados semanalmente com um kit Tetratest da marca Tetra®. Ocasionalmente mediu-se o oxigénio dissolvido com um oxímetro (YSI 220), e o pH com um potenciómetro (Orion 150A) devidamente calibrados.

Todo o material utilizado foi sempre material esterilizado ou novo de forma a evitar possíveis contaminações.

5.2 Manutenção dos reprodutores

Um banco de sete pares de reprodutores (que se foram reduzindo devido a mortalidade, restando apenas dois pares ao fim de 6 meses), alimentados com alimento congelado de acordo com o esquema na tabela VII, 3 vezes por dia ($\pm 0,3$ g por animal).

Tabela VII. Esquema de alimentação dos reprodutores.

Horas	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	Sabado	Domingo
9h00	Artemia	Artemia	Artemia	Artemia	Artemia	Artemia	Artemia
14h00	Krill	Artemia	Poliquetos	Mysis	Artemia		
19h00	Mysis	Mysis	Krill	Krill	Mysis	Krill	Krill

Cada par foi mantido em aquários com fluxo de água constante a partir de um sistema de recirculação. O dispositivo era composto por um reservatório de 700 litros, e de um sistema de recirculação que incluía filtração (cerâmica e fibras), e um escumador de proteína (fig. 10).



Figura 10. Foto do sistema de manutenção dos reprodutores.

Cerca de 25% da água do sistema foi mudada de três em três dias adicionando-se em cada mudança uma porção de E.D.T.A. (Etilendiaminotetracetato Disódico 1mg l^{-1}) de forma a precipitar possíveis metais pesados presentes na água de mar nova. Os aquários (20largura x 30comprimento x 20Altura cm.) mantiveram-se em penumbra, imitando o *habitat* natural de *Lysmata amboinensis*, mediante a colocação de placas de acrílico negro nas faces laterais e como tampa do aquário, ficando apenas a parte frontal do aquário destapada, no interior do aquário colocaram-se uns tubos (5 cm diâmetro) feitos de rede, perpendiculares ao fundo do aquário, de forma a oferecerem um apoio aos animais. A água, antes de entrar para os respectivos aquários, foi oxigenada através de 3 pedras difusoras de 5 cm cada, dentro do reservatório, evitando-se o stress que acontece quando a água é areada dentro do aquário onde se encontra o organismo. A água entrava pela parte anterior do aquário através de uma mangueira de plástico de 0,4 cm de diâmetro, e por sua vez escoava através de uma abertura na parte superior da face frontal dos aquários, onde era recolhida em um recipiente (8,5Comprimento x 16Largura x 12Altura cm) passando primeiro por um recipiente cilíndrico de plástico submerso (8.5Diâmetro x 14Altura cm) e com aberturas cobertas de malha de $50\ \mu\text{m}$, que servia para recolher as larvas (fig. 11).



Figura 11. Recipiente de recolha da água e larvas provenientes do aquário com reprodutores.

Estas eram recolhidas à noite, cerca de três horas depois da primeira larva ter eclodido, pois segundo (Simoes *et al.*, 2003) a maior parte das larvas já foi libertada nesta fase, reduzindo ao mínimo o stress de se manterem demasiado tempo no recipiente de transição de água. O desagúe deste pequeno recipiente era recolhido por tubagem que regressava ao reservatório principal e respectivo sistema de recirculação. Desta forma foi possível capturar facilmente e constantemente as larvas eclodidas transportadas pelo fluxo de água, evitando assim a predação das larvas por parte dos seus progenitores (Simoes *et al.*, 2003).

5.3 Colecta e cría larvar

As larvas de *Lysmata amboinensis* depois de recolhidas do sistema de reprodutores foram contadas com a ajuda de uma pipeta Pasteur sobre uma superfície iluminada por luz branca, de forma a determinar a fecundidade. Em todas as experiências envolvendo a manutenção de larvas estas foram mantidas em matrizes de vidro de fundo redondo de 1000 ml a uma densidade de acordo com as experiências realizadas. Os matrizes eram enchidos até cerca de 800 ml com água de mar (34‰) a qual antes de se usar foi filtrada a 1 μm , e se manteve em recirculação constante com um esterilizador de luz ultra violeta e um filtro preenchido de fibras filtrantes e carvão activado. A água era mantida em um reservatório de 1100 litros onde também se adicionou, de cada vez que se reenchia, uma porção de E.D.T.A. (1mg l⁻¹). Posteriormente, adicionavam-se as larvas e

depois o alimento vivo (previamente medidos com provetas graduadas). Finalizando o processo os matrizes foram enchedos até aos ao limite de 1000 ml, previamente marcado em cada um deles. Os matrizes mantiveram-se num banho-maria, controlado com um termóstato a $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$. A areação manteve-se constante através de uma vareta de vidro conectada à mangueira de areação e introduzida até ao centro do fundo de cada matraz para proporcionar uma circulação de água homogénea. Cada matraz foi tapado com bolas de algodão envolvidas em gaze, com a finalidade de fixar a vareta e evitando que o meio fosse contaminado com objectos estranhos. O fluxo de ar manteve-se controlado com uma chave de ar mantendo um borbulhar lento mas suficiente (para evitar que as larvas sofressem dano tanto por um borbulhar excessivo, como por falta de ar ou agressão entre elas no caso de um borbulhar mais lento, pois permite contacto entre as larvas). Para garantir uma alimentação constante e as melhores condições de qualidade de água, fez-se uma mudança diária de água de 100%. Esta mudança era efectuada despejando a água do matraz numa tina de 2000 ml sobre uma mesa iluminada interiormente por uma luz branca o que permitia a captura de todas as larvas vivas presentes com ajuda de uma pipeta Pasteur invertida (com o maior diâmetro na extremidade que captura a larva). Estas recolocavam-se no matraz cheio até cerca de 800ml com água renovada e tratada, à qual se adicionava posteriormente o alimento numa concentração de acordo com cada experiência e enchia-se cada frasco até ao limite de 1000ml. Antes de reencher os frascos estes eram escovados e lavados.

5.4 Cultivos secundários

5.4.1 Artemia

Sempre que foi necessária a administração de náuplios de artémia (*Artemia franciscana*), foram colocados quistos a eclodir em água a 30‰ de salinidade e a 28°C de temperatura, com constante areação, 24 h antes do momento de alimentar, numa proporção de 1 g de quistos para 1 litro de água em um recipiente apropriado. Ao fim deste tempo, os náuplios eram lavados com água doce (choque osmótico para eliminar possíveis microorganismos infecciosos mas ao qual os náuplios de *Artemia* são

resistentes), e eram recolocados em água à mesma salinidade. Em seguida os naúplios eram separados dos quistos desencapsulados e por desencapsular através de selecção fototrópica. Depois de contadas as amostras (5 repetições de 1 ml fixadas com lugol) numa câmara de Bogorof e com ajuda de uma lupa da marca Zeiss®, administrava-se volume pretendido para a experiência às larvas de camarão em cultivo. O volume era calculado da seguinte forma:

$$V_c = (C_n)/C_r$$

Em que:

V_c – Volume de cultivo das larvas

C_n – Concentração de alimento necessário

C_r – Concentração real ou resultante

5.4.2 Microalgas

As microalgas necessárias as experiências eram cultivadas na área de algas do laboratório de biologia marinha experimental da Universidade Nacional Autónoma do México (UNAM) em Sisal, num sistema semi-contínuo, sobre uma iluminação fluorescente durante 24h diárias em recipientes cilíndricos de 100 litros de volume máximo, com areação constante. O volume de cultivo varia com a concentração presente de microalgas de forma a otimizar a produção.

Em todos as experiências que se realizaram com Zoea₁ adicionaram-se microalgas, a cada matraz numa concentração de 25.000/ml células de *Tetraselmis chuii* e 50.000/ml de *Chaetoceros gracilis* durante o primeiro dia de vida e de acordo com as indicações de (Simoes *et al.*, 2003).

A concentração de microalgas era todos os dias actualizada, fazendo-se a contagem por meio de um microscópio de marca Nova® observando uma pequena amostra de microalgas fixada em lugol numa câmara de Neubauer, contando as microalgas que se encontravam dentro das células desta câmara, focando a 10/0,25 sendo o valor resultante utilizado para calcular o volume a adicionar a cada matraz através da mesma formula descrita atrás para *Artemia*.

5.4.3 Rotíferos

Os rotíferos (*Brachionus plicatilis*) foram cultivados em tinas de 100 litros e alimentados diariamente com microalgas *Tetraselmis chuii* a uma concentração de 25,000/ml, a 25‰ de salinidade e 25°C de temperatura, com constante areação. Um pequeno volume era retirado e depois de uma lavagem através de uma rede de 50 µm e os rotíferos assim obtidos eram colocados em um recipiente limpo com água à mesma salinidade e temperatura. A contagem era feita da mesma forma acima descrita para a *Artemia*, com o valor resultante determinava-se o volume necessário do cultivo de rotíferos para alimentar as larvas.

Sempre que foi necessário, o alimento vivo foi enriquecido (com enriquecedores como Super Selco e DHA-Protein) de acordo com as instruções do fabricante (INVE®).

5.5 Observações das larvas em cultivo

A sobrevivência (como o número de larvas vivas) foi observada e registrada diariamente em todos os trabalhos experimentais, aquando a mudança de água.

Sempre que necessário medir larvas procedia-se ao sacrifício do lote de larvas a medir. O lote era lavado em água destilada e as larvas colocadas individualmente num pequeno papel de alumínio (fig. 12) e posteriormente foram secas na estufa a 60°C durante 48h. Após este período foram pesadas em uma microbalança ($\pm 0,001$ mg) e o peso foi calculado de acordo com a seguinte formula:

$$Pl = Pt - Pp$$

Em que:

Pl – Peso da larva

Pt – Peso total

Pp – Peso do papel

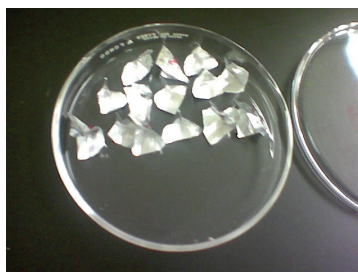


Figura 12. Conjunto de larvas no papel de alumínio individual prontas a pesar.

Para obter o comprimento das larvas em Zoea₁ mediu-se cada larva individualmente com ajuda de uma lupa Zeiss® a uma ampliação de 5x e com uma ocular micrométrica, devidamente calibrada e registou-se o comprimento. Através de uma escala obteve-se o comprimento real de cada larva.

Sempre que foi necessário registar os diferentes estádios das larvas ao longo do tempo as observações eram feitas a olho nu, já que as características que distinguem as larvas nos primeiros estádios de vida (até Zoea₅) são bastante conspícuas (tab. II).

5.6 Taxas fisiológicas

O consumo de oxigénio ($\mu\text{gO}_2 \text{ mg peso seco larva}^{-1} \text{ hora}^{-1}$ e $\mu\text{gO}_2 \cdot \text{hora}^{-1} \cdot \text{indivíduo}^{-1}$) foi medido com um eléctrodo polarográfico, que é sensível a tensão do oxigénio em água salgada. O decréscimo na tensão de oxigénio, resultante da respiração das larvas determinou-se num sistema cerrado de consumo de oxigénio de acordo com o procedimento planeado por Rosas *et al.* (1995). Os organismos foram colocados aos pares em câmaras respirométricas RC-300 de um microrespirómetro (Strathkelvin Instruments, Glasgow, UK), com 0,6 ml de água de mar do cultivo experimental. Doze câmaras respirométricas foram ligadas a um recirculador de água com uma temperatura controlada a 29°C (Fisher Scientific Isotherm Refrigerated Circulator, Modelo 900). As leituras foram tomadas depois de 20 minutos de aclimação das larvas às câmaras. As leituras de 10 câmaras, com organismos, foram registadas para cada par de organismos e para cada tratamento, com um intervalo de saturação de 80 a 100%, durante 6 minutos. As leituras de duas câmaras sem larvas foram utilizadas para corrigir os valores. Depois da medição do consumo de oxigénio, as larvas foram lavadas com água destilada e secadas a 60°C por 48 horas, de forma a obter um peso constante. Depois de secos, os organismos foram pesados de acordo com a metodologia atrás descrita.

5.7 Análises bioquímicas

Para a determinação da actividade enzimática (tripsina) e concentração de metabolitos (colesterol, acilglicéridos e proteína total), os extractos prepararam-se em tubos *eppendorff* a partir de 50 larvas por tubo do estágio Zoea₁ lavadas em água destilada e enxugadas. Para cada tratamento recolheram-se 3 repetições (3x50 larvas).

Sempre que foi necessário conservar as amostras para posterior análise, estas eram imergidas imediatamente após a sua recolha, em nitrogénio líquido (-70 °C) durante alguns segundos (5'') e depois guardadas num congelador industrial a -40°C. Aquando a análise adicionam-se 350 µl de água livre de pirógenos (a 4° C) ao respectivo tubo *ependorff* e se homogeneizava-se durante 1 minuto a velocidade máxima, tendo cuidado de manter o tubo *ependorff* dentro de um recipiente com gelo. Seguidamente, centrifugava-se por 20 minutos a 13 200 rpm (centrifugadora Centra MPIR programada a 4°C), e separava-se o sobrenadante (extracto crú) em tubos *ependorff* novos.

