

UBIRATÃ DE ASSIS TEIXEIRA DA SILVA

**RECUPERAÇÃO POPULACIONAL DE CARANGUEJO-UÇÁ,  
*Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763), ATRAVÉS DA LIBERAÇÃO DE  
FORMAS IMATURAS EM ÁREAS ANTROPICAMENTE  
PRESSIONADAS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Zoologia.

Orientador: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Setuko Masunari

Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Ostrensky

CURITIBA

2007

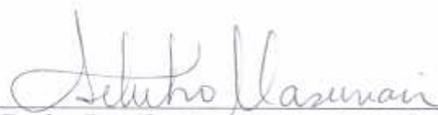
Termo de aprovação

**RECUPERAÇÃO POPULACIONAL DE CARANGUEJO-UÇÁ,  
*Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763), ATRAVÉS DA LIBERAÇÃO  
DE FORMAS IMATURAS EM ÁREAS ANTROPICAMENTE  
PRESSIONADAS**

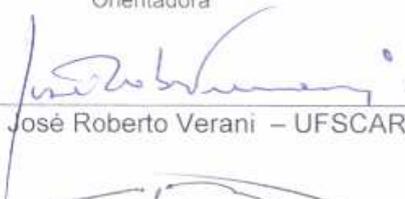
por

***Ubiratã de Assis Teixeira da Silva***

Tese aprovada em 19 de março de 2007, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor em Ciências, área de concentração Zoologia, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores



Prof. Dra. Setuko Masunari – UFPR  
Orientadora



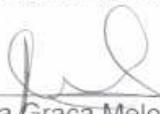
Prof. Dr. José Roberto Verani – UFSCAR



Prof. Dr. Sérgio Luiz de Siqueira Bueno – USP



Prof. Dr. Luis Henrique da Silva Poersch – FURG



Profª Drª Sônia Graça Melo - UFPR

**Esta tese é dedicada ao meu pai, Aladino,  
cujo amor pelas coisas do mar,  
muito me influenciou  
nessa jornada**

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Setuko Masunari, pela credibilidade, orientação e apoio entusiástico que me ofereceu sempre, mesmo quando as coisas pareciam estar saindo de controle.

Ao Prof. Dr. Antonio Ostrensky, por toda a participação ativa, sugestões e apoio, fundamentais para a realização do trabalho desde seu início. E também pelo reconhecimento que me acomete quando, ao olhar para trás, percebo o quanto já realizamos como parceiros e, por vezes, até cúmplices.

A Dr<sup>a</sup> Débora Pestana, pela grande ajuda nos momentos mais críticos.

À minha amiga Kelly, por toda ajuda que me deu, com sua impressionante bagagem cultural.

Ao meu colega e amigo Robson, que mesmo entrando no barco com a viagem a caminho, através de sua tremenda competência e espírito, imprimiu grande velocidade, encurtando “significativamente” o trajeto.

A todos os amigos da equipe do GIA, por toda a colaboração e incentivos prestados durante a realização desse trabalho.

À minha Mãe, Iolanda, pelo suporte moral e, por vezes, até financeiro.

À minha esposa Bernadete, pelo amor, carinho e compreensão em todos os momentos e principalmente por ter trazido a terra dois anjinhos: Diana e Felipe, que encheram minha vida de alegria.

Ao meu eterno e inseparável amigo Jonas, se, por mais nada, apenas por estar do meu lado quando o bicho pegava.

Ao colegiado do Curso de Pós-Graduação em Zoologia da UFPR, na eminente figura do Prof. Dr. Fernando de Camargo Passos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro fundamental à realização desse trabalho.

O repovoamento de espécies marinhas é considerado por muitos, um exemplo de arrogância tecnológica, em que o homem pretende ser Deus...eu, ao contrário, acredito que o repovoamento deva ser visto como um sinal de humildade, quando reconhecemos que a natureza não foi criada por Deus com o único propósito de nos servir.

## **ESTRUTURA DA TESE**

A presente tese está estruturada nos seguintes capítulos:

### **Capítulo I**

Testa um método de análise de viabilidade larval, adaptado a partir de técnicas utilizadas na larvicultura de camarões marinhos, que vinha sendo utilizado rotineiramente nas larviculturas em larga escala de *U. cordatus*, sem, no entanto, ter sido previamente validado cientificamente. Tal validação ocorre justamente com o trabalho aqui realizado.

### **Capítulo II**

Analisa um comportamento de migração vertical das larvas de *U. cordatus*, observado durante os cultivos em larga escala. Este comportamento poderia estar relacionado com eventos de mortalidade também observados durante este período. O uso de tanques mais profundos, como forma de contornar o problema, é analisado através da estimativa da amplitude total desta movimentação vertical.

### **Capítulo III**

Testa diferentes alterações no ambiente de manejo com o objetivo de contornar o comportamento de movimentação vertical e procurar reduzir o efeito deletério que o contato da larva com o fundo acarreta na sobrevivência larval.

### **Capítulo IV**

Estuda o processo de ecdise de larvas de *U. cordatus* testadas individualmente a partir de duas dietas alimentares rotineiramente utilizadas em larviculturas de crustáceos decápodes. A partir deste estudo são identificadas duas vias de desenvolvimento larval. Os resultados obtidos deverão ser usados no aprimoramento dos métodos de larvicultura da espécie.

### **Capítulo V**

Estima as quantidades de zoeas que são emitidas a partir dos habitats paternos durante os movimentos de maré vazante e o número de megalopas que retornam para estes mesmos locais em um determinado ponto da baía de Guaratuba. Também investiga a possibilidade da existência de diferentes formas de dispersão larval através de arrastos de superfície na baía de Paranaguá.

### **Capítulo VI**

Estuda os efeitos de diferentes períodos de exposição dos sedimentos onde megalopas foram liberadas, ao ar, em função de diferentes movimentos de marés. Indica os pontos em áreas de manguezal e os momentos dentro dos ciclos de maré mais propícios para o assentamento de megalopas de *U. cordatus*.

### **Capítulo VII**

Estima as taxas de sobrevivência obtidas pela liberação de megalopas de *U. cordatus* diretamente no ambiente tanto em condições de laboratório quanto em condições mais próximas às naturais.

### **Capítulo VIII**

Compara as taxas de sobrevivência obtidas pela liberação de megalopas diretamente no ambiente na ausência e na presença de competidores intra e interespecíficos.

### **Epílogo**

Apresenta um texto com o objetivo de sintetizar os resultados e conhecimentos gerados durante o trabalho de tese de doutorado.