Os tubos *ependorff* mantiveram-se sempre em gelo de forma a manter frias as amostras (4°C) enquanto se fez a determinação das enzimas.

A actividade da tripsina foi medida pela hidrólise do substrato L-benzoil-Arginina-p-nitroAnilide (BAPNA) 1 mM num tampão TRIS 0.1 M pH 8 a 405 nm (Geiger e Fritz, 1988). Uma unidade de actividade específica da tripsina corresponde a 1 µmol de p-nitroanilide libertado por minuto.

A proteína total foi medida pelo método de Bradford (1976), utilizando um kit BioRad (USA) de acordo com as instruções do fornecedor.

Para a determinação dos acilglicéridos colocaram-se 10 µL de extracto em uma microplaca a que se adicionou 200 µL de solução reactiva do kit comercial Sera-Pak, Cat. 6684 (Tampão 50 mmol l⁻¹ pH 7; lipoproteinlipase > 50 U ml⁻¹; glicerocinase > 0,055 U ml⁻¹; glicerol-fosfato-oxidase > 2,0 U ml⁻¹; peroxidase > 3.0 U ml⁻¹; adenosina – 5'-trifosfato (ATP) 0,7 mmol l⁻¹; 4-aminofenazona 1,0 mmol l⁻¹; ferrosianuro potássico 7,0 µmol l⁻¹; sais magnésicos 0,6 mmol l⁻¹; N-etil-N-(3-sulfopropil)-m-anisina 1,2 mmol l⁻¹; surfactante 2,0 g l⁻¹). Incubou-se a reação a temperatura ambiente por 10 min. e registou-se a absorvância a 540 nm. A concentração de acilglicéridos (mg/ml) foi calculada a partir da curva *standard* comercial obtida com o respectivo kit.

O colesterol foi determinado colocando-se 10 µL de extracto numa microplaca e adicionando-se 200 µL de solução reactiva do kit comercial Sera-Pak, Cat. 6670 (Tampão fosfatos (PBS) pH 7,2, colesterol oxidasa > 170 U l⁻¹; colesterol éster hidrolase > 400 U l⁻¹; peroxidasa > 400 U l⁻¹; ácido 2-hidroxifenilacético 9 mmol l⁻¹; 4-aminio-

fenasona 0.5 mmol l^{-1} ; ferrocianeto potássico $7 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$; tensoacticos 6 g l^{-1}). As amostras incubaram-se à temperatura ambiente por 15 min. e registou-se a absorvância a 540 nm. A concentração de colesterol (mg.ml^{-1}) foi calculada com base na curva *standard* comercial obtida com o respectivo kit.

5.8 Ensaios experimentais em larvas de *Lysmata amboinensis*

5.8.1 Efeito da alimentação no primeiro dia de vida

Larvas provenientes de duas desovas foram sujeitas a dois regimes alimentares, um em jejum e um com alimento (*Tetraselmis chuii* a $25\,000.\text{ml}^{-1}$, *Chaetoceros gracilis* a $50\,000.\text{ml}^{-1}$, náuplius de artemia a 3 n.ml^{-1} e rotíferos a 10 r.ml^{-1}), numa experiência cujo desenho experimental se apresenta na tabela VIII. As larvas foram recolhidas após 3 horas a partir do momento em que a primeira larva eclodiu e de acordo com a metodologia de colecta de larvas atrás descrita. Depois foram colocadas num recipiente com areação constante e mantidas no regime alimentar específico a 28°C , água com 34‰ de salinidade e pH de 8,4-8,5. Nesse momento separaram-se 20 larvas (Zoea_1) para proceder à análise do consumo de oxigénio (10 repetições, 1 par de larvas por repetição) de acordo com a metodologia atrás descrita. Do mesmo lote recolheram-se 150 larvas (3x50) e procedeu-se a recolha de amostras para análises bioquímicas pelo processo já descrito. O processo repetiu-se forma para as 12h e para as 24h seguintes, tendo sempre o cuidado, no caso das larvas com alimento, de recolher apenas as larvas e mais nenhum organismo (já que a alimento das larvas é constituído por alimento vivo e consequentemente consumidor de oxigénio). O ensaio durou 24 horas.

De forma a detectar ou não diferenças estatísticas procedeu-se a uma análise de variância de duas vias (ANOVA factorial), com um análise de homogeneidade de variância e da normalidade dos dados antes da prova estatística (Zar, 1974) com uma prova *post-hoc* de Tukey de forma a distinguir as diferenças encontradas.

Tabela VIII. descrição do desenho experimental para a avaliação do Consumo de oxigénio e análise de alguns aspectos bioquímicos de larvas em jejum e com alimento no primeiro dia de vida

		Tempo			
		0h	12h	24h	
Regime	Em jejum	Análise fisiológica	10 repetições	10 repetições	10 repetições
		Análise bioquímica	3 repetições	3 repetições	3 repetições
	Com alimento	Análise fisiológica	10 repetições	10 repetições	10 repetições
		Análise bioquímica	3 repetições	3 repetições	3 repetições
Respostas	Fisiológicas	Consumo de oxigénio			
	Bioquímicas	Tripsina; Acilglicéridos; Colesterol; Proteína total			

5.8.2 O efeito de microalgas como primeiro alimento

Larvas provenientes de uma única desova foram sujeitas a 3 tipos de regimes alimentares distintos, de acordo com o esquematizado na tabela IX ; um ensaio negativo onde não foi fornecido alimento às larvas, um com microalgas flageladas *Tretraselmis chuii* 25 000 células/ml e um outro com diatomáceas *Chaetoceros gracilis* a 50 000/ml. As larvas foram recolhidas após 3 horas a partir do momento em que a primeira larva eclodiu e de acordo com a metodologia de colecta de larvas atrás descrita. Foram colocadas em matrizes de 1 litro, identificados e distribuídos aleatoriamente, mantidos a 28°C, 34‰ de salinidade e pH de 8,4-8,5, em banho-maria e a uma densidade larvar de 20 larvas/litro, com 7 réplicas por tratamento. Foi medido o consumo de oxigénio em dois tempos distintos (0h e às 24h) registando-se o respectivo peso seco. Também foram analisadas as mesmas componentes bioquímicas do trabalho experimental anterior.

Os resultados foram testados com uma análise de variância de duas vias (ANOVA factorial), com um análise de homogeneidade de variância e da normalidade dos dados

antes da prova estatística (Zar, 1974) com uma prova *post-hoc* de Tukey de forma a distinguir as diferenças encontradas.

Tabela IX. descrição do desenho experimental para a avaliação do efeito de microalgas como primeiro alimento.

		Tempo		
			0h	24h
Regime	Em jejum	Análise fisiológica	10 repetições	10 repetições
		Análise bioquímica	3 repetições	3 repetições
	<i>Tetraselmis</i>	Análise fisiológica	10 repetições	10 repetições
		<i>chuii</i>	Análise bioquímica	3 repetições
	<i>Chaetoceros</i>	Análise fisiológica	10 repetições	10 repetições
		<i>gracilis</i>	Análise bioquímica	3 repetições
Respostas	Fisiológicas	Consumo de oxigénio		
	Bioquímicas	Tripsina; Acilglicéridos; Colesterol; Proteína total		

5.8.3 Efeito de alimento enriquecido

Larvas provenientes da mesma desove foram distribuídas de acordo com a densidade de cultivo larvar (10 larvas) em matrizes de 1 litro, identificados e distribuídos aleatoriamente, mantidos a 28°C, 34‰ de salinidade e um pH de 8,4-8,5, em um banho-maria, em 5 repetições por tratamento (Tab. X). As larvas foram recolhidas após 3 horas a partir da eclosão da primeira larva e de acordo com a metodologia de colecta de larvas atrás descrita. Um tratamento com uma dieta de rotíferos enriquecidos com Super Selco (INVE®) a uma concentração de 50 rotíferos/ml e outro tratamento correspondente a mesma concentração de rotíferos mas sem enriquecimento, foram testados para a mesma densidade de cultivo larvar. No momento da mudança diária de água e respectiva

reposição de alimento no meio aproveitou-se para registar a sobrevivência. A experiência decorreu durante os primeiros dias de vida (5 dias) da larva.

Foi efectuada uma análise de covariância (ANCOVA), após verificação da homogeneidade de variância e da normalidade dos dados (Zar, 1974), para validação dos resultados .

Tabela X. descrição do desenho experimental para a avaliação do Consumo de oxigénio e análise de alguns aspectos bioquímicos de larvas em jejum e com alimento no primeiro dia de vida

		Alimento (rotíferos/ml)	
		50 enriquecido	50 não enriquecido
Densidade de larvas	10	5 repetições	5 repetições
Respostas		Sobrevivência;	

5.8.4 Efeitos da densidade de alimento e de larvas

Larvas provenientes da mesma desove foram distribuídas de acordo com a densidade de cultivo larvar (10 e 20 larvas) em matrizes de 1 litro, identificados e distribuídos aleatoriamente, mantidos a 28°C, com água a 34‰ de salinidade e um pH de 8,4-8,5, em um banho-maria, em 5 repetições por tratamento (tab. XI). As larvas foram recolhidas após 3 horas a partir do momento em que a primeira larva eclodiu e de acordo com a metodologia de colecta de larvas atrás descrita. Três concentrações de rotíferos enriquecidos com Super Selco (INVE®) foram testadas nas duas densidades de cultivo larvar. No momento da mudança de água diária e respectiva reposição de alimento no meio aproveitou-se para registar a sobrevivência. O ensaio decorreu durante os primeiros dias de vida (5 dias).

O tratamento de resultados foi efectuado por aplicação de uma análise de covariância com dois factores (ANCOVA factorial), após a verificação dos pressupostos do teste (Zar, 1974) com uma prova *post-hoc* de Tukey de forma a distinguir as diferenças encontradas.

Tabela XI. descrição do desenho experimental para a avaliação do Consumo de oxigénio e análise de alguns aspectos bioquímicos de larvas em jejum e com alimento no primeiro dia de vida

		Alimento (rotíferos/ml)		
		20	35	50
Densidade de larvas	10	5 repetições	5 repetições	5 repetições
	20	5 repetições	5 repetições	5 repetições
Respostas	Sobrevivência;			

5.8.5 Comparação de duas dietas de rotíferos enriquecidos com diferentes produtos comerciais

Larvas provenientes de uma única desova foram sujeitas a duas dietas distintas de rotíferos enriquecidos. Foram colocadas em matrizes de 1 litro, identificados e distribuídos aleatoriamente, mantidos a 28°C, com água a 34‰ de salinidade e um pH de 8,4-8,5, num banho-maria e a uma densidade larvar de 20 larvas/litro, com 7 réplicas por tratamento (tab. XII). As larvas foram recolhidas após 3 horas a partir do momento da primeira eclosão e de acordo com a metodologia de colecta de larvas atrás descrita. Uma dieta foi feita de rotíferos enriquecidos com Super Selco (INVE®) a uma concentração de 50 rotíferos/ml. A outra dieta consistiu em rotíferos enriquecidos com DHA-Protein (INVE®) a uma concentração de 50 rotíferos/ml. Correu-se a prova durante 5 dias a partir da eclosão. No final do tempo experimental mediu-se o consumo de oxigénio e o peso.

Os resultados foram testados estatisticamente por aplicação de uma análise de covariância (ANCOVA), após a verificação dos pressupostos do teste (Zar, 1974). Para as variáveis como o crescimento (em peso) e o consumo de oxigénio procedeu-se a uma prova de t-student (Zar, 1974).

Tabela XII. Descrição do desenho experimental para a avaliação do efeito de duas dietas baseadas em rotíferos enriquecidos com produtos comerciais.

		Dietas	
		Super Selco	DHA- Protein
Densidade de larvas	20	7 repetições	7 repetições
Respostas	Sobrevivência; Consumo de oxigénio; Crescimento		

6. Resultados

6.1 Ensaios experimentais em larvas de *Lysmataamboinensis*

As larvas de *Lysmataamboinensis* apresentam no primeiro dia de vida um peso médio de 37 ± 5 ug com um comprimento médio de $2,6 \pm 0,1$ mm, tendo um peso máximo de 46ug e comprimento máximo de 2,8 mm, um peso mínimo de 28ug e um comprimento mínimo de 2,5 mm (tab. XIII).

Tabela XIII. Peso e comprimento de larvas de *Lysmataamboinensis* no primeiro dia de vida.

	Médio	Máximo	Mínimo	Desvio padrão
Peso (ug)	37	46	28	5
Comprimento (mm)	2,6	2,8	2,5	0,1

Dadas as suas características reprodutivas de hermafroditismo protândrico simultâneo, as boas condições de qualidade de água e boa alimentação, os organismos entraram em um ciclo reprodutivo com desova entre (350-800 larvas) por organismo cada 14 dias aproximadamente.

6.1.1 Efeito da alimentação no primeiro dia de vida

Consumo de oxigénio

Os valores de consumo de oxigénio podem se observar na tabela XIV. O consumo de oxigénio individual ($\text{ugO}_2 \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) como o consumo de oxigénio por biomassa ($\text{ugO}_2 \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) aumentou com significância ($p < 0,05$) das 0h para as 24h tanto no tratamento sem alimento como no com alimento, verificando-se um valor máximo $2,2 \times 10^{-1} \pm 0,02$ para as larvas do tratamento com alimento. Este aumento de respiração ao longo do tempo foi significativo ($p < 0,05$), mas sem diferenças entre os tratamentos com alimento e sem alimento (tab. XIV).

Tabela XIV. Comparação entre as médias do consumo de oxigénio em distintos tempos do trabalho experimental 2 com alimento e em jejum. A letras iguais correspondem médias sem diferenças significativas. Resultados obtidos depois de um teste de Tukey.

	Fase	Tempo (h)	Sem Alimento	S.E.	Com Alimento	S.E.
Respiração (ugO ₂ .ind ⁻¹ .h ⁻¹)	Larvar	0	1,2x10 ⁻¹ a	0,02	0,7x10 ⁻¹ a	0,01
		12	1,9x10 ⁻¹ b	0,02	1,6x10 ⁻¹ b	0,02
		24	2,1x10 ⁻¹ b	0,03	2,2x10 ⁻¹ b	0,02
Respiração (ugO ₂ .mg ⁻¹ .h ⁻¹)	Zoea 1	0	2,0 a	0,39	2,9 a	0,68
		12	4,7 b	1,79	4,5 b	0,67
		24	10,0 c	0,42	7,5 c	1,26

Proteína total, triacilglicéridos, colesterol e o Índice de condição nutricional TAG: Colesterol

Os valores dos metabolitos podem-se observar na tabela XV. Os valores de proteína variam estatisticamente tanto no tempo como entre os tratamentos com alimento e sem alimento. O valor de proteína aumentou significativamente ($p < 0,05$) para as larvas alimentadas enquanto que para as larvas sem alimento os valores mantiveram-se sem diferenças em relação ao valor das 0h. Este aumento, nas larvas com alimento, verificou-se nas primeiras 12h de vida e manteve-se sem diferenças até às 24h. O maior valor de proteína foi verificado para as larvas com alimento às 24h ($5,1 \times 10^{-1} \pm 0,03$).

Os triacilgliceridos (TAG) mantiveram-se estatisticamente constantes ao longo do tempo, mas para as larvas com alimento o valor de TAG para as 12h é significativamente maior ($p < 0,05$) que o mesmo valor para as larvas sem alimento apesar de os valores ao longo do tempo se comportarem da mesma forma. O valor maior de TAG foi verificado para as 12h com o tratamento com alimento ($10,0 \times 10^{-2} \pm 0,01$) e o menor valor para as larvas sem alimento às 24h ($3,3 \times 10^{-2} \pm 0,01$).

Os valores de colesterol mantiveram-se estatisticamente constantes ao longo do tempo sem diferenças significativas entre os dois tratamentos.

Os valores de TAG:Colesterol não variam estatisticamente ao longo do tempo dentro de cada tratamento, mas o valor às 24h para as larvas com alimento foi mais elevado significativamente ($p < 0,05$) com o valor máximo de $7,9 \pm 1,3$ quando comparado com o valor para larvas sem alimento á mesma hora ($2,4 \pm 1,2$).

Tabela XV. Comparação entre as médias dos diferentes metabolitos em distintos tempos do trabalho experimental 2 com alimento e em jejum. A letras iguais correspondem médias sem diferenças significativas. Resultados obtidos depois de um teste de Tukey.

	Fase Larvar	Tempo (h)	Sem Alimento (SA)	S.E.	Com Alimento (CA)	S.E.
Proteína total (mg.ml ⁻¹)		0	4,2x10 ⁻¹ ab	0,02	3,6x10 ⁻¹ a	0,02
		12	3,3x10 ⁻¹ a	0,03	5,0x10 ⁻¹ b	0,02
		24	3,3x10 ⁻¹ a	0,01	5,1x10 ⁻¹ b	0,03
Triacilglicerol (TAG)(mg.ml ⁻¹)		0	5,2x10 ⁻² ab	0,02	7,5x10 ⁻² ab	0,01
		12	6,3x10 ⁻² ab	0,01	10,0x10 ⁻² b	0,01
		24	3,3x10 ⁻² a	0,01	7,1x10 ⁻² ab	0,01
Colesterol (mg.ml ⁻¹)	Zoea 1	0	1,1x10 ⁻² a	0,00	1,9x10 ⁻² a	0,01
		12	2,9x10 ⁻² a	0,01	3,1x10 ⁻² a	0,01
		24	2,6x10 ⁻² a	0,02	0,9x10 ⁻² a	0,00
TAG:Colesterol		0	4,6 ab	1,22	3,5 ab	1,75
		12	5,4 ab	0,45	2,3 ab	0,69
		24	2,4 a	1,19	7,9 b	1,29

Actividade enzimática (tripsina)

Os valores de actividade específica da tripsina podem ser observados na tabela XVI. A actividade específica da tripsina não apresentou diferenças estatísticas durante nos diferentes tempos nem entre os tratamentos ($p>0,05$). O valor mais elevado de tripsina foi às 12h tanto para o tratamento com alimento ($3,9 \times 10^{-1} \pm 0,003$) como para o tratamento sem alimento ($3,9 \times 10^{-1} \pm 0,003$) apesar de a diferença não ser estatisticamente diferente.

Tabela XVI Comparação entre as médias da actividade enzimática (tripsina) em distintos tempos do trabalho experimental 2 com alimento e em jejum. A letras iguais correspondem médias sem diferenças significativas. Resultados obtidos depois de um teste de Tukey.

	Fase Larvar	Tempo (h)	Sem Alimento	S.E.	Com Alimento	S.E.
Tripsina (U.mg prot ⁻¹)	Zoea1	0	3,7x10 ⁻¹ a	0,10	3,1x10 ⁻¹ a	0,02
		12	3,9x10 ⁻¹ a	0,03	3,9x10 ⁻¹ a	0,03
		24	2,4x10 ⁻¹ a	0,02	3x10 ⁻¹ a	0,03

6.1.2 O efeito de microalgas como primeiro alimento

Proteína total, triacilglicéridos, colesterol e o Índice de condição nutricional

TAG: Colesterol

Os valores de metabolitos podem ser observados na tabela XVII. A proteína total aumentou no tratamento com larvas alimentadas com *Chaetoceros gracilis* (CH) que apesar de este aumento das 0h para as 24h não ser significativo o valor às 24h é significativamente diferente dos valores dos tratamentos sem alimento e alimentadas com *Tetraselmis chuii* (TC) para o mesmo tempo. Assim o valor máximo de proteína registou-se para as larvas alimentadas com CH ($4,1 \times 10^{-1} \pm 0,009$) às 24h e o valor mais baixo para as larvas sem alimento às 24h ($3,0 \times 10^{-1} \pm 0,024$).

O maior valor de TAG foi registado para as larvas alimentadas com CH ($8,4 \times 10^{-2} \pm 0,003$) às 24h e o menor para as larvas sem alimento também às 24h, apesar de não haver diferenças estatísticas ao longo do tempo e entre os diferentes regimes alimentares ($p > 0,05$).

Os valores de colesterol mantiveram-se constantes ao longo do tempo e entre tratamentos.

O TAG:Colesterol apresentou valores mais elevados para todos os tratamentos às 0h do que às 24h apesar de não haver diferenças estatísticas.

Tabela XVII. Comparação entre as médias dos diferentes metabolitos em distintos tempos do trabalho experimental 2. A letras iguais correspondem médias sem diferenças significativas. Resultados obtidos depois de um teste de Tukey. S.A. – Sem alimento; TC – *Tetraselmis chuii*; CH – *Chaetoceros gracilis*.

	Fase Larvar	Tempo (h)	S. A.	S.E.	TC	S.E.	CH	S.E.
Proteína total(mg.ml ⁻¹) ¹⁾		0	$3,6 \times 10^{-1}$ ab	0,018	$3,6 \times 10^{-1}$ ab	0,018	$3,6 \times 10^{-1}$ ab	0,018
		24	$3,0 \times 10^{-1}$ a	0,024	$3,1 \times 10^{-1}$ a	0,018	$4,1 \times 10^{-1}$ b	0,009
Triacilglicerol (TAG)(mg.ml ⁻¹)	Zoea1	0	$8,0 \times 10^{-2}$ a	0,019	$8,0 \times 10^{-2}$ a	0,019	$8,0 \times 10^{-2}$ a	0,019
		24	$4,3 \times 10^{-2}$ a	0,006	$6,0 \times 10^{-2}$ a	0,007	$8,4 \times 10^{-2}$ a	0,003
Colesterol (mg.ml ⁻¹)		0	$2,5 \times 10^{-2}$ a	0,003	$2,5 \times 10^{-2}$ a	0,003	$2,5 \times 10^{-2}$ a	0,003
		24	$1,9 \times 10^{-2}$ a	0,009	$2,1 \times 10^{-2}$ a	0,006	$4,6 \times 10^{-2}$ a	0,007
TAG:Colesterol		0	3,4 a	1,133	3,4 a	1,133	3,4 a	1,133
		24	2,2 a	0,584	2,6 a	0,561	1,9 a	0,229

Actividade enzimática (tripsina)

A actividade específica da tripsina pode ser observada na tabela XVIII. A actividade específica da tripsina aumenta em todos os tratamentos das 0h para as 24h, apesar de esta diferença só ser significativa para as larvas alimentadas com TC que apresenta o valor mais elevado de actividade específica ($4,8 \times 10^{-1} \pm 0,03$). O valor das larvas alimentadas com *Tetraselmis chunii* às 24h é estatisticamente diferente dos valores dos restantes tratamentos à mesma hora ($p < 0,05$).

Tabela XVIII. Comparação entre as médias da actividade enzimática em distintos tempos do trabalho experimental 2. As letras iguais correspondem a médias sem diferenças significativas. Resultados obtidos depois de um teste de Tukey.

	Fase Larvar	Tempo (h)	Sem Alimento	S.E.	TC	S.E.	CH	S.E.
Tripsina (U.mg prot ⁻¹)	Zoeal	0	$2,2 \times 10^{-1}$ a	0,02	$2,2 \times 10^{-1}$ a	0,02	$2,2 \times 10^{-1}$ a	0,02
		24	$2,5 \times 10^{-1}$ a	0,06	$4,8 \times 10^{-1}$ b	0,03	$2,8 \times 10^{-1}$ a	0,03

6.1.3 Efeito de alimento enriquecido

Sobrevivência

Ao longo do tempo experimental (5 dias) o número de larvas vivas foi diminuindo (fig. 13) significativamente (tab. XIX).

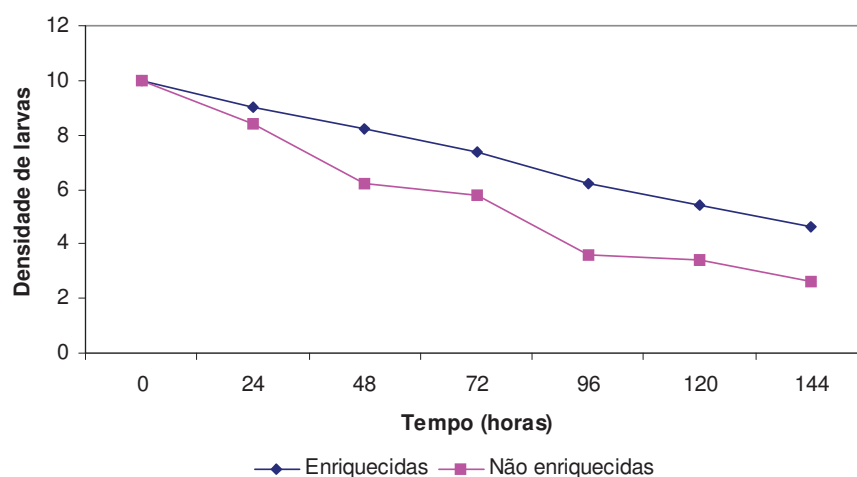


Figura 13. Sobrevivência (número de larvas vivas) ao longo do tempo experimental entre larvas alimentadas com rotíferos enriquecidos com HUFAs (Super Selco, INVE®).

As larvas alimentadas com os rotíferos enriquecidos apresentaram uma maior sobrevivência de larvas vivas ao longo do tempo (fig. 13) do que as larvas alimentadas com rotíferos sem enriquecer ($p < 0,05$) (Tabela XIX).

Tabela XIX. Resultado da Ancova simples entre as diferentes dietas do trabalho experimental 3 no período experimental de 6 dias em relação sobrevivência.