## SUMÁRIO

ESTRUTURA DA TESE .....	6
SUMÁRIO.....	7
LISTA DE FIGURAS .....	12
LISTA DE TABELAS .....	17
PREFÁCIO .....	18
BREVE HISTÓRICO DO REPOVOAMENTO DE <i>UCIDES CORDATUS</i> NO BRASIL .....	19
Os primeiros ciclos de produção .....	19
A continuidade do projeto .....	21
O ATUAL ESTADO-DA-ARTE DA TECNOLOGIA DE REPOVOAMENTO DE <i>UCIDES</i> <i>CORDATUS</i> .....	24
A obtenção de larvas. ....	24
A larvicultura. ....	25
CONTRIBUIÇÕES DO PRESENTE ESTUDO NO DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA DE REPOVOAMENTO.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
RESUMO GERAL .....	31
GENERAL ABSTRACT .....	33
CAPÍTULO I - AVALIAÇÃO DE DIFERENTES INDICADORES DO ESTADO DE HIGIEZ DE LARVAS DO CARANGUEJO-UÇÁ, <i>UCIDES CORDATUS</i> (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA : BRACHYURA : OCYPODIDAE) .....	35
RESUMO.....	35
ABSTRACT .....	35
INTRODUÇÃO .....	36
MATERIAL E MÉTODOS .....	37
Montagem das unidades experimentais .....	37
Critérios para avaliação da qualidade larval.....	39
RESULTADOS .....	40
DISCUSSÃO .....	47
CONCLUSÕES .....	51

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51
----------------------------------	----

CAPÍTULO II - ANÁLISE EXPERIMENTAL DA DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE LARVAS DE <i>UCIDES CORDATUS</i> (CRUSTACEA: BRACHYURA : OCYPODIDAE) NA COLUNA D'ÁGUA AO LONGO DOS ESTÁGIOS INICIAIS DE SUA ONTOGENIA .....	55
--	----

RESUMO.....	55
ABSTRACT .....	55
INTRODUÇÃO .....	56
MATERIAL E MÉTODOS .....	57
RESULTADOS .....	58
DISCUSSÃO .....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62

CAPÍTULO III - EFEITOS DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS E DAS TÉCNICAS DE MANEJO SOBRE A HIGIEDEZ E SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DO CARANGUEJO-UÇÁ, <i>UCIDES CORDATUS</i> (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA BRACHYURA OCYPODIDAE).....	65
--	----

RESUMO.....	65
ABSTRACT .....	66
INTRODUÇÃO .....	67
MATERIAL E MÉTODOS .....	68
Local e data dos experimentos.....	68
Obtenção das larvas de <i>U. cordatus</i> .....	68
1º. Experimento: Cultivo de larvas em diferentes tipos de tanques.....	68
2º. Experimento: Cultivo de larvas em diferentes tipos de substrato.....	70
3º. Experimento: Manejo do material depositado em tanques de fundo chato..	70
RESULTADOS .....	71
1º. Experimento: Cultivo de larvas em diferentes tipos de tanques.....	71
2º. Experimento: Cultivo de larvas com diferentes substratos de fundo.....	74
3º. Experimento: Tipos de manejo do material sedimentar depositado em tanques de fundo chato .....	76
DISCUSSÃO .....	76
CONCLUSÕES .....	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	80

CAPÍTULO IV – UMA VIA ALTERNATIVA DE DESENVOLVIMENTO LARVAL DE <i>UCIDES CORDATUS</i> (LINNAEUS, 1763) EM LABORATÓRIO .....	83
---	----

RESUMO.....	83
-------------	----

ABSTRACT .....	83
INTRODUÇÃO .....	84
MATERIAL E MÉTODOS .....	85
RESULTADOS .....	85
DISCUSSÃO .....	91
CONCLUSÕES .....	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	94

CAPÍTULO V – ESTUDO SOBRE A DISPERSÃO LARVAL DE *UCIDES CORDATUS* (LINNAEUS, 1763) EM ESTUÁRIOS DO LITORAL PARANAENSE .....96

RESUMO.....	96
ABSTRACT .....	97
INTRODUÇÃO .....	98
MATERIAL E MÉTODOS .....	99
Coletas na Baía de Guaratuba .....	99
Coletas no interior da Baía de Paranaguá.....	101
RESULTADOS .....	103
Coletas na Baía de Guaratuba .....	103
Coletas no interior da Baía de Paranaguá.....	106
DISCUSSÃO .....	111
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	114

CAPÍTULO VI - INFLUÊNCIA DO TEMPO DE IMERSÃO DE MEGALOPAS SOBRE AS TAXAS DE ASSENTAMENTO E DE SOBREVIVÊNCIA DE *UCIDES CORDATUS* (LINNAEUS, 1763) EM LABORATÓRIO..... 118

RESUMO.....	118
ABSTRACT .....	119
INTRODUÇÃO .....	120
MATERIAL E MÉTODOS .....	121
Experimento 1. Taxa de colonização em diferentes tempos de imersão inicial no sedimento .....	121
Experimento 2. Taxa de sobrevivência e de colonização de megalopas em diferentes períodos diários de imersão.....	121
RESULTADOS .....	123
Experimento 1. Taxa de colonização em diferentes tempos de imersão inicial no sedimento .....	123

Experimento 2. Taxa de sobrevivência e de colonização em diferentes períodos diários de imersão. ....	124
DISCUSSÃO .....	125
CONCLUSÕES .....	127
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	127
CAPÍTULO VII - TAXAS DE COLONIZAÇÃO E DE SOBREVIVÊNCIA DE MEGALOPAS DE <i>UCIDES CORDATUS</i> (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA BRACHYURA OCYPODIDAE) EM CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS .....	129
RESUMO.....	129
ABSTRACT .....	130
INTRODUÇÃO .....	131
MATERIAL E MÉTODOS .....	131
Obtenção das megalopas.....	131
Experimento 1. Taxas de colonização de megalopas de <i>U. cordatus</i> em substratos com diferentes proporções de areia e argila.....	132
Experimento 2. Estimativa das taxas de assentamento e sobrevivência de megalopas em condições de laboratório.....	134
Experimento 3. Taxas de colonização e de sobrevivência de megalopas em experimentos de campo .....	135
RESULTADOS .....	137
Experimento 1. Taxas de colonização de megalopas de <i>U. cordatus</i> em substratos com diferentes proporções de areia e argila.....	137
Experimento 2. Estimativa das taxas de assentamento e sobrevivência de megalopas em condições ideais de laboratório.....	139
Experimento 3. Taxa de colonização e sobrevivência de megalopas de <i>U.</i> <i>cordatus</i> em experimentos a campo.....	141
DISCUSSÃO .....	141
CONCLUSÕES .....	144
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	144
CAPÍTULO VIII - RELAÇÕES INTER E INTRA-ESPECÍFICAS E SUAS INFLUÊNCIAS NO RECRUTAMENTO DE MEGALOPAS DE <i>UCIDES CORDATUS</i> (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA, BRACHYURA, OCYPODIDAE) EM CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS .....	147
RESUMO.....	147
ABSTRACT .....	148
INTRODUÇÃO .....	149

MATERIAL E MÉTODOS .....	150
Obtenção das megalopas.....	150
Experimento 1. Taxa de colonização de megalopas mantidas em diferentes densidades .....	150
Experimento 2. Taxa de sobrevivência de megalopas de <i>U. cordatus</i> na presença de juvenis de <i>Uca</i> spp.....	151
Experimento 3. Taxa de sobrevivência de megalopas obtidas em simulação a campo .....	153
RESULTADOS .....	155
Experimento 1. Taxa de colonização de megalopas mantidas em diferentes densidades .....	155
Experimento 2. Taxa de sobrevivência de megalopas de <i>U. cordatus</i> na presença de juvenis de chama-marés <i>Uca</i> spp.....	156
Experimento 3. Taxa de sobrevivência de megalopas na presença de outras espécies obtidas em simulação a campo. ....	157
DISCUSSÃO .....	161
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	164
EPÍLOGO .....	168