	SS	G. de liberdade	MS	F	p
Intercept	14,76505	1	14,76505	306,0951	0,000000
Tempo (horas)	1,76322	1	1,76322	36,5533	0,000000
Dietas	0,19460	1	0,19460	4,0343	0,049331
Error	2,74950	57	0,04824		

6.1.4 Efeitos da densidade de alimento e de larvas

Sobrevivência

Ao longo do tempo experimental (6 dias) o número de larvas vivas foi diminuindo (fig. 14) significativamente (tab. XX).

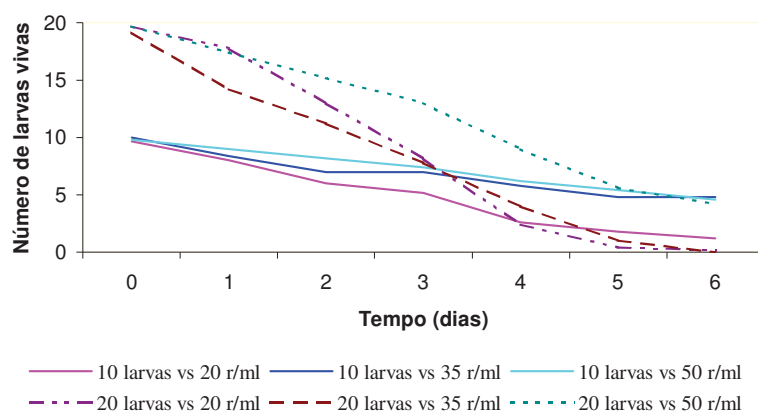


Figura 14. Sobrevivência (número de larvas vivas) ao longo do tempo experimental. r/ml - rotíferos.ml⁻¹.

As diferentes densidades de larvas (10 e 20 larvas) comportaram-se de igual forma ao longo do tempo experimental para a mesma concentração de alimento. Por outro lado o efeito das concentrações de alimento apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). A interação da concentração de alimentos com e a densidade de larvas verificou-se significativa.

Tabela XX. Resultado da ANCOVA factorial entre a densidade de larvas e concentração de alimento no período de 5 dias em relação à sobrevivência.

	G. de Liberdade	SS	MS	F	p
Intercept	1	546,9064	546,9064	1597,898	<0.001
Tempo	1	98,2153	98,2153	286,956	<0.001
Larvas	1	0,5443	0,5443	1,590	0,208749
Alimento	2	8,4573	4,2287	12,355	<0.001
Larvas*alimento	2	2,4606	1,2303	3,595	0,029236
Error	203	69,4800	0,3423		
Total	209	179,1575			

A maior valor de larvas vivas verificou-se numa densidade mais elevada de larvas assim como com a maior concentração de alimento (tab. XXI) sendo estatisticamente diferente ($p < 0,05$) dos restantes tratamentos com menor concentração de alimento para a mesma densidade de larvas. O mesmo tratamento não revelou diferenças significativas com os tratamentos de menor densidade larvar (10 larvas) com concentrações de alimento intermédias (50r/ml e 35r/ml) (tab. XXI).

Os valores para a maior densidade de larvas (20 larvas) e para concentrações de alimento intermédias (de 20 e 35 r/ml) foram mais baixos quando comparado com a menor densidade de larvas (10 larvas) para as mesmas concentrações de alimento (20 e 35 r/ml), mais elevados que para a menor densidade de larvas e a menor concentração de alimento, apesar de não serem estatisticamente diferentes (tab. XXI).

Tabela XXI. Comparação entre as médias dos diferentes tratamentos do trabalho experimental 1. A letras iguais correspondem médias sem diferenças significativas. Resultados obtidos depois de um teste de Tukey. r/ml – rotíferos/ml

Densidade de cultivo de larvas	Concentração de alimento	n	Média	Desv. Pad.	Erro	-95,00%	95,00%
10 larvas	10r/ml	35	1,55 a	0,56	0,09	1,76	2,15
10 larvas	35r/ml	35	1,95 bc	0,79	0,13	1,28	1,82
10 larvas	50r/ml	35	1,99 bc	0,59	0,10	1,79	2,20
20 larvas	10r/ml	35	1,76 ac	1,20	0,20	1,34	2,17
20 larvas	35r/ml	35	1,75 ac	1,14	0,19	1,36	2,15
20 larvas	50r/ml	35	2,29 b	0,95	0,16	1,97	2,62

6.1.5 Comparação de duas dietas de rotíferos enriquecidos com diferentes produtos comerciais

Sobrevivência

Ao longo do tempo experimental (120 horas) o número de larvas vivas foi diminuindo (fig. 15) significativamente (tab. XXII).

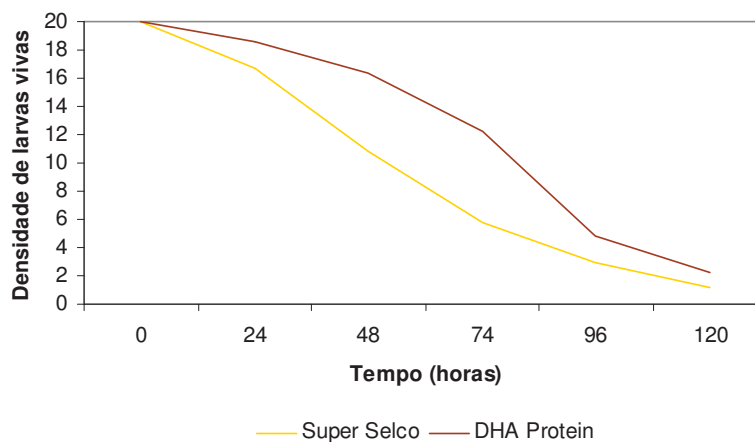


Figura 15. Sobrevivência (número de larvas vivas) ao longo do tempo experimental nas duas dietas.

O número de larvas vivas não apresenta diferenças significativas ao longo do tempo entre as larvas alimentadas por rotíferos enriquecidos com Super Selco (INVE®) como com as larvas alimentadas com rotíferos enriquecidos com DHA Protein (INVE®).

Apesar de não haver diferenças estatísticas as larvas alimentadas com DHA-Protein apresentam durante todo o período experimental uma maior sobrevivência, verificando-se a maior amplitude às 74h.

Tabela XXII. Resultado da ANCOVA simples entre as dietas no período de 5 dias em relação à sobrevivência.

	SS	G. de liberdade	MS	F	p
Intercept	293,8278	1	293,8278	795,9827	0,000000
Tempo	68,1759	1	68,1759	184,6893	0,000000
Dietas	0,7765	1	0,7765	2,1035	0,150824
Error	29,9002	81	0,3691		

Consumo de oxigénio

O consumo de oxigénio verificou-se mais elevado pelas larvas alimentadas com os rotíferos enriquecidos com DHA Protein (INVE®) do que das larvas alimentadas com rotíferos enriquecidos com Super Selco (INVE®), embora estas diferenças não se tenham revelado significativas. Estes resultados são confirmados quer para os valores por indivíduo ($\text{ugO}_2.\text{ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$) ou por biomassa “respirante” ($\text{ugO}_2.\text{mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) (tab. XXIII).

Tabela XXIII. Comparação do consumo de oxigénio entre as dietas ao fim de 5 dias de vida. A letras iguais correspondem médias sem diferenças significativas. Resultados obtidos depois de um teste de Tukey.

	Super Selco			DHA Protein		p
	n	$\text{ugO}_2.\text{mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$	desv. pad.	$\text{ugO}_2.\text{mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$	desv. pad.	
Z2	4	1,61	1,08	4,71	4,18	
Z3	5	2,31	2,21	6,57	5,76	
Média total		1,84 a	1,35	5,74 a	4,91	>0,05
	$\text{ugO}_2.\text{ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$			$\text{ugO}_2.\text{ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$		p
	n	desv. pad.	desv. pad.	desv. pad.	desv. pad.	
Z2	4	0,14	0,10	0,21	0,14	
Z3	5	0,05	0,03	0,34	0,16	
Média total		0,14 a	0,09	0,29 a	0,16	>0,05

Peso

Obtiveram-se diferenças estatísticas significativas entre o peso das larvas sujeitas aos diferentes tratamentos sendo superior o das larvas alimentadas com os rotíferos enriquecidos com Super Selco (INVE®) ($83,8 \pm 5.3 \text{ ug}$) no final do tempo experimental (120 horas) ($p < 0,05$) (tab. XXIV).

Tabela XXIV. Comparação do peso entre as dietas ao fim de 5 dias de vida. A letras iguais correspondem médias sem diferenças significativas. Resultados obtidos depois de um teste de Tukey.

	Fase larvar	n	Super Selco	desv. pad.	DHA Protein	desv. pad.	p
Peso (ug)	Z2	5	85,3	5,3	54,5	25,5	
	Z3	2	81	29,7	64,2	26,1	
	média total		83,8 a	14,0	59,5 b	23,32976	<0,05

7. Discussão

7.1 Ensaios experimentais em larvas de *Lysmata amboinensis*

O comprimento das larvas em Zoea 1 está próximo do que foi descrito por Wunch (1996) sendo maior que larvas de *Lysmata anchiteus* mas menor que larvas de *Lysmata seticaudata* como se pode verificar na tabela XXV, verificando-se a variabilidade dentro do mesmo género como sugerido por Bauer (2004).

Tabela XXV. Comparação do comprimento de Zoea 1 de *Lysmata amboinensis* com algumas espécies dentro do mesmo género.

	Comprimento (mm)	Autor
<i>Lysmata amboinensis</i>	2,7-2,8	Presente estudo
"	2,6	(Wunsch, 1996)
<i>Lysmata anchiteus</i>	2,2-2,3	(Knowlton and Alavi, 1995)
<i>Lysmata seticaudata</i>	3,09-3,24	(Calado <i>et al.</i> , 2004)

A forma como as larvas respondem às pressões ambientais depende do seu estado nutricional e respectivo investimento do progenitor na reprodução (Anger, 2001), pois sabe-se que em alguns carídeos grande parte das reservas lipídicas do ovo mantém-se até ao momento de eclosão (cerca de 70% do conteúdo do ovo em *Alpheus saxidomus*) (Wehrtmann e Graeve, 1998), possibilitando reservas à larva e respectivo endotrofismo durante o início da vida larvar (Anger, 2001). A maioria das larvas de crustáceos são planctontróficas (alimentam-se de plâncton), mas existem algumas que apresentam um endotrofismo ou lecitotrofismo primário, o que significa que contêm reservas energéticas endógenas suficientes para sobreviver e para sofrer metamorfose durante a primeira ou várias fases larvares (Jones *et al.*, 1997; Anger, 2001). Isto verifica-se em situações de indisponibilidade de alimento, como em zonas subpolares, de água doce ou a grandes profundidades (Gimenez e Anger, 2001; Anger, 2001; Calcagnol *et al.*, 2003; Anger e Schubart, 2005). Segundo Anger (2001), algumas das larvas endotróficas quando submetidas a factores de *stress* fisiológico podem necessitar de alimento via exógena para compensar os gastos, podendo mesmo não conseguir atingir a sua próxima fase larvar sendo obrigatória a presença de alimento.

7.1.1 Efeito da alimentação no primeiro dia de vida

Consumo de Oxigénio

As larvas de *Lysmata amboinensis*, em ausência de alimento, parecem resistir de igual forma ao facto de estarem ser submetidas ou não á presença de alimento, apresentando o mesmo comportamento respiratório. Este consumo de oxigénio aumenta significativamente ao longo do tempo o que parece indicar uma maior actividade metabólica das larvas devido a requerimentos fisiológicos. Não existindo diferenças entre os tratamentos indica-nos que a presença ou não de alimento não é um factor de stress sobre o metabolismo normal das larvas. Indicando assim que as larvas poderão estar a depender das suas reservas independentemente da presença ou não de alimento. A falta de alimento parece ser um obstáculo previsto no conjunto de capacidades de resposta na estrutura fisiológica destas larvas na natureza, o que pode ser apenas uma estratégia presente na sua história natural.

Proteína total, triacilglicéridos, colesterol e o Índice de condição nutricional TAG:Colesterol

Apesar dos dados da respirometria manterem-se sem diferenças estatísticas ao longo do tempo, quando se observa o valor de proteína verifica-se que a presença de alimento realmente tem um efeito nas larvas no primeiro dia de vida, já que a quantidade de proteína foi significativa nas larvas às 24h de vida sujeitas a alimento no primeiro dia de vida do que a apresentada pelas larvas sem alimento ($p < 0,05$). Sabe-se que o alimento vivo dado ás larvas, principalmente, a artemia, é rico em proteína digerível (Kreeger *et al.*, 1991) o que poderá justificar o aumento significativo de proteína para as larvas com alimento, indicando a ingestão deste.

Nas larvas de decápodes, os lípidos neutros como os TAG representam a principal fonte de energia com também a forma predominante de reservas (Anger, 2001). Os valores de TAG também se diferenciam estatisticamente nas larvas alimentadas das larvas sem alimento. As larvas com 24h, com alimento, apresentam um valor mais elevado de TAG, o que indica menor gasto de TAG ou o mesmo gasto de TAG compensado pela ingestão de alimento. O valor de TAG nas larvas não alimentadas

diminui ao longo do tempo, apesar de não apresentar diferenças significativas ao longo do tempo. Nas larvas com alimento os valores de TAG mantêm-se semelhantes aos das 0h mas apresentam diferenças significativas quando medidos às 24h. E comparados com as larvas sem alimento, o que indica que as larvas com alimento não estão a depender das suas reservas da mesma forma que as larvas sem alimento.

Os crustáceos parecem ser incapazes de sintetizar colesterol, pelo que este deve fazer parte das dietas (Anger, 2001), já que é um importante precursor das hormonas esteroides e faz parte da estrutura das membranas das células eucarióticas (Lehninger, 1987). O colesterol em geral é independente do estado nutricional do organismo daí os valores de colesterol não variarem ao longo do tempo nem com o regime alimentar, o que revela e suporta a função estrutural deste na biomassa do organismo (Fraser, 1989; Anger, 2001).

O TAG: Colesterol demonstra um decréscimo nos primeiros momentos de vida (primeiras 12h) que corresponde aos gastos das reservas em TAG pelas larvas. Nas larvas sem alimento o decréscimo continua até às 24h, enquanto que nas larvas com alimento o valor desta razão aumenta, registando mesmo, o maior valor às 24h. As larvas sem alimento encontram-se com uma maior vulnerabilidade nutricional visto estarem a consumir as suas reservas endógenas sem que haja uma compensação do exterior.

Actividade enzimática (Tripsina)

As larvas de carídeos que apresentam um regime carnívoro têm em geral baixa quantidade de tripsina no seu sistema digestivo talvez devido à grande digestibilidade do seu alimento planctónico (Kumlu e Jones, 1995; Sangha, 1996; Kumlu e Jones, 1997).

A actividade enzimática da tripsina (quando convertida para $\times 10^{-5} \text{UI.ug}^{-1}$ de peso seco para poder ser comparável aos da figura 16) (com valores de 0,75 tanto para as larvas com alimento como para as larvas em ausência de alimento) verifica-se que os valores são bastante baixos quando comparados com os da figura 16, só comparáveis aos das larvas de carídeos com estratégia alimentar tipicamente carnívora, o que está de acordo com as observações de Sangha (1996) para *L. debelius* e que suporta o facto das larvas de *L. Amboinensis* apresentarem um regime alimentar tipicamente carnívoro.

Quando observadas ao microscópico estas larvas não apresentam cordões fecais, o que pode estar a acontecer é que o tempo de permanência do alimento no tracto digestivo poderá ser bastante longo aumentando a capacidade digestiva e compensando a baixa actividade enzimática (Jones *et al.*, 1997; Kumlu, 1999).

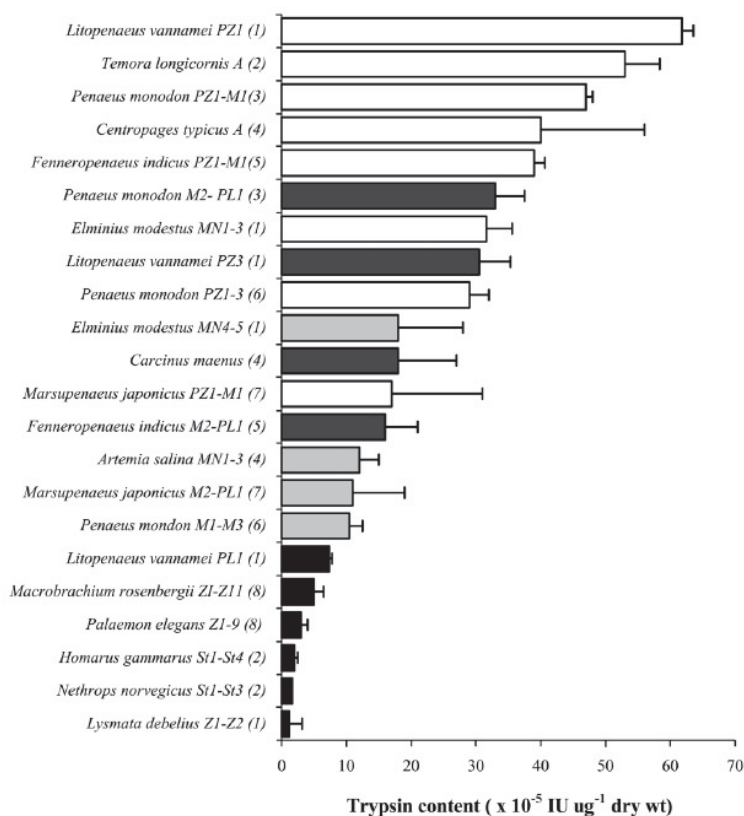


Figura 16. Conteúdo em tripsina de algumas espécies de decápodes, retirado de Jones *et al.* (1997). Barras a cinzento –Larvas omnívoras; Barras a branco—larvas herbívoras; Barras a Negro—Larvas carnívoras.

Vários autores (*e. g.* Fletcher *et al.*, 1995b; Zhang *et al.*, 1997b) relataram a presença de reservas suficientes para estas larvas sobreviverem ao primeiro dia de vida. Por outro lado Simões *et al.* (2003) contrariou estas observações registando a presença de microalgas no tracto digestivo de larvas de *Lysmata debelius*, poucas horas depois da eclosão. Na realidade podemos estar perante um caso de lecitotrofismo primário

facultativo ou, caso exista algum factor desconhecido, de lecitotrófismo obrigatório, como por exemplo *stress* fisiológico necessitando de ingerir alimento via exógena promovendo assim uma flexibilidade nutricional. Devido à falta de conhecimento das condições de cultivo ideais para *Lysmata amboinensis* existe sempre a possibilidade de que um factor de stress (*e. g.* temperatura, salinidade) possa estar a provocar algum *stress* fisiológico resultando que as suas reservas não sejam suficientes. Esta insuficiência poderá também ser causada devido a um investimento reprodutivo pobre por parte do progenitor, mas devido à boa alimentação e aos ciclos contínuos de desove observados esta hipótese é menos provável.

7.1.2 O efeito de microalgas como primeiro alimento

Proteína total, triacilglicéridos, colesterol e o Índice de condição nutricional TAG: Colesterol

As microalgas parecem desempenhar, em larvas de decápodes um papel importante na estimulação enzimática e colonização do tracto digestivo (Kumlu e Jones, 1993). Segundo Jones *et al.* (1997) a actividade enzimática proteolítica parece ser estimulada por alimentos com pouco conteúdo proteico como o fitoplâncton, sendo uma forma de maximizar a assimilação do pouco conteúdo em proteínas.

Os níveis de proteína não apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo para todos os tratamentos, apesar de nas larvas sem alimento e alimentadas com *Tetraselmis chunii* (TC) ter diminuído e no tratamento com *Chaetoceros gracilis* (CH) ter aumentado sendo, neste caso, o valor das 24h estatisticamente diferente do obtido às 24h com os outros tratamentos. Isto justifica-se devido ao maior conteúdo proteico desta diatomácea relativamente ao da alga flagelada TC (Le Vay *et al.*, 2001).

Os valores de TAG diminuem devido a gastos das reservas visto estes constituírem a maior parte das reservas lipídicas destes animais (Fraser, 1989). O alimento com microalgas pode não satisfazer nutricionalmente, as larvas, justificando os gastos de TAG, ou as larvas podem ter um sistema digestivo não capacitado para aproveitar os nutrientes das microalgas (Anger, 2001).

O colesterol comporta-se de igual forma, como no ensaio experimental anterior, o que revela e suporta a função estrutural deste na biomassa do organismo (Anger, 2001).

Os valores do TAG: Colesterol indicam os gastos de TAG durante as 24h de vida, e como este valor diminui em todos os tratamentos, indica que uma dieta baseada em microalgas não parece ser suficiente para manter as reservas das larvas constantes ao longo do tempo, principalmente, porque, quando comparada com as larvas sem alimento não há diferenças significativas.

Activida enzimática (tripsina)

A actividade enzimática da tripsina encontrada para nas larvas de *Lysmataamboinensis* está de acordo com as observações de Jones *et al.* (1997) já que as larvas alimentadas com *Tetraselmis chui* (TC) apresentam um maior e significativamente diferente valor de tripsina nas 24h de vida, maximizando assim, a digestão e assimilação do pouco conteúdo proteico desta alga (Anger, 2001). Em contraste, o maior conteúdo proteico da diatomácea *Chaetoceros gracilis* parece não surtir efeito sobre a quantidade de tripsina assim como a ausência de alimento tal com acontece nas larvas com alimento no ensaio experimental 1.

A actividade enzimática da tripsina continua a demonstrar valores baixos tal como no ensaio 1. Estes valores quando comprados com os de Jones *et al.* (1997) (fig. 16) e de Sangha (1996) suportam novamente a carnívoria destas larvas como estratégia alimentar.

7.1.3 Efeito de alimento enriquecido

Os rotíferos não enriquecidos têm um baixo valor nutricional (Samocho *et al.*, 1989), e em vários trabalhos em que se tentou substituir alimento vivo de alto conteúdo energético e muito digerível por rotíferos, os resultados foram catastróficos, principalmente quando se fornecia apenas rotíferos como dieta base (Thomaz *et al.*, 2004). Os resultados do presente estudo estão de acordo com estas observações, pois as larvas alimentadas com rotíferos não enriquecidos sofreram uma maior pressão nutricional expressa em maior mortalidade, enquanto que os rotíferos enriquecidos tiveram um efeito mais positivo no cultivo apesar da elevada mortalidade também registada.

De facto, a elevada mortalidade na etapa larvar de algumas espécies de camarões carideos em cativeiro, principalmente durante as primeiras fases larvares, tem sido

reportada por vários autores (Fletcher *et al.*, 1995b; Kotter, 1997; Zhang *et al.*, 1997b; Zhang *et al.*, 1998c; Hardman, 1999; Lin *et al.*, 2001; Rufino e Jones, 2001; Yasir, 2001; Simoes *et al.*, 2003). Para as três espécies mais procuradas, *Lysmata debelius*, *Lysmataamboinensis* e *Stenopus hispidus*, isto deve-se a factores como o longo período de desenvolvimento larvar (100-210 dias), desconhecimento dos requerimentos nutricionais, e o carácter agressivo, grande voracidade e canibalismo que as larvas destas espécies apresentam.

7.1.4 Efeitos da densidade de alimento e de larvas

As observações indicam uma independência da densidade de larvas em relação á sobrevivência, ou seja, independentemente da densidade de larvas, pelo menos até 20 larvas, estas se encontrando com disponibilidade ideal de alimento vão sobreviver de igual forma. Estas observações contrariam as de Ramirez (2004), que verificou que a sobrevivência para larvas de *Lysmataamboinensis* estava intimamente ligada á densidade de larvas no cultivo, afirmando que a mortalidade aumenta de forma proporcional ao aumento da densidade de larvas no cultivo. Segundo este autor, a redução da densidade de larvas no cultivo diminui a probabilidade de encontro entre cada larva e assim diminui a probabilidade de que uma larva ingira, danifique ou infrinja com consequências letais para a segunda (Ramirez, 2004). Embora esta situação possa ocorrer para altas densidades de larvas, mas a baixas, como no estudo presente parece não ser determinante. Neste estudo verificou-se que a sobrevivência dependeu da relação entre a densidade de larvas e a concentração de alimento.

O tratamento com maior densidade de larvas e maior concentração de alimento apresentou a maior sobrevivência. Pode-se afirmar que para uma maior densidade de larvas deve-se encontrar a concentração ideal de alimento que lhes suporte uma disponibilidade óptima de presas.

7.1.5 Comparação de duas dietas de rotíferos enriquecidos com diferentes produtos comerciais

As dietas ambas ricas em HUFAs (“highly unsaturated fatty acid”) surtiram o mesmo efeito na sobrevivência ao longo do tempo experimental. Os lípidos parecem ter um papel fundamental como reserva durante o desenvolvimento embrionário de carídeos, apesar do seu papel não estar plenamente clarificado. A necessidade de lípidos pode também indicar uma independência relativa de fontes de energia externas, durante os primeiros momentos de vida já que a maior parte da quantidade presente inicialmente mantém-se até próximo do momento de eclosão (cerca de 70% em *Alpheus saxidomus*) (Wehrtmann e Graeve, 1998).

Na dieta com maior quantidade de HUFASs (Super Selco) (tab. XXIV) as larvas apresentaram um maior peso do que as larvas alimentadas com DHA Protein (tab. XXIV), o que se justifica pela facilidade que os lípidos são metabolizados e transportados, relativamente, às proteínas, sendo rapidamente constituídos em reservas, principalmente, na forma de TAG (Anger, 2001).

Tabela X. Quantidades nutricionais das dietas aplicadas no ensaio experimental 5.