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Primeiro laboratório utilizado para a produção de larvas de caranguejo.....	20
Figura 2. Laboratório de Pesquisa de Organismos Aquáticos (LAPOA/GIA/UFPR) .....	21
Figura 3. Interior do LAPOA. ....	22
Figura 4. Instalações do Centro de Operações Costeiras (C.O.C./ Instituto Ecoplan). ....	22
Figura 5. Localização do C.O.C./ECOPLAN na Baía de Guaratuba. ....	24
Figura 6. <i>U. cordatus</i> . Características utilizadas como indicadores do estado de hígidez larval.....	39
Figura 7. Critério utilizado no estabelecimento dos escores para cada um dos indicadores. ....	40
Figura 8. <i>U. cordatus</i> . Curvas de sobrevivência das larvas alimentadas com diferentes microalgas. ....	41
Figura 9. Taxas médias de sobrevivência final de larvas de <i>U. cordatus</i> .....	42
Figura 10. <i>U. cordatus</i> . Duração dos estágios de zoea (1-6) até atingir a fase de megalopa (7) nos tratamentos alimentados com diferentes microalgas.. ....	42
Figura 11. <i>U. cordatus</i> . Escores relativos à Condição do Hepatopâncreas de larvas alimentadas com diferentes microalgas. ....	43
Figura 12. <i>U. cordatus</i> . Oscilação temporal do valor médio relativo à condição do hepatopâncreas das larvas alimentadas com diferentes microalgas .....	44
Figura 13. <i>U. cordatus</i> . Média dos escores relativos à quantidade de bactérias filamentosas epibiontes presentes na carapaça das larvas alimentadas com diferentes microalgas. ....	45
Figura 14. <i>U. cordatus</i> . Média dos escores da presença do cordão fecal em larvas alimentadas com diferentes microalgas. ....	45
Figura 15. <i>U. cordatus</i> . Média dos escores da presença de protozoários ciliados peritríquios sésseis aderidos ao exoesqueleto das larvas alimentadas com diferentes microalgas.....	46
Figura 16. <i>U. cordatus</i> . Resultados médios dos escores da integridade do espinho dorsal das larvas nos tratamentos alimentados com diferentes microalgas.....	46

Figura 17. Posição média em relação à superfície da água assumida pelos diferentes estágios de <i>U. cordatus</i> ao longo da coluna d'água e seus respectivos erros padrões.....	59
Figura 18. Distribuição de frequência das larvas de <i>U. cordatus</i> ao longo da coluna da água, combinando todas as réplicas. ....	60
Figura 19. Diferentes tipos de tanques testados. Cilindro-cônico (esquerda), tanque-rede (centro) e fundo chato (direita). ....	69
Figura 20. Taxas de sobrevivência de larvas de <i>U. cordatus</i> cultivadas em diferentes tanques de larvicultura. ...	72
Figura 21. Tempo de duração dos estágios de desenvolvimento de larvas de <i>U. cordatus</i> (1 a 6 - zoea e 7- megalopa) cultivadas em diferentes tipos de tanques.....	73
Figura 22. Dados agrupados relativos à condição geral do hepatopâncreas das larvas de <i>U. cordatus</i> cultivadas em diferentes tipos de tanques.....	73
Figura 23. Oscilação do indicador de condição geral do hepatopâncreas de larvas de <i>U. cordatus</i> cultivadas em diferentes tipos de tanque. ....	74
Figura 24. Número de larvas de <i>U. cordatus</i> que realizaram ecdise para megalopa, em tanques de cultivo com diferentes substratos. ....	75
Figura 25. Mortalidade de larvas de <i>U. cordatus</i> cultivadas em unidades experimentais com diferentes materiais como substrato. ....	75
Figura 26. Número de larvas de <i>U. cordatus</i> que realizaram a ecdise de zoea VI para megalopa em tanques submetidos a diferentes técnicas de manejo de fundo.....	76
Figura 27. <i>U. cordatus</i> . Diferentes vias de desenvolvimento larval, observadas no tratamento em que as larvas foram alimentadas com microalgas e rotíferos enriquecidos com emulsão comercial. ....	86
Figura 28. Curvas de duração e sobrevivência de larvas <i>U. cordatus</i> alimentadas com microalgas e rotíferos nos diferentes estágios ao longo do cultivo experimental. ....	87
Figura 29. <i>U. cordatus</i> . Zoea V (a) (acima) e zoea V (b) (abaixo). ....	89
Figura 30. <i>U. cordatus</i> . Comparação uma zoea VI "normal" (esquerda) e uma zoea VI acometida por MDS (direita). ....	90
Figura 31. <i>U. cordatus</i> . Segmentos abdominais de uma zoea VI acometida por MDS.....	90

Figura 32. Baía de Guaratuba e localização do ponto de coleta. ....	100
Figura 33. Baía de Paranaguá. Localização dos pontos de coletas. ....	101
Figura 34. Curva de maré astronômica prevista para o dia 22 de janeiro de 2005. ....	102
Figura 35. Oscilação da quantidade de zoeas (A e B) e megalopas (C e D) de <i>U. cordatus</i> capturadas em relação a altura da maré. ....	104
Figura 36. Oscilação do número de zoeas de <i>U. cordatus</i> capturadas durante as coletas em cada momento do ciclo de marés. ....	105
Figura 37. Oscilação do número de megalopas de <i>U. cordatus</i> capturadas durante as coletas em cada momento do ciclo de marés. ....	105
Figura 38. Contribuição das larvas de Brachyura na composição do zooplâncton marinho. ....	107
Figura 39. Variação da prevalência de larvas de Brachyura. ....	107
Figura 40. Contribuição das zoeas de <i>U. cordatus</i> no total de larvas de Brachyura das amostras coletadas na Baía de Paranaguá. ....	110
Figura 41. Número absoluto de indivíduos de cada estágio larval de <i>U. cordatus</i> encontrado nos pontos amostrais. ....	111
Figura 42. Esquema ilustrativo dos aquários e seus compartimentos durante a simulação de maré realizada no segundo experimento. ....	122
Figura 43. Número de tocas escavadas no sedimento de bandejas submetidas a diferentes tempos de imersão logo após a liberação das larvas nas bandejas experimentais (ANOVA $p < 0,05$ ). ....	123
Figura 44. Taxas de sobrevivência de megalopas e de juvenis de <i>U. cordatus</i> assentados em sedimento de manguezal submetidos a diferentes regimes diários de imersão. ....	124
Figura 45. Bandejas com diferentes teores de areia e de argila (esquerda) e estruturas de madeira instaladas no tanque de cultivo experimental para sustentação das bandejas (direita). ....	133
Figura 46. Tanques utilizados no experimento de sobrevivência em condições ideais. ....	134
Figura 47. Tanque experimental no momento da simulação de maré (esquerda) e liberação das megalopas na coluna d'água (direita). ....	135

Figura 48. Tanques experimentais utilizados no experimento realizado no manguezal (esquerda). À direita, sua instalação sobre o solo do manguezal (direita). .....	136
Figura 49. Número de tocas cavadas pelas megalopas de <i>U. cordatus</i> em substratos com diferentes teores de argila após 5 dias do início do experimento piloto .....	137
Figura 50. Número de tocas cavadas pelas megalopas de <i>U. cordatus</i> em substratos com diferentes teores de areia após 10 dias do início do segundo experimento da série .....	138
Figura 51. <i>U. cordatus</i> . À esquerda, megalopas sobre o sedimento drenado.....	139
Figura 52. Incremento do número médio de tocas nos tanques experimentais em três momentos após a liberação de 300 megalopas de <i>U. cordatus</i> . .....	140
Figura 53. Estrutura experimental montada para a realização dos experimentos. À direita, detalhes do aquário e da simulação de maré: (a) maré cheia, (B) maré baixa.....	152
Figura 54. Cercados experimentais instalados na área de manguezal do Centro de Operações Costeiras (C.O.C. - Instituto Ecoplan).....	153
Figura 55. Etapas da triagem utilizando a peneira fina para retenção dos caranguejos: dissolução dos agregados de sedimento na betoneira (esquerda) e eliminação do sedimento fino (direita). .....	154
Figura 56. Percentual de tocas de megalopa contabilizadas em relação à quantidade de larvas liberadas nos três tratamentos.....	155
Figura 57. Percentual do número de megalopas vivas e mortas encontradas após a triagem final do experimento, em relação à quantidade de larvas liberadas em cada tratamento. ....	156
Figura 58. Número de juvenis de <i>U. cordatus</i> sobreviventes nos aquários sem (Controle) e com (Tratamento) a presença de <i>Uca</i> spp. após 30 dias de colonização pelas megalopas.. .....	157
Figura 59. Coleta de caranguejos recolhidos do sedimento das unidades experimentais. ....	157
Figura 60. Juvenis de <i>U. cordatus</i> encontrados 90 dias após a liberação de 100 megalopas por unidade experimental. ....	158
Figura 61. Diferença entre as larguras médias de carapaça de juvenis de <i>U. cordatus</i> nas unidades experimentais tratamento e controle. Teste de Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ).....	159
Figura 62. Correlação entre o número de indivíduos de <i>U. cordatus</i> e de outras espécies triadas nas caixas experimentais (Spearman $r = - 0,78$ ). Linhas traçadas representam intervalo de confiança (95%). .	160

Figura 63. Índice de determinação de Pearson  $r^2$ . A esquerda, o número de juvenis de todas as espécies comparado com o número de juvenis de *U. cordatus* encontrados no experimento. A direita, o mesmo índice aplicado apenas para o número de juvenis de *Uca* spp. no mesmo experimento. .... 160

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Larvicultura de <i>U. cordatus</i> . Concentrações das quatro espécies de microalgas utilizadas na alimentação das larvas.....	38
Tabela 2. Probabilidades obtidas a partir das análises <i>à posteriori</i> das variações na posição média dos diferentes estágios do <i>U. cordatus</i> ao longo da coluna da água usando o teste de Tukey HSD.....	61
Tabela 3. <i>U. cordatus</i> . Taxas de sobrevivência de cada estágio de desenvolvimento larval, em diferentes protocolos alimentares. ....	86
Tabela 4. Acompanhamento individual das larvas cultivadas em cada unidade experimental. ....	88
Tabela 5. Baía de Paranaguá. Coordenadas dos pontos amostrados. ....	102
Tabela 6. Quantidade de larvas de <i>U. cordatus</i> capturadas nas coletas realizadas na baía de Guaratuba. ....	103
Tabela 7. Baía de Paranaguá. Características abióticas dos pontos amostrados. ....	106
Tabela 9. Zoeas de brachyura do atlântico sul, que não possuem espinho lateral na carapaça. ....	108
Tabela 8. Chave utilizada no experimento para diferenciar zoeas de <i>U. cordatus</i> das zoeas de outras espécies. ....	109
Tabela 10. Chave utilizada no experimento para identificar estágios larvais de zoeas de <i>U. cordatus</i> (*).....	110
Tabela 11. Regime de simulação de marés nos diferentes níveis de sedimento.....	122
Tabela 12. Número de tocas escavadas por megalopas de <i>U. cordatus</i> em sedimento de manguezal submetido a diferentes regimes diários de imersão.....	125
Tabela 13. Diferentes percentagens de areia e de argila utilizado nas unidades experimentais.....	133
Tabela 14. Resultados obtidos 10 dias após a liberação de 300 megalopas de <i>U. cordatus</i> em caixas experimentais mantidas em condições controladas.....	141
Tabela 15. Espécies de caranguejo encontradas nas caixas experimentais.....	141

## PREFÁCIO

O caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) habita os manguezais da costa atlântica ocidental, desde o sul do estado americano da Flórida até o norte do estado de Santa Catarina (Melo, 1996). Devido ao seu grande porte na fase adulta e ao apreciado sabor de sua carne, este caranguejo sempre é uma importante iguaria consumida em praticamente todo o litoral brasileiro (Freire, 1998).

Para as populações tradicionais, que vivem da extração de recursos dos manguezais, o caranguejo-uçá é umas das principais espécies comercialmente exploradas (Diegues, 1987; Auto, 2000), principalmente nas regiões norte e nordeste do Brasil (Ivo & Gesteira, 1999). O caranguejo-uçá, no entanto, vêm sofrendo grande pressão ambiental, não só pela caça indiscriminada, como também em função das alterações provocadas pelo homem em seu habitat (Ivo & Vasconcelos, 2000).

Episódios recorrentes de mortandade em massa de populações de caranguejo-uçá passaram a ser registrados na região Nordeste desde 1997 (Schmidt, 2006). Em um estudo desenvolvido por Boeger *et al.* (2005), o agente causador da enfermidade, batizada de DCL (Doença do Caranguejo Letárgico), foi identificado como sendo um fungo negro, do grupo dos ascomicetos. Assim, a conjunção desta enfermidade com outros fatores, como a sobrepesca e a destruição dos manguezais, vêm ameaçando seriamente a estabilidade das populações de *U. cordatus*.

As únicas ações de manejo populacional da espécie atualmente executadas envolvem a normatização da sua captura, que inclui a proibição da captura de fêmeas, proibição de captura de machos com largura de carapaça menor que 6 cm, estabelecimento de períodos de defeso e proteção de áreas de manguezal (PORTARIA nº 180/2002/IAP/GP, PORTARIA nº 52, MMA/IBAMA). Assim, o desenvolvimento de uma tecnologia replicável para a produção de larvas do caranguejo-uçá em larga escala e de repovoamento de áreas alteradas como medida adicional as já existentes, passou a ser acompanhado pela comunidade científica com muito mais interesse.

Em 2001, em resposta a um acidente ambiental ocorrido na Baía de Guanabara, no Rio de Janeiro, uma tecnologia aplicada para o repovoamento das populações do caranguejo-uçá, começou a ser desenvolvida no litoral do Espírito Santo. O projeto pioneiro foi levado a cabo pelo Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em parceria com a Petrobrás. A proposta era produzir em laboratório larvas do caranguejo-uçá para sua posterior liberação nas áreas afetadas pelo acidente, acelerando o processo de recuperação ambiental.

## **BREVE HISTÓRICO DO REPOVOAMENTO DE *UCIDES CORDATUS* NO BRASIL**

O acidente na refinaria Duque de Caxias, que atingiu a Baía de Guanabara, em janeiro de 2000, gerou a primeira demanda para o desenvolvimento de uma tecnologia técnico-científica para repovoamento de caranguejo-uçá no Brasil. Na ocasião, milhões de litros de óleo cru foram derramados em uma área de manguezal, afetando notadamente esse recurso pesqueiro, uma vez que a espécie é residente dos estuários, desenvolvendo a maior parte do seu ciclo de vida no interior das baías.

No aspecto socioeconômico, as populações ribeirinhas foram especialmente atingidas, dada a importância que o caranguejo representa no seu dia-a-dia. Por esse motivo, a Petrobrás, responsável pela refinaria onde ocorreu o acidente, propôs ao IBAMA-RJ um projeto inovador para a época, que era a produção de larvas de caranguejo em laboratório para recomposição populacional das áreas potencialmente afetadas.

### **Os primeiros ciclos de produção**

Os únicos cultivos larvais registrados com *U. cordatus*, até esta data, haviam sido realizados em pequena escala por Rodrigues & Hebling (1998), com o controle individual das larvas em placas de Petri, e com o objetivo de estudar o desenvolvimento larval da espécie. Em seu experimento, os autores cultivaram larvas em água com a salinidade de 24, sem aeração, alimentadas com náuplios de artêmia recém eclodidos. Porém, como a técnica empregada pelos referidos autores não permitiria a produção de larvas em larga escala, os primeiros cultivos tiveram que ser desenvolvidos de forma experimental, baseando-se inicialmente em tecnologias já existentes para a produção larval de outras espécies de crustáceos (Silva, 2002). O desenvolvimento das metodologias de larvicultura teve que seguir paralelamente à produção de larvas em número suficiente para o atendimento das demandas do projeto.

Em um pequeno e pouco equipado laboratório de larvicultura, localizado na praia de Uruçuquara, município de São Mateus, ES, foram realizadas as primeiras tentativas de desova e larvicultura (Figura 1). O projeto tinha um prazo muito bem definido para apresentar resultados satisfatórios: um ano.



Figura 1. Primeiro laboratório utilizado para a produção de larvas de caranguejo. Espírito Santo (2000-2001).

Os três primeiros ciclos de produção fracassaram, quando as pequenas quantidades de larvas obtidas em cada um dos eventos de eclosão morriam sem lograr atingir o estágio de zoea III.

Com o fim do ciclo reprodutivo do caranguejo-uçá para aquele ano se aproximando, vislumbrava-se a ameaça de fracasso do projeto, levando consigo qualquer possibilidade de continuação dos trabalhos. No entanto, duas alterações metodológicas introduzidas no quarto ciclo de larvicultura fizeram toda a diferença, alterando irreversivelmente o destino do projeto.

Observou-se que as eclosões ocorriam em perfeito sincronismo com as fases lunares, o que permitiu um preciso planejamento das atividades preparatórias do laboratório para as larviculturas.

Percebeu-se também que no momento crítico entre zoea II e zoea III, a ação deletéria de um patógeno conhecido como vibrio luminescente, ou *Vibrio harveyi*, causava a maior parte das mortalidades. Ao combater esse agente etiológico com medidas sanitárias e zootécnicas básicas como aumento da troca de água e controle do volume de alimento fornecido, foi possível pela primeira vez obter um lote de larvas (no estágio de megalopa) aptas para o repovoamento.

Nos últimos dois ciclos reprodutivos desse primeiro projeto, foram produzidos cerca de 2 milhões de larvas, que foram transportadas por caminhão do Espírito Santos até o Rio de Janeiro e liberadas em áreas determinadas pelo IBAMA, dentro da baía de Guanabara, em meio a um cerimonial público, marcando o encerramento do projeto, em junho de 2001.

O objetivo maior desse primeiro projeto era muito mais o desenvolvimento de uma tecnologia básica de larvicultura do que a recuperação populacional de *U. cordatus* nas regiões afetadas. Apesar do relativo sucesso das larviculturas, estava claro que as técnicas ainda precisavam ser substancialmente aperfeiçoadas.

### **A continuidade do projeto**

O sucesso do projeto pioneiro e sua repercussão serviram de incentivo para que a proposta de repovoamento fosse abraçada pelo Governo do Estado do Paraná. Um programa estadual de repovoamento de caranguejo-uçá, intitulado “Projeto de produção de larvas de caranguejos em larga escala para recuperação de áreas degradadas”, começou a ser executado desde 2003 no litoral paranaense, por pesquisadores do GIA.

As larviculturas passaram a ser realizadas no LAPOA (Laboratório de Pesquisa de Organismos Aquáticos), localizado em Curitiba/PR (Figura 2).



Figura 2. Laboratório de Pesquisa de Organismos Aquáticos (LAPOA/GIA/UFPR), localizado em Curitiba, PR.

Devido à distância até o mar, cerca de 120 km, a água marinha utilizada no laboratório precisava ser transportada em caminhões pipa e mantida através de sistemas de recirculação por filtragem biológica (Figura 3). Vários sistemas foram testados, desde grandes filtros centrais até filtros individuais.

Atualmente, três caixas de 20.000 litros recebem praticamente toda a água utilizada durante um ciclo inteiro. Através de bombeamento a água é levada até a laje superior, irrigando o substrato de brita contido em caixas de 3.000 litros. Toda a água circula por este sistema por 14 dias e então segue para uma caixa quarta caixa de 2.0000 onde é mantida por 2 dias para sedimentação, cloragem e aeração, antes de ser utilizada novamente.



Figura 3. Interior do LAPOA. Tanques para cultivo em larga escala de *U. cordatus*.

O programa vem sendo desenvolvido há quatro anos e ao todo mais de 4 milhões de megalopas foram liberadas diretamente no ambiente ou em áreas controladas para monitoramento experimental.

Durante muito tempo, parte das larvas produzidas foi destinada a experimentos em campo. Através de um convênio com o Instituto Ecoplan, o C.O.C. (Centro de Operações Costeiras) foi disponibilizado para o projeto (Figura 4). O local conta com infra-estrutura adequada à pesquisa, ao lado de uma área de manguezal relativamente bem preservada. O C.O.C. está situado às margens do rio dos Pinheiros, um dos afluentes da Baía de Guaratuba, no litoral paranaense. Parte dos experimentos descritos nos capítulos V, VII e VIII foi realizada neste local.



Figura 4. Instalações do Centro de Operações Costeiras (C.O.C./ Instituto Ecoplan).

A Baía de Guaratuba é o segundo maior sistema estuarino do litoral do estado do Paraná, região sul do Brasil (Figura 5). Este sistema estuarino comunica-se com o oceano Atlântico por uma abertura de aproximadamente 500 metros. A área ocupa aproximadamente 45 km<sup>2</sup> e prolonga-se para dentro do continente por cerca de 15 Km com vegetação típica de regiões de mangue. Sofre influência de água marinha durante todo o ano. Fatores abióticos da água, como salinidade e temperatura, apresentam variações sazonais, com valores extremos de temperatura durante o verão e inverno (28 e 15 ° C, respectivamente). A salinidade atinge valores menores no verão e mais elevados no inverno com extremos de 3 a 37, respectivamente (Chaves & Vendel, 2001).

O rio dos Pinheiros, localizado entre a Ilha do Veiga e a margem norte da Baía de Guaratuba (25°49'51,78"S, 48°34'43,99"W), está sujeito ao aporte de água marinha durante os momentos de maré cheia, porém também sofre grande influência de águas continentais. O substrato do fundo é representado em grande parte por lodo, com menores partes de areia e matacões. Suas margens apresentam áreas de manguezais formadas, em sua maioria, por *Laguncularia racemosa*, *Rhizophora mangle* e *Avicennia schaueriana* e, mais adentro, floresta ombrófila sub-montana. As áreas de manguezal abrigam caranguejos arborícolas como *Aratus pisonii* e *Goniopsis cruentata*, além daqueles bentônicos intertidais como *U. cordatus*, *Cyrtograpsus affinis*, *Eurithium limosum*, *Uca thayeri*, *U. rapax* e *U. maracoani* (Chaves & Vendel, op. cit).



Figura 5. Localização do C.O.C./ECOPLAN na Baía de Guaratuba.

## **O ATUAL ESTADO-DA-ARTE DA TECNOLOGIA DE REPOVOAMENTO DE *UCIDES CORDATUS***

### **A obtenção de larvas.**

O início da maturação gonadal do caranguejo-uçá ocorre em setembro. A partir de novembro a maior parte das fêmeas dos manguezais paranaenses encontra-se madura (Castilho, 2006). Geralmente, alguns dias após a primeira lua cheia de dezembro, algumas fêmeas já terão exteriorizado sua ovada. A cada lua subsequente, mais fêmeas desovam<sup>1</sup>, tornando a captura de fêmeas ovíferas nos manguezais uma atividade relativamente fácil.

---

<sup>1</sup> O termo “desova” se refere a exteriorização da massa de ovos. As fêmeas vão carregar os ovos presos nos endopodidos dos seus pleópodos por todo o período de desenvolvimento embrionário, que dura cerca de 28 dias. Até 3 dias antes da lua cheia ou nova, ocorrem as eclosões, que se referem ao nascimento das larvas e sua liberação na água.

Logo após a desova, os ovos carregados pelas fêmeas apresentam coloração arroxeadada, devido à alta concentração de vitelo dos embriões. À medida que o desenvolvimento embrionário avança, com a absorção deste vitelo, a coloração dos ovos muda gradativamente para o cinza.

As fêmeas ovígeras são capturadas por catadores profissionais, a partir dos manguezais da baía de Guaratuba, de Antonina e de Paranaguá e trazidas ao laboratório em sacos feitos de tela. No momento da captura, os catadores não atentam para o detalhe da coloração da ovada, visto que as fêmeas ainda estão bastante sujas de sedimento de manguezal.

No Laboratório, estas fêmeas são lavadas e desinfetadas com 10 ppm de formalina por 10 minutos. Após o enxágüe, os animais são separados, de acordo com a cor da ovada, em tanques diferentes, para as que liberarão as larvas nos dias que antecedem a próxima lua e aquelas em que as larvas ainda não estão prontas para eclosão.

O alimento oferecido aos caranguejos consiste basicamente em peixe picado em pequenos cubos. Folhas de mangue não fazem parte do cardápio. Somente as fêmeas mantidas para o ciclo seguinte são alimentadas, enquanto que aquelas prontas para eclosão ficam em jejum até que liberem as larvas. No entanto, antes de serem transportadas de volta para os manguezais, os animais são sempre alimentados.

Os tanques de eclosão, de 1.000 litros de capacidade, são preenchidos com água marinha na temperatura de 25 ° C ( $\pm 1$  ° C) e salinidade de 25. No interior dos tanques são instalados substratos de matéria plástica que permitem que as fêmeas permaneçam fora d'água se assim desejarem.

A eclosão geralmente ocorre cerca de 2 a 3 dias antes da lua cheia ou nova, sem estímulos artificiais. As larvas recém eclodidas são atraídas até a superfície da água dos tanques de eclosão, através de uma fonte luminosa. Como formam nuvens, são facilmente coletadas com Becker de 1 litro de capacidade.

As larvas são contadas e desinfetadas com 1 ppm de Polivinilpirrolidona de iodo (PVPI) por cerca de 10 segundos, antes de serem definitivamente liberadas nos tanques de cultivo.

As fêmeas, após a eclosão, são transportadas e liberadas novamente nas mesmas de onde foram capturadas, conforme condiciona o licenciamento do IBAMA.

### **A larvicultura.**

No LAPOA utilizam-se caixas plásticas com 1.000 litros de volume, previamente preenchidas com água marinha na salinidade de 25 e com temperatura em torno de 25 ° C ( $\pm 1$  ° C). Inicialmente, as larvas são estocadas em a uma densidade de 200 larvas por litro. Esta densidade de estoque é resultado de experimentos anteriores.

A larvicultura se inicia com a administração da microalga *Tetraselmis muelleri*, diretamente no tanque de cultivo até se atingir a densidade de 50 mil células por ml. A primeira troca de água é realizada após 3 dias, com a renovação de 30 % do volume total dos tanques. As larvas no estágio inicial são chamadas zoea I. Em média, a cada 2,5 dias as larvas sofrem ecdise para o estágio subsequente.

De acordo com Anger (2003), ácidos graxos poliinsaturados são fundamentais para o desenvolvimento larval dos Decapoda, e por não serem sintetizados pela larva, a sua suplementação torna-se necessária. Cultivos e experimentos anteriores demonstraram que a ausência destes nutrientes impede que as larvas atinjam estágios mais avançados que zoea II.

De acordo com Hino (1993), o rotífero pode ser utilizado como veículo para alimentos ricos em HUFA, que de outra forma não seriam ingeridos, por serem muito pequenos ou pouco atrativos para a larva. Por este motivo, ao atingirem o estágio de zoea II, rotíferos da espécie *Brachionus plicatilis*, são adicionados à dieta alimentar das larvas de caranguejo.

Os rotíferos são cultivados em ciclos de quatro dias, de acordo com o método semicontínuo, utilizando a microalga *Nannochloropsis oculata* como seu alimento. No último dia de cultivo, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é adicionada para se incrementar a densidade do cultivo (Snell, *et al.*, 1987). Os rotíferos são então concentrados em caixas filtro especiais e lavados vigorosamente em água marinha corrente para a total retirada dos resquícios da água de cultivo e transferidos para tanques de enriquecimento.

Cerca de 200 ml de uma emulsão comercial conhecida como Selco® são diluídos em 70 litros de água marinha na salinidade de 25, filtrada e desinfetada. Após duas horas imersos neste ambiente, os rotíferos dos tanque de enriquecimento são novamente concentrados e lavados para somente então, serem oferecidos às larvas, na densidade de 6 ind. por ml.

A partir deste estágio, a renovação de água, por troca, costuma ser realizada em dias alternados ou quando o monitoramento diário da qualidade da água assim o recomendar. Ao atingirem o estágio de zoea V, o regime alimentar é alterado pela adição de náuplios recém-eclodidos de artêmia, na densidade de 0,5 náuplios por ml, concomitantemente à suspensão do fornecimento de microalgas.

Quando atingem o estágio de megalopa, as larvas são embaladas para transporte em sacos plásticos transparentes com cerca de 20 litros de capacidade. Oxigênio é adicionado na água até que os sacos fiquem completamente inflados. As larvas são transportadas até regiões de manguezal e liberadas na maré enchente, o mais próximo possível das áreas do sedimento.

Este protocolo de larvicultura, incluindo a salinidade utilizada, a densidade de estoque e a seqüência de alimentos foram determinadas por experimentação continuada (Silva, 2002).

## **CONTRIBUIÇÕES DO PRESENTE ESTUDO NO DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA DE REPOVOAMENTO**

Atualmente, a tecnologia para o repovoamento do caranguejo-uçá precisa ser aperfeiçoada em duas direções prioritárias:

1) No processo de larvicultura, através de alteração das técnicas de manejo de cultivo para que, dessa forma, seja possível aumentar as taxas de sobrevivência obtidas.

2) Na compreensão das relações bióticas que ocorrem após a liberação das megalopas, a fim de aumentar as taxas de sobrevivência no ambiente e assim melhorar as chances de sucesso do empreendimento.

Na linha de desenvolvimento da larvicultura, o presente estudo tem como foco os problemas enfrentados durante os cultivos em larga escala realizados pelo GIA desde 2000.

Durante as larviculturas, eventos de alta mortalidade de larvas costumam ocorrer no final do estágio de zoea VI. Na maioria dos casos, esta mortalidade é muito rápida e intensa, afetando, de um dia para o outro, grande parte das larvas cultivadas. A cada manhã, do fundo dos tanques de cultivo, quantidades consideráveis de larvas mortas são retiradas por sifonamento. Após perdas de até 90% do total de larvas, as larvas remanescentes sofrem metamorfose para o estágio de megalopa.

Em busca de respostas para estes eventos, inúmeras pistas foram investigadas, ao mesmo tempo em que extensa pesquisa bibliográfica foi feita. Foi realizado um levantamento na literatura científica no sentido de verificar se este fenômeno também poderia ocorrer na larvicultura de outros decápodes e quais as medidas são atualmente recomendadas para evitar a sua ocorrência.

Verificou-se que este fenômeno havia sido reportado na larvicultura de diversas espécies de camarões marinhos ou de água doce ou mesmo caranguejos e siris (Bowser & Rosemark, 1981; Harpaz & Schmalbach, 1986; Montú, *et al.*, 1990; Bueno & Gastelú, 1998; Hamasaki *et al.*, 2002; Zeng *et al.*, 2004)

As observações evidenciaram padrões de comportamento que poderiam estar relacionados com as mortalidades. Estes padrões passaram a ser foco de investigações mais detalhadas. O presente estudo descreve estes experimentos investigativos em conjunto com outros, mais voltados ao desenvolvimento de um regime alimentar mais adequado.

O presente estudo objetiva melhorar a compreensão das relações entre as larvas liberadas e o ambiente, como forma de se aumentar as taxas de sobrevivência após a sua liberação no ambiente. Atualmente, os ciclos anuais de cultivo larval, do programa de repovoamento de *U. cordatus*, se encerram com a liberação das larvas em áreas escolhidas (Silva, 2002).

No entanto, a simples liberação de larvas diretamente no ambiente é considerada uma medida demasiadamente simplista para atingir o objetivo de recuperar populações de caranguejo em declínio, em função da grande complexidade das relações bióticas e abióticas a que as larvas liberadas estarão sujeitas. É prioritário que se re-avalie cada etapa do processo de desenvolvimento da tecnologia, de maneira a maximizar as taxas de sobrevivência e, com isso, aumentar a eficiência do repovoamento.

Outras espécies de caranguejos e siris, especialmente aqueles da família Portunidae, só aprendem a se enterrar no substrato, em resposta a presença de um possível predador, a partir da quarta muda do estágio juvenil. Isso fez com que programas de repovoamento de siris no Japão, há muito tenham abandonado o método de liberações de megalopa (Secor *et al.*, 2002). Um segundo cultivo, a chamada “Recria”, usualmente realizado próximo aos manguezais, passou a ser conduzido até que o juvenil apresente o comportamento necessário para sobreviver no ambiente natural.

No entanto, a megalopa de *U. cordatus* apresenta intensa geotaxia positiva, o que a faz procurar o sedimento dos manguezais tão logo seja liberada na água. A sua capacidade de cavar tocas, ainda na fase de megalopa, também a coloca relativamente a salvo da predação por peixes já nas primeiras horas sobre o sedimento. Por este motivo, a liberação de megalopas vem sendo realizada como parte da atual tecnologia de repovoamento de *U. cordatus*.

As evidências apresentadas pelo presente estudo sugerem que, por um motivo bastante diferente daquele que justificou a necessidade de um cultivo de segundo estágio, em um futuro próximo, a técnica de recria deva também ser desenvolvida para o *U. cordatus*, como ferramenta para aumentar as taxas de sobrevivência, assim como melhorar a previsibilidade dos resultados.

Desta maneira, o presente estudo tem por objetivo o aperfeiçoamento da tecnologia de repovoamento de *U. cordatus*, atuando em três pontos principais:

- a) Incrementar na sobrevivência durante na larvicultura. Buscar melhorias na técnica de larvicultura, através da investigação detalhada dos principais requerimentos larvais durante o cultivo em laboratório;
- b) Melhor compreensão dos eventos dispersão e recrutamento; Conhecer a dinâmica da dispersão larval do *U. cordatus*, no litoral paranaense.

- c) Analisar dos impactos decorrentes da liberação. Monitorando a eficácia do repovoamento através da compreensão das interações bióticas, das larvas cultivadas, já no ambiente onde ocorrem as liberações.

Estes resultados serão de grande importância tendo em vista que os esforços não tiveram início com a presente tese e nem se encerrarão após a conclusão da mesma.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUTO, P. C. C. Projeto manguezal: Relatório da reunião técnica sobre o estado da arte da pesquisa e ordenamento da cata do caranguejo-uçá no nordeste do Brasil. Ibama. Tamandaré. Brazil. 2000.

BOEGER, W. A., PIE, M. R., OSTRENSKY, A. & PATELLA, L. Lethargic crab disease: multidisciplinary evidence supports a micotic etiology. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. V. 100(2), pp. 161-167. 2005.

BOWSER, P. R. & ROSEMARK, R. Mortalities of cultured lobsters, *Homarus sp.*, associated with a molt death syndrome. Aquaculture, v. 23(1-4), pp. 11-18. 1981.

BUENO, S. L. S & J. C. G. GASTELÚ. Doenças em camarões de água doce. Carcinocultura de água doce: tecnologia de produção de camarões Valenti, W. C. ed. Fapesp. São Paulo. 1998.

CASTILHO, G. G. Aspectos Reprodutivos do Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L.) (crustacea, brachyura, ocyropodidae), na Baía de Antonina e Paranaguá, Paraná, Brasil. Tese de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba – Paraná. 102 pp. 2006.

CHAVES, P. T. & A. L. VENDEL. Baía de Guaratuba, Paraná: Um estudo de caso sobre ictiofauna em estuários. Reunião técnica sobre ictiologia em estuários. Paulo de Tarso Chaves e Ana Lúcia Vendel eds. 93 Pp. 2001.

DIEGUES, A.C. Conservação e desenvolvimento sustentado de ecossistemas litorâneos no Brasil. In: 1º SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DA COSTA SUL E SUDESTE BRASILEIRA. São Paulo. Academia de ciências de São Paulo. Pp.196-243. 1987.

HAMASAKI, K, SUPRAYUDI, M. A. & T. TAKEUCHI. Mass mortality during metamorphosis to megalops in the seed production of mud crab *Scylla serrata* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) Fisheries science. 68: 1226–1232. 2002.

HARPAZ, S. & SCHMALBACH, E. A. Improved growth and health of the Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, by addition of fresh leaves to the artificial diet. Aquaculture, v. 55, pp. 81–85. 1986.

IVO, C. T. C. & GESTEIRA T.C.V. Sinopse das observações sobre a Bioecologia e Pescado Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* capturado em estuários de sua área de ocorrência no Brasil. 1999.

IVO, C. T. C., VASCONCELOS, J. A. De VASCONCELOS, E. M. S. De. Estudo sobre a biologia do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus*, (Linnaeus, 1763), capturado no estuário do rio Curimatau (Canguaretama), no estado do Rio Grande do Norte. Relatório da Reunião Técnica sobre o Estado da Arte da Pesquisa e Ordenamento da Cata do Caranguejo-uçá no Nordeste do Brasil. IBAMA. Tamandaré, PE. Pp 22-25. 2000.

MELO, G. A. S. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Ed. Plêiade/FAPESP, 604 pp. 1996.

MONTÚ, M., ANGER, K. & De BAKKER, C. Variability in the larval development of *Metasesarma rubripes* (Decapoda, Grapsidea) reared in the laboratory. Nerítica, v. 5, pp. 113–128. 1990.

SANTAROSA-FREIRE, A. Dispersão larval do caranguejo do mangue *Ucides cordatus* em manguezais da Baía de Paranaguá, Paraná. Tese de Doutorado. Doutorado em Oceanografia (Oceanografia Biológica) da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1998.

SECOR, D. H., HINES, A. H. & PLACE, A. R. Japanese hatchery-based stock enhancement: lessons for the Chesapeake Bay blue crab. Maryland Sea Grant publication, N.1, 62pP. 2002.

SCHMIDT, A. J. Estudo da dinâmica populacional do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus cordatus* (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA-DECAPODA-BRACHYURA), e dos efeitos de uma mortalidade em massa desta espécie em manguezais do Sul da Bahia. Dissertação de mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, pp. 199. 2006.

SILVA, U. A. Cultivos Experimentais de Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763). Tese de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba – Paraná. 89 pp. 2002.

ZENG, C., LI, S. & ZENG, H. Occurrence of additional zoea-VI larvae in the mud crab, *Scylla paramamosain* (Estampador), reared in the laboratory. Hydrobiology, v. 529, pp. 49-58. 2004.

## RESUMO GERAL

O caranguejo-uçá, *Ucides cordatus*, é considerado um dos componentes biológicos mais importantes do ecossistema de manguezais, além de apresentar grande relevância econômica para as populações ribeirinhas. Atualmente, a espécie sofre com a intensa pressão de captura, com a destruição de seu habitat e com a ocorrência da Doença do Caranguejo Letárgico, que tem devastado populações do caranguejo-uçá ao longo da costa Nordeste brasileira. O repovoamento vem sendo estudado recentemente como alternativa de manejo pesqueiro para a espécie.

Ciclos de produção de larvas da espécie são realizados anualmente desde 2003 como parte de um programa institucional de repovoamento de caranguejo-uçá, no litoral paranaense. O presente estudo parte do ponto em que atualmente se encontra o estado-da-arte desta tecnologia e procura avançar em duas direções: 1) desenvolver o processo de larvicultura e assim aumentar as sobrevivências atualmente obtidas nos cultivos; 2) melhorar a compreensão das relações bióticas que ocorrem após a liberação da larva e assim melhorar as chances de sucesso dos projetos de repovoamento.

Um método de avaliação da higidez larval durante o cultivo, atualmente utilizado nas larviculturas em larga escala, que se baseia na observação de características apresentadas pelas larvas cultivadas, foi testado utilizando 4 diferentes protocolos alimentares. Das características observadas, a condição do hepatopâncreas, representada pela quantidade de lipídeos presentes neste órgão, foi a que mais diretamente se relacionou com o bem estar larval e com as taxas de sobrevivência parcial e final observadas.

Foram testadas 4 espécies diferentes de microalgas, comumente utilizadas na larvicultura de decápodes: *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis gracilis*, *Nannochloropsis oculata* e *Thalassiosira weissflogii*. Os tratamentos que utilizaram as duas primeiras propiciaram os melhores resultados, tanto em termos de sobrevivência, quanto de higidez larval.

Foi realizado um experimento para compreender a movimentação vertical das larvas observadas no final dos cultivos e determinar se o contato das mesmas com o material orgânico em decomposição no fundo dos tanques poderia ser evitado com a utilização de tanques mais profundos. Os resultados demonstraram que o movimento é parte de um comportamento natural e ontogênico que envolve uma amplitude de mais de 3 metros e assim não poderia ser evitado com o uso de tanques e sistemas de cultivo utilizados rotineiramente em aquíicultura.

Foi realizada uma série de experimentos visando uma melhor adequação do ambiente de cultivo ao comportamento de movimentação vertical observado no estágio de zoea VI. Os resultados demonstraram que o uso de tanques de fundo plano obteve melhores resultados com relação à velocidade na mudança dos estágios e à condição do hepatopâncreas. Verificou-se que o efeito deletério do contato da larva com o fundo é maior quando existe um grande acúmulo de material orgânico presente nos tanques. Das varias formas testadas para contornar o problema, a sifonagem proporcionou a maior taxa de metamorfose de zoea para megalopa. Por fim foi testada uma série de substratos durante o cultivo larval. Os resultados indicam que a utilização de substratos não aumenta a taxa de sobrevivência durante o cultivo da fase de zoea e no tratamento com sedimento de manguezal, a mortalidade das larvas foi significativamente mais alta que os demais.

O desenvolvimento larval de *U. cordatus* foi analisado através de cultivos individuais com o objetivo de correlacionar os eventos de mortalidade que costumam ocorrer no final dos cultivos e a ocorrência de distúrbios no processo de ecdise. Os resultados demonstraram que a ontogenia da espécie envolve mais frequentemente 5 estágios larvais. O aparecimento do 6º estágio de zoea foi relacionado com a obtenção de taxas de sobrevivência mais baixas. A mortalidade da zoea VI está intimamente relacionada a

dificuldades no momento da ecdise para o próximo estágio, comparáveis àquelas descritas na literatura para outras espécies de decápodes e que recebem a denominação de MDS, ou “Molt Death Syndrome”.

A quantidade e os momentos em que as zoeas de *U. cordatus* saem das regiões de manguezal em um rio afluente da baía de Guaratuba, foram estimados. No total, foram capturadas 112.428 zoeas e 389 megalopas identificadas como sendo de *U. cordatus*.

No local estudado, as maiores quantidades de zoea foram capturadas no início dos movimentos de maré vazante, enquanto que as maiores quantidades de megalopa foram coletadas no final da maré enchente.

Foram realizados arrastos em determinados pontos no interior da Baía de Paranaguá, que apresentam condições ambientais minimamente favoráveis ao desenvolvimento larval de *U. cordatus*. Os resultados revelaram que 4 % do zooplâncton eram compostos por zoeas de *Brachyura* e apenas 9 % destes foram identificados como zoeas de *U. cordatus*. Entre os estágios larvais de *U. cordatus* observados, 46% se encontravam no estágio de zoea I, 40% zoea II, 5,6 % zoea III, 4,2 % zoea IV, 2,8 % zoea V e 0,9% zoea VI.

Para determinar a influencia de períodos de imersão na taxa de colonização e sobrevivência de megalopas de *U. cordatus*, uma série de experimentos foi realizada. Os resultados revelaram que o ressecamento, mais que a imersão excessiva, afeta negativamente a sobrevivência do caranguejo-uçá, nos seus primeiros momentos sobre o sedimento dos manguezais.

A melhor composição granulométrica foi determinada através de um experimento que testou diferentes concentrações de areia e lodo no substrato oferecido para as larvas. Os resultados demonstraram que lodos muito finos, com grande concentração de água, característicos dos taludes, não são adequados para o primeiro assentamento da megalopa de *U. cordatus*, assim como terrenos mais arenosos, encontrados em regiões do supralitoral, também foram preteridos por larvas neste estágio.

As taxas de sobrevivência de megalopas em condições controladas em laboratório foram estimadas. Os resultados indicaram uma taxa de sobrevivência de 69% com alimentação artificial e na ausência de competidores e predadores. Já as taxas de sobrevivência de megalopas em condições próximas às naturais, em que as larvas liberadas não receberam alimentação artificial e estiveram expostas as intempéries, indicam uma sobrevivência média de 19,33%, 3 meses após a liberação.

Para estimar as taxas de sobrevivência das megalopas de *U. cordatus* na presença de competidores intra e interespecíficos, uma série de experimentos foi realizada no laboratório e em campo. Os resultados demonstram que o estágio de megalopa do *U. cordatus* é pouco competitivo entre si nesta fase da vida, desde que áreas de refúgio sejam abundantes.

O experimento de competição interespecífica demonstrou que caranguejos chama-maré, do gênero *Uca* muito comuns em áreas de manguezal do Estado do Paraná, tem um efeito negativo na sobrevivência do *U. cordatus