	Super Selco	DHA Protein
Lípidos	min. 67.0%	min. 29%
Proteína	----	min. 28 %
DHA/EPA	1	2
Hufas	≥200 mg/g peso seco	≥75 mg/g peso seco
Vit. A	1.500.000 IU/kg	1.500.0000 IU/kg
Vit. D3	150.000 IU/kg	150.000 IU/Kg
Vit. E	3.600 IU/kg	7.200IU/Kg
Vit. C	800 IU/kg	20.000IU/Kg

Segundo González-Félix e Perez-Velazquez (2002), é necessário desenvolver esforços que visem um melhor entendimento do metabolismo dos lípidos nos camarões, assim como as interações entre os vários tipos de lípidos e destes com outros nutrientes, de forma a perceber os requerimentos nutricionais de lípidos essenciais ao longo do ciclo de vida. O mesmo autor no seu estudo verificou que os ácidos gordos altamente insaturados (HUFAs), os fosfolípidos, entre outros são fundamentais na composição das dietas, para que se possa atingir um crescimento máximo, eficiência alimentar e sobrevivência em decápodes.

Por outro lado, o consumo de oxigénio (por biomassa e por indivíduo) permaneceu sem diferenças significativas para as duas dietas, indicando que as larvas estão a gastar a mesma quantidade de oxigénio e que nenhuma das dietas está a acelerar a actividade metabólica relativamente á outra.

A maior sobrevivência registada para larvas alimentadas com o DHA-Protein, apesar de não ser estatisticamente diferente, justifica-se devido ao facto, de que, estas larvas na natureza alimentam-se de um zooplâncton que é rico em proteína (ver tab. III), indicando a necessidade de incluir proteína na sua dieta. Para alimentos ricos em proteínas é necessário estudar as proporções para cada espécie, pois os níveis óptimos de proteína são muitas vezes abaixo do que é fornecido, o que implica uma redução na proporção proteica e conseqüente diminuição de perda de nutrientes para a água.

8. Conclusão

Com este trabalho regista-se pela primeira vez, as taxas de consumo de oxigénio da Zoea 1, de Zoea 2 e Zoe 3, de *Lysmata amboinensis* assim como os valores de actividade enzimática e concentração dos metabolitos para Zoea 1.

O conjunto de resultados obtidos, para o diverso conjunto de parâmetros bioquímicos analisados, sugere que melhores resultados de cultivo serão obtidos com o fornecimento de alimento nas primeiras horas de vida das larvas. Em este alimento deve estar incluída a microalga flagelada *Tetraselmis chuii* (a uma concentração de 25.000.ml⁻¹) de forma a estimular a actividade enzimática da tripsina, optimizando a digestão da proteína no alimento vivo fornecido. Encerra-se assim a questão de que as larvas se alimentam ou não no primeiro dia de vida.

Por outro lado, e devido a estas larvas começarem a alimentar-se poucas horas depois de eclodir, deve-se efectuar a colecta larvar o mais próximo possível do momento em que todas as larvas já eclodiram, que de acordo com Simoes *et al.* (2003) ocorre cerca de 3 horas depois da primeira larva eclodir.

O alimento vivo fornecido deve ser rico em proteína digerível, pois este nutriente parece ser crucial para os primeiros momentos de vida larvar, assim como estimula o instinto predador das larvas.

Devido ao baixo conteúdo de tripsina encontrado nas larvas de *L. amboinensis* justifica-se a dependência de alimento vivo altamente energético e digerível como o caso artemia nos primeiros dias de vida.

As larvas de *Lysmata amboinensis* apresentam um lecitotrofismo, apesar de que não se clarifica se, se trata de um lecitotrofismo obrigatório ou facultativo, revelando-se fulcral encontrar as condições ambientais ideais, e reproduzi-las em cativeiro, pois só assim se possibilita que as larvas expressem toda a sua flexibilidade nutricional, revelando o lecitotrofismo obrigatório ou não, maximizando assim os tempos de desenvolvimento larvar assim, como também, minimizando as vulnerabilidades nutricionais destas.

A sobrevivência está intimamente relacionada com a concentração de alimento, que para larvas alimentadas com rotíferos, a maiores concentrações de alimento, resulta

em maior sobrevivência. Por outro lado, os rotíferos devem ser enriquecidos sempre que sejam utilizados como dieta base.

Os rotíferos enriquecidos são uma boa opção para os três primeiros dias de vida (para uma densidade de larvas de até 20 indivíduos e concentração de alimento de 50 rotíferos.ml⁻¹), podendo ser utilizados como dieta base, mas que ao longo do tempo deve ser suportada com maior variabilidade, tanto a nível nutricional como em tamanho, de alimento vivo como com nauplios de artemia e nematodes.

As larvas adquirem maior peso quando ingerem alimentos ricos em HUFAs mas a falta de proteína pode ser crucial par o bom desenvolvimento larvar.

Ao aplicar aos protocolos de cultivo os procedimentos descritos neste trabalho, se optimiza os gastos em alimento ao mesmo tempo em que se obtém uma melhor sobrevivência.

9. Bibliografía

- Abele, L., and Kim, W.** 1986. *An Illustrated Guide to the Marine Decapod Crustaceans of Florida*. Florida Department of Environmental Regulation, Technical Series 8. 780 pp.
- Aguirre-Guzmán, G.** 1992. Aplicación de probióticos en acuicultura. In: *Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 11 al 13 de noviembre de 1992, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- Anger, K.** (2001). *The Biology of Decapod Crustacean Larvae*. AA Balkema Publishers: Lisse, 405p.
- Anger, K., and Schubart, C. D.** (2005). Experimental evidence of food-independent larval development in endemic Jamaican freshwater-breeding crabs. *Physiol Biochem.Zool.* **78**, 246-258.
- Baeza, J. A., and Bauer, R. T.** (2004). Experimental test of socially mediated sex change in a protandric simultaneous hermaphrodite, the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **55**, 544-550.
- Barnes, R.** (1974). *Invertebrate Zoology*. Philadelphia, PA.
- Barros, H. P., and Valenti, W. C.** 2003. *Ingestion rates of the Artemia nauplii for different larval stages of Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 217, -1.
- Bauer, R.** (2001). Hermafroditismo en camarones: el sistema sexual y su relación con atributos socioecológicos. *Interciencia* **26**, 434-439.
- Bauer, R., and Holt, G.** (1998a). Simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae): an undescribed sexual system in the decapod Crustacea. *Marine Biology* **132**, 223-235.
- Bauer, R. T.** (2004). *Remarkable Shrimps: Adaptations and Natural History of the Carideans*. University of Oklahoma Press:
- Bauer, R. T., and Holt, G. J.** (1998b). Simultaneous hermaphroditism in the marine shrimp *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae): An undescribed sexual system in decapod Crustacea. *Marine Biology* **132**, 223-235.
- Blanchard, L.** (1992). Ornamental shrimp culture *Lysmata grabhami*.
- Bradford, M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal.Biochem.* **72**, 248-254.
- Bruce, A. J.** (1975). Coral reef shrimps and their color patterns. *Endeavour* **34**, 23-27.
- Bruce, A. J.** (1974). On *Lysmata grabhami* (Gordon), a widely distributed tropical hippolytid shrimp (Decapoda, Caridea). *Crustaceana* **27**, 107-109.
- Bruce, A. J.** (1983). *Lysmata debelius*, new species, a new hippolytid shrimp from the Philippines. *Rev.fr.Aquariol.* **9**, 115-120.

- Bruckner, A.** 2000. New threat to coral reefs: trade in coral organisms. *Issues in Science and Technology* Online: <http://www.nap.edu/issues/17.1/bruckner.htm> (consultado a 12 de Agosto 2005).
- Bryant, D., Burke, L., and McManus, J.** (1998). Reefs at Risk: A Map-based Indicator of Threats to Coral Reefs. *World Resources Institute, Washington DC, USA*.
- Burford, M., Thompson, P., Mcintosh, R., Bauman, R., and Pearson, D.** (2004). The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. *Aquaculture* **232**, 537.
- Burukovsky, R. N.** (2000). *Lysmata splendidae* sp. nov., a new species of shrimp from Maldives (Crustacea: Decapoda: Hippolytidae). *Senckenbergiana Maritima* **30**, 223-227.
- Calado, R., Bartilotti, C., Narciso, L., and Dos Santos, A.** (2004). Redescription of the larval stages of *Lysmata seticaudata* (Risso, 1816) (Crustacea, Decapoda, Hippolytidae) reared under laboratory conditions. *Journal of plankton research* **26**, 737-752.
- Calado, R., and Narciso, L.** 2002. *Camarões e Lagostas da Costa Continental Portuguesa*. Câmara Municipal de Cascais - Prémio do Mar Rei D. Carlos 2000, 222 pp.
- Calado, R., Lin, J., Rhyne, A. L., Araújo, R., and Narciso, L.** (2003a). Marine Ornamental Decapods - Popular, Pricey, and Poorly Studied. *Journal of crustacean biology*. **23** (4), 963-973.
- Calado, R., Morais, S., and Narciso, L.** (2001). *Temperate Shrimps: Perspective Use as Ornamental Species*. (Ed. varios.) pp. 118-9.
- Calado, R., Narciso, L., Morais, S., Rhyne, A. L., and Lin, J.** (2003b). A rearing system for the culture of ornamental decapod crustacean larvae. *Aquaculture* **218**, 329-339.
- Calcagnol, J., Thatje, S., Anger, K., Lovrich, G., and Kaffenberger, A.** (2003). Changes in biomass and chemical composition during lecithotrophic larval development of the southern stone crab *Paralomis granulosa*. *Mar.Ecol.Prog.Ser.* **257**, 189-196.
- Calfo, A., and Fenner, R.** (2003). 'Reef Invertebrates - Vol. 1: An Essential Guide To Selection, Care and Compatibility'. Reading Trees and WetWebMedia Publications, 400p:
- Carrillo, O., Vega-Villasante, F., Nolasco, H., and Gallardo, N.** 2000. Aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento de camarón. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán., Mexico.
- Carvacho, A., and Rios, R.** (1981). Los camarones carídeos del golfo de california. II. Catálogo, claves de identificación y discusión biogeográfica. *Anales del Instituto de ciencias del mar y limnología*.
- Chace, F. A. Jr.** (1992). On the classification of the Caridea (Decapoda). *Crustaceana* **63**, 70-80.
- Chace, F. A. Jr.** (1972). The shrimps of Smithsonian Bredin Caribbean Expedition with a summary of the west Indian shallow water species (Crustacea: Decapoda: Natantia). *Smithsonian Contributions to Zoology* **98**, 1-165.
- Chace, F. A. Jr.** (1997). The Caridean shrimps (Crustacea: Decapoda) of the Albatross Philippine expedition, 1907-1910, Part 7: Families Atyidae, Egonatonotidae, Rhynchocinetidae, Bathypalaemonellidae, Processidae, and Hippolytidae. *Smithsonian Contributions to Zoology* **587**, 1-106.

- Chacur, M. M., and Negreiros-Fransozo, M. L.** (2005). Aspectos biológicos do camarão-espinho *Exhippolysmata oplophoroides* (Holthuis, 1948)(Crustacea, Caridea, Hippolytidae). *Rev.Brasil.Biol.* **59**, 173-181.
- Chockley, B. R., and St Mary, C. M.** (2003). Effects of Body Size on Growth, Survivorship, and Reproduction in the Banded Coral Shrimp, *Stenopus hispidus*. *Journal of crustacean biology.* **23** (4), 836-848.
- Corey, S., and Reid, D. M.** (1991). Comparative fecundity of Decapod Crustaceans I. The fecundity of thirty-three species of nine families of caridean shrimp. *Crustaceana* **60**, 270-294.
- Correa, C., and Thiel, M.** (2003). Sistemas de apareamiento en camarones carideos (Decapoda: Caridea) y sus consecuencias evolutivas en el dimorfismo sexual y biología reproductiva. *Rev.chil.hist.nat.* **76**, 187-203.
- Couturier-Bhaud, Y.** (1974). Cycle biologique de *Lysmata seticaudata* Risso (Crustacé, Décapode) - III.- Étude du développement larvaire. *Vie Millieu* **24**, 431-442.
- Creswell, R. L., and Lin, J.** (1997). Cultivation of ornamental marine shrimp for the saltwater aquarium industry. Final Report to Florida Sea Grant, 65p.
- Criales, M. M.** (1979). Ecología y etología de los camarones limpiadores de peces *Periclimenes pedersoni* Chace y *Lysmata grabhami* (Gordon) en la Bahía de Santa María (Colombia). *Acta Científica Venezolana* **30**, 570-576.
- Criales, M. M., and Corredor, L.** (1977). Aspectos etológicos y ecológicos de camarones limpiadores de peces (Natantia: Palamonidae, Hippolytidae, Stenopodidae). *Annales Instituto Investigacion Marina de Punta Betín* **30**, 570-576.
- Crompton, W. D.** (1992). 'Laboratory culture and larval development of the peppermint shrimp, *Lysmata wudermanni* Gibbs (Caridea: Hippolytidae).' Corpus Christi State University.
- Crompton, W. D.** (1994). Laboratory culture and larval development of the peppermint shrimp, *Lysmata wurdemanni* (Caridea: Hippolytidae). *Pacific Science* **42**, 202.
- Cruz-Suárez, L., Antimo-Pérez, S., Luna-Mendoza, N., Tapia-Salazar, M., Guajardo-Barbosa, C., and Ricque-Marie, D.** 2005. Relaciones proteína/energía y proteína vegetal/animal optimas en alimentos de engorda para *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris*. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola.* 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
- Cuzon, G., Gaxiola, G., arcia, T., Sanchez, A., and Aquacop.** 2002. Raw ingredients for marine aquaculture fish. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola.* 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Cuzon, G., Rosas, C., Gaxiola, G., Taboada, G., and Wormhoudt, A.** 2000. Utilization of Carbohydrates By Shrimp. In: Cruz - Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola.* 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
- D'Abramo, L.** 2002. Challenges in developing successful formulated feed for culture of larval fish and crustaceans. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G.,

- Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- De Castro, A., and Jory, D. E.** (1983). Preliminary experiments on the culture of the banded coral shrimp, *Stenopus hispidus* (Oliver). *Journal of the Aquaculture & Aquatic Sciences* **3**, 84-89.
- Debelius, H.** (1983). Grobkrebse im Aquarium. 11: Teil: Über die Gattung *Lysmata*. *Aquar.Terrar.Z.* **36**, 105-112.
- Debelius, H.** (1985). Cleaner shrimps of the genus *Lysmata*. *Fresh Water and Marine Aquarium Magazine* **27**.
- Dehasque M., Assche, J., and Devresse, B.** 2002. Evaluación de los efectos de la administración oral de inmunoestimulantes en las enfermedades de especies para acuicultura. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Delbeek, J. C.** (1987). Cleaner shrimps (genus *Lysmata*) for home aquarium. *Atoll.* **2**, 1.
- DeMan, J. D.** (1888). Bricht über die von Herrn Dr. Brock im Indischen Archipel Gesammelten Decapoden und Stomatopoden. *Arch.Naturgeschichte* **53**, 215-600.
- Dixon, J., Ah Yong, T., and Schram, R.** (2003). A new hypothesis of decapod phylogeny. *Crustaceana* **76**, 935-975.
- Ekaratne, S.** 2000. A Review of the Status and Trends of Exported Ornamental Fish Resources and their Habitats in Sri Lanka. *Report prepared for FAO of the UN / BOBP and the Ministry of Fisheries & Aquatic Resources Development*. 114pp.
- Faulkner, D., and Smith, C. L.** (1970). '*Cleaning Symbiosis. The hidden Sea.*' Viking Press: New York.
- Fautin, D. G., Guo, C.-C., and Hwang, J.-S.** (1995). Costs and benefits of the symbiosis between the anemoneshrimp *Periclimenes brevicarpalis* and its host *Entacmaea quadricolor*. *Marine Ecology Progress Series.* **129**, 77-84.
- Feder, H. M.** (1966). Cleaning symbiosis in the marine environment. In '*Symbiosis - Volume I - Associations of Microorganisms, Plants, and Marine Organisms.*' (Ed. S. M. Henry.) pp. 327-80. (Academic Press: New York, London.)
- Fiedler, G. C.** (1998). Functional, simultaneous hermaphroditism in the female-phase *Lysmata amboinensis* (Decapoda: Caridea: Hippolytidae). *Pacific Science* **52**, 161-169.
- Fletcher, D., Koetter, I., and Wunsch, M.** (1995a). Potential commercial culture of *Lysmata debelius*, *L. amboinensis* and *Stenopus hispidus* for the ornamental aquarium trade. *World Aquaculture'95, San Diego, USA*.
- Fletcher, D. J., Kotter, I., Wunsch, M., and Yasir, I.** (1995b). Preliminary observations on the reproductive biology of ornamental cleaner prawns. *International Zoology Yearbook* **34**, 73-77.
- Flores, M., Briones, L., and Novoa, M.** 2005. Avances en la utilización de probióticos como promotores de crecimiento en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

- Fraser, A.** (1989). Triacylglycerol Content as a Condition index in Fish, Bivalve and Crustacean Larvae. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.* **46**, 1869-1873.
- García, A.** 2000. Valor nutricional de los quistes de Artemia y su uso como fuente de proteína en dietas artificiales para larvas de peces. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
- García, T., Alfonso, E., and Jaime, B.** 2002. *Evaluación de la lombriz de tierra Eudrilus eugeniae en la alimentación de camarones peneidos*. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Geiger, R., and Fritz, H.** (1988). Trypsin In: *Methods of enzymatic analysis. In 'Enzymes 3: Peptidases, proteinases and their inhibitors.'* Ed. B. Bergmeyer J and Grab.) pp. 99-104. Einheim.
- Gimenez, L., and Anger, K.** (2001). Relationships among salinity, egg size, embryonic development, and larval biomass in the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851. *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.* **260**, 241-257.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., and Turnbull, J.** (2000). The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture* **191**, 270.
- González-Félix, M., and Perez-Velazquez, M.** 2002. Current status of lipid nutrition of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Gordon, I.** (1935). On new or imperfectly known species of Crustacea Macrura. *Linnean Journal - Zoology* **XXXIX**, 307-351.
- Goslinger, T., Behrens, D., and Williams, G.** (1996). Coral Reef Animals of the Indo-Pacific. *Sea Challengers, Monterey CA, USA*.
- Goy, J. W.** (1991). *Components of reproductive effort and delay of larval metamorphosis in tropical marine shrimp (Crustacea: Decapoda: Caridea and Stenopodidea).* Texas A&M University.
- Grippa, G. B., and D' Acoz, C. D.** (1996). The genus *Periclimenes* Costa, 1844 in the Mediterranean Sea and the Northeastern Atlantic Ocean: review of the species and description of *Periclimenes sagittifer aegylios* subsp. nov. (Crustacea, Decapoda, Caridea, Pontoninae). *Atti.Societa Italiana di Scienze Naturali.Museo Civico di Storia Naturale di Milano* **135**, 401-412.
- Gutiérrez, V.** 2002. Alimentary biostochiometry toward a bigger productivity and a low environmental impact. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Gwaltney, C. L., and Brooks, W. R.** (1994). Host specificity of the anemoneshrimp *Periclimenes pedersoni* and *P. yucatanicus* in the Florida Keys. *Symbiosis* **16**, 83-93.
- Hardman, J. N.** (1999). *Larval nutrition and culture of Lysmata debelius Bruce, with a note on postlarval development.* University of Wales. U.K.

- Hayashi, K.** (1975). *Hippolysmata grabhami* Gordon, a synonym of *Lysmata amboinensis* (De Man) (Decapoda, Caridea, Hippolytidae). *Publications: Seto Marine Biological Laboratory* **12**, 285-296.
- Hoff, F.** (2001). *Future of Marine Ornamental Fish Culture*. (Ed. varios.) pp. 55.
- Holt, G. J.** (2001). *Research on Culturing the Early Life Stages of Marine Ornamental Species*. (Ed. varios.) pp. 19-20.
- Holthuis, L. B.** (1947). The Hippolytidae and Rhynchocinetidae collected by the Siboga and Snelius expeditions with remarks in other species. In *'The Decapoda of Siboga Expedition. Siboga Expedition. 39.'* pp. 100.
- Jones, D. A., Kumlu, M., LeVay, L., and Fletcher, D. J.** (1997). The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review. *Aquaculture* **155**, 285-295.
- Kennington, R.** (1985). Coral reef ecosystems: a sustainable resource. *Nature and Resources*, **21**, 18-27.
- Kiris, I., Eroldogan, T., Kir, M., and Kumlu, M.** (2005). Influence of neuropeptide Y (NPY) on food intake and growth of penaeid shrimps *Marsupenaeus japonicus* and *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* **139**, 239-244.
- Knowlton, R. E., and Alavi, M. R.** (1995). The larval morphology of *Lysmata anchisteus* Chace (Crustacea: Decapoda) compared with other species of *Lysmata* spp. *Caribbean Journal of Science* **31**, 289-310.
- Kotter, I.** (1997). *'Larval culture of Lysmata amboinensis (de Man 1888), Lysmata debelius (Bruce 1983) (Decapoda: Hippolytidae) and Stenopus hispidus (Decapoda: Stenopodidae).'* M.Sc. University of Bielefeld, Germany.
- Kreeger, K. E., Kreeger, D. A., Langdon, C. J., and Lowry, R. R.** (1991). The nutritional value of *Artemia* and *Tigriopus californicus* (Baker) for two Pacific mysid species, *Metamysidopsis elongata* (Holmes) and *Mysidopsis intii* (Holmquist). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **148**, 147-158.
- Kumlu, M.** (1999). Feeding and Digestion in Larval Decapod Crustaceans. *Tr.J.of Biology* **23**, 215-229.
- Kumlu, M.** (1997). 'Chapter 7: Trypsin activity as a tool do describe feeding strategies of Decapod Crustacean larvae.'
- Kumlu, M., and Jones, D. A.** (1997). Digestive protease activity in planktonic crustaceans feeding at different trophic levels. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* **77**, 159-165.
- Kumlu, M., and Jones, D. A.** (1995). Feeding and digestion in the caridean shrimp larva of *Palaemon elegans* Rathke and *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Crustacea: Palaemonidae) on live and artificial diets. *Aquaculture Nutrition* **1**, 3-12.
- Kumlu, M., and Jones, D. A.** (1993). *Role of microalgae as a gut enzyme stimulant in rearing Penaeus indicus larvae on microencapsulated diets.*
- Kurata, H.** (1970). *Studies on the life histories of decapod Crustacea of Georgia. Part. III. Larvae of Decapod Crustacea of Georgia.* University of Georgia Marine Institute, Final Report, Sapelo Islands. Galapagos.
- Landau, M.** (1992). *'Introduction to Aquaculture.'* John Wiley & Sons, Inc, New York. 440p

- Landau, M., and Sanchez, V.** (1991). Effect of pH and decapsulation on the toxicity of ammonia to the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Journal of the World Aquaculture Society* **22**, 178-181.
- Lazo, J.** 2000. Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19- 22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
- Le Vay, L., Jones, D., Puello-Cruz, A., Sangha, R., and Ngamphongsai, C.** (2001). Digestion in relation to feeding strategies exhibited by crustacean larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology* **128**, 623-630.
- Lehninger, A.** 1987. *Bioquímica: las bases moleculares de la estructura y función celular*. Omega, Barcelona. 980pp.
- Lemonnier, H., Bernard, E., Boglio, E., Goarant, C., and Cochard, J.** (2004). Influence of sediment characteristics on shrimp physiology: pH as principal effect. *Aquaculture* **240**, 312.
- Limbaugh, C., Pederson, D., and Chace, F. A. Jr.** (1961). Shrimps that clean fishes. *Bulletin of Marine Science Gulf Caribbean* **11**, 237-257.
- Limbaugh, D.** (1961). Cleaning symbiosis. *Scientific American* **205**, 42-49.
- Lin, J.** (2001). Overview of Marine Ornamental Shrimp Aquaculture. In: *2nd International Conference on Marine Ornaments: Collection, Culture and Conservation*. Ed. varios. Lake Buena Vista, Florida, USA pp. 63-6.
- Lin, J., and Shi, P.** (2002). Effect of broodstock diet on reproductive performance of the golden banded coral shrimp *Stenopus scutellatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* **33**, 383-385.
- Lin, J., Zan, D., and Creswell, R. L.** (1999). Marine Ornamental Shrimp: Status and Prospects. *Aquaculture Magazine* **May/June**, 52-55.
- Lin, J., and Zhang, D.** (2001b). Reproduction in a simultaneous hermaphroditic shrimp *Lysmata wurdemanni*: Any two will do? In 'Book of abstracts.' pp. 377. World Aquaculture Society: Louisiana State University Baton Rouge LA 70803 USA.
- Lin, J., and Zhang, D.** (2001a). Effect of broodstock diet on reproductive performance of the peppermint shrimp, *Lysmata wurdemanni*. *Journal of Shellfish Research* **20**, 361-363.
- Lin, J., Zhang, D., and Creswell, R. L.** (2001). *Aquaculture of marine ornamental shrimps: An overview*. In 'Book of abstracts.' pp. 378. (World Aquaculture Society: Louisiana State University Baton Rouge LA 70803 USA.)
- Lin, L., Zhang, D., and Rhyne, A.** (2002). *Broodstock and larval nutrition of marine ornamental shrimp*. (Avances en Nutrición Acuicola VI, Cancún, México.:
- Lubbock, H. R., and Polunin, N. V. C.** (1975). Conservation and the tropical marine aquarium trade. *Environmental Conservation* **2**, 229-232.
- MAC.** 2001. *Core Collection, Fishing, and Holding*. Best Practice Guidance for the Marine Aquarium Trade, 46p.
- Martin, J. W., and Davis, G. E.** (2001). An Updated Classification of the Recent Crustacea. *Natural History Museum of Los Angeles County Science Series* **39**, 1-123.

- Martins, T., and Calazans, D.** (2003). Description and Development of Zoea I of Exhippolytinae oplophoroides (Holthuis, 1948) (CARIDEA, HIPPOLYTIDAE) under laboratory conditions. *Atlántica, Rio Grande* **25**, 67-73.
- Meyers, S.** (1996). Role of the carotenoid astaxanthin in nutrition of aquatic species. *Oceanography & Coastal Sciences*. **123**, 46-56.
- Meyers, S., and Latscha, T.** (1997). Carotenoids. In 'Crustaceans Nutrition.' (Ed. L. C. D. E. & A. D. M. D'Abramo.) pp. 164-93. (World Aquaculture Society: Baton Rouge, LA, USA.)
- Moe, M.** 2003. Culture of marine ornamentals: for love, for money, and for science. In: *Marine Ornamentals*.
- Molina, C., Cadena, E., and Orellana, F.** 2000. Alimentación de Camarones en Relación a la Actividad Enzimática Como una respuesta natural al ritmo circadiano y ciclo de muda. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán, Mexico.
- Molina-Poveda, C., Escobar, V., Gamboa-Delgado, J., Cadena, E., Orellana, F., and Piña, R.** 2002. Estrategia de alimentación de acuerdo a la demanda fisiológica del juvenil *Litopenaeus vannamei* (Boone). In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Moore, F., and Best, B.** (2001). causes and consequences. In: Global Trade and Consumer Choices: Coral Reefs in Crisis. *Proceedings of an American Association for the Advancement of Science (AAAS) Meeting*, 5-10.
- Mugnier, C., and Justou, C.** (2004). Combined effect of external ammonia and molt stage on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* physiological response. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **309**, 35-46.
- Negreiros-Franzoso, M. L., Barba, E., Sanchez, A. J., Franzoso, A., and Raz-Guzman, A.** (1996). The species of *Hippolyte* Leach (Crustacea, Caridea, Hippolytidae) from Terminos Lagoon, S. W Gulf of Mexico. *Rev.Bras.Zool.* **13**, 539-551.
- Olivotto, O., I. C. M., Barbaresi, L., Maradonna, F., and Carnevali, I.** (2003). Coral reef fish breeding: the secrets of each species. *Aquaculture* **224**, 78.
- Omori, K., Yanagisawa, Y., and Hori, N.** (1994). Life history of the caridean shrimp *Periclimenes ornatus* Bruce associated with a sea anemone in Southwest Japan. *Journal of Crustacean Biology* **14**, 132-145.
- Palmtag, M., and Holt, G. J.** (2001). *The spawning and rearing of the fire shrimp (Lysmata debelius) in captivity*. In 'WAS Book of Abstracts.' (World Aquaculture Society: Baton Rouge.)
- Pedroza-Islas, R.** 2002. Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Planas, M., and Cunha, I.** (1999). Larviculture of marine fish: problems and perspectives. *Aquaculture* **177**: 171-190 **177**, 171-190.

- Ramirez, I.** 2004. *Efecto de la densidad de siembra en la supervivencia de los 3 primeros estadios larvarios del camarón limpiador ornamental *Lysmataamboinensis* (De Man 1888)(Crustacea:Decapoda:Caridea)*. Tesis para obtener el título de ingeniero en acuicultura, villahermosa, Tabasco, Mexico.
- Randall, J. E.** (1958). A review of the labrid fish genus *Labroides*, with a description of two new species and notes on ecology. *Pacific Science* **12**, 327-347.
- Richmond, R.** (1997). Reproduction and recruitment of corals: critical links in the persistence of reefs. In 'Life and Death of Coral Reefs.' (Ed. C. Birkeland.) pp. 175-97. (Kluwer Academic Publishers: Boston, USA.)
- Riley, C.** (1994). Captive spawning and rearing of the peppermint shrimp (*Lysmata wurdemanni*). *SeaScope, Summer 1994 Issue*.
- Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Pascual, C., Brito, R., Chimal, M., and Wormhoudt, A.** 2000. *El Metabolismo de los Carbohidratos de *Litopenaeus setiferus*, *L. vannamei* y *L. stylirostris**. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
- Rosas, C., Sánchez, A., Gallardo, P., Quiroz, J., Gaxiola, G., Díaz-Iglesia, E., and Soto, L. A.** (1995). Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia nauplii*. *Aquacult.Nutr.* **1**, 13-20.
- Ross, D. M.** (1983). 'Symbiotic relationships.' Academic Press: New York, London.
- Rubec, P.** (1988). The need for conservation and management of Philippine coral reefs. *Environmental Biology of Fishes*, **23**, 141.
- Rubec, P.** (1986). The effects of sodium cyanide on coral reefs and marine fish in the Philippines. In 'The First Asian Fisheries Forum.' Eds. J. McLean, L. Dizon, and L. Hosillos.) (Asian Fisheries Society: Manila, Philippines.
- Rufino, M. M., and Jones, D. A.** (2001). Observations on the function of the fifth pereopod in late stage larvae of *Lysmata debelius* (Decapoda: Hippolytidae). *Crustaceana* **74**, 977-990.
- Saldanha, L.** (1995). 'Fauna Submarina Atlântica.' Publicações Europa-América, 364p.
- Samocho, T. M., Uziel, N., and Browdy, C. L.** (1989). The effect of feeding two prey organisms, nauplii of *Artemia* and rotifers, *Brachionus plicatilis* (Muller), upon survival and growth of larval marine shrimp, *Penaeus semisulcatus* (de Haan). *Aquaculture* **77**, 11-19.
- Sangha, R. S.** (1996). 'Larval gut development in the fire shrimp *Lysmata debelius* Bruce, a cleaner shrimp.' M.Sc. thesis. University of Wales, Bangor, School of Ocean Sciences.
- Simoes, F., Ribeiro, F., and Jones, D. A.** (2003). Feeding early larval stages of fire shrimp *Lysmata debelius* (Caridea: Hippolytidae). *Aquaculture International* **10**, 349-360.
- Simoes, F., Ribeiro, F., and Jones, D. A.** (1998). *The effect of diet on the reproductive performance of marine cleaner shrimps *Lysmata debelius* (Bruce 1983) and *L. amboinensis* (De Man 1888) (Caridea, Hippolytidae) in captivity*. In 'Book of Abstracts.' (World Aquaculture Society: USA.)
- Simões, N., Jones, D., Soto-Rodríguez, S., Roque, A., and Gómez-Gil, B.** 2002. Las bacterias en el inicio de la alimentación exógena en larvas de camarones Peneidos: Efectos de la calidad del agua, tasas

- de ingestión y rutas de colonización del tracto digestivo. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Smith, T., Tapia-Salazar, M., Cruz-Suarez, L., and Ricque-Marie, D.** 2000. Feed-borne biogenic amines: natural toxicants or growth promoters? In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán., Mexico.
- Smith, W.** (1999). 'Education and Awareness of Marine Environments Project (EAMEP). Concerns and Solutions for the Protection of the Coral Reef in Fiji.' Lautoka, Fiji.
- Stevens, B., and Anderson, P.** (2000). An association between the anemone, *Cribrinopsis fernaldi*, and shrimps of the Families Hippolytidae and Pandalidae. *J.Northwest Atl.Fish.Sci.* **27**, 77-82.
- Subramoniam, T.** (2000). Crustacean ecdysteroids in reproduction and embryogenesis. *Comp.Biochem.Physiol.* **125C**, 135-156.
- Thomaz, L., Oshiro, L., Bambozzi, A., and Filho, J.** (2004). Desempenho Larval do Camarão-d'Água-Doce (*Macrobrachium rosenbergii* De Man, 1879) Submetido a Diferentes Regimes Alimentares. *R.Bras.Zootec.* **33**, 1934-1941.
- Thoney, D., Warmolts, D., and Andrews, C.** (2003). Acquisition of fishes and aquatic invertebrates for zoological collections. Is there a future? *Zoo Biology* **22:519-527** **22**, 519-527.
- Tseng, I., and Chen, J.** (2004). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under nitrite stress. *Fish & Shellfish Immunology* **17**, 333.
- Vega-Villasante, Civera-Cerecedo, R., González-Valdés, R., Oliva-Suárez, M., and Nolasco-Soria, H.** 2000. Alternativa para la alimentación del Camarón en Cultivo: El Manejo de la Muda. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 19- 22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
- Vincent, M.** (1989). Influence of water temperature on carotenoids and carotenoid metabolism in *Palaemon serratus* (Crustacea: Decapoda). *Biochem.System.Ecol.* **17**, 319-322.
- Wabnitz, C., Taylor, M., Green, E., and Razak, T.** (2003). 'From Ocean to Aquarium: The global trade in marine ornamental species.' UNEP-WCMC: Cambridge, UK.
- Wang, F., Dong, S., Dong, S., Huang, G., Zhu, C., and Mu, Y.** (2004). The effect of light intensity on the growth of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture* **234**, 475-483.
- Wang, L., and Chen, J.** (2004). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. *Fish & Shellfish Immunology* **16**, 334.
- Wehrtmann, S., and Graeve, M.** (1998). Lipid composition and utilization. in developing eggs of two tropical marine caridean shrimps. (Decapoda: Caridea: Alpheidea, Palaemonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* **121**, 457-463.
- Wicksten, M. K.** (1995). Associations of fishes and their cleaners on coral reefs of bonaire, netherlands Antilles. *Copeia* **2**, 477-481.

- Wilkerson, J. D.** (1995). *Lysmata rathbunae*. *The Breeder's Registry* **3**, 1-2.
- Wittenrich, M.** (2002). Breeding *Lysmata rathbunae* shrimp. *SeaScope* **19**, 4-5.
- Wood, E.** (2001a). Collection of Coral Reef Fish for Aquaria: Global Trade, Conservation Issues and Management Strategies. *Marine Conservation Society, Ross on Wye, UK*. 80.
- Wood, E.** (2001b). Global advances in conservation and management of marine ornamental resources. *Aquarium Sciences and Conservation*, **3 (1-3)**, 65-77.
- Wunsch, M.** (1996). 'Larval development of *Lysmata amboinensis* (de Man 1888) (Decapoda: Hippolytidae) reared in laboratory with a note on *L. debelius* (Bruce 1983). Degree Thesis. (Georg August Universitat.).
- Yap, H., and Gomez, E.** 1985. Coral reef degradation and pollution in the East Asian Seas Region. Environment and Resources in the Pacific, 184-207. *UNEP Regional Seas Reports and Studies*.
- Yasir, I.** (1995). 'A preliminary study on hermaphroditism in *Lysmata debelius* Bruce, with a note on *Lysmata amboinensis* De Man.' M.Sc. MSc Thesis. University of Wales. UK.
- Yasir, I.** (2001). The culture and conservation of marine ornamental shrimp. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.
- Zapata-Perez, O., Del-Rio, M., Dominguez, J., Chan, R., Ceja, V., and Gold-Bouchot, G.** (2005). Preliminary studies of biochemical changes (ethoxycoumarin O-deethylase activities and vitellogenin induction) in two species of shrimp (*Farfantepenaeus duorarum* and *Litopenaeus setiferus*) from the Gulf of Mexico. *Ecotoxicol Environ Saf.* **61**, 104.
- Zar, J. H.** (1974). 'Biostatistical analysis.' Prentice Hall, New York. 620 pp.
- Zhang, D., Lin, J., and Creswell, R. L.** (1997a). Effect of eyestalk ablation on molt cycle and reproduction in the banded coral shrimp, *Stenopus hispidus* (Oliver). *Journal of Shellfish Research* **16**, 363-366.
- Zhang, D., Lin, J., and Creswell, R. L.** (1997b). Larviculture and effect of food on larval survival and development in golden coral shrimp *Stenopus scutellatus*. *Journal of Shellfish Research* **16**, 367-369.
- Zhang, D., Lin, J., and Creswell, R. L.** (1998a). Mating behaviour and spawning of the banded coral shrimp *Stenopus hispidus* in the laboratory. *Journal of Crustacean Biology* **18**.
- Zhang, D., Lin, J., and Creswell, R. L.** (1998b). Effects of food and temperature on survival and development in the peppermint shrimp *Lysmata wudermanni*. *Journal of the World Aquaculture Society* **28**, 471-476.
- Zhang, D., Lin, J., and Creswell, R. L.** (1998c). Ingestion rate and feeding behavior of the peppermint shrimp *Lysmata wurdemanni* on *Artemia* nauplii. *Journal of the World Aquaculture Society* **29**, 97-103.
- Zhu, C., Dong, S., Wang, F., and Huang, G.** (2004). Effects of Na/K ratio in seawater on growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* **234**, 496.

Páginas da Internet

- [1] <http://www.reefscience.com> consultada no dia 9/01/2005
- [2] <http://www.aquariumarts.com> consultada no dia 9/01/2005
- [3] <http://www.liveaquaria.com> consultada no dia 10/01/2005
- [4] <http://www.marinedepotlive.com> consultada no dia 10/01/2005
- [5] <http://www.vividaquariums.com> consultada no dia 10/01/2005
- [6] <http://www.saltwaterfish.com> consultada no dia 9/01/2005
- [7] <http://www.reefermadness.us> consultada no dia 9/01/2005
- [8] <http://www.utsidan.se.jpg> consultada no dia 10/09/2005
- [9] <http://marenostrum.org> consultada no dia 10/09/2005
- [10] <http://www.aquariumhobby.nl> consultada no dia 11/01/2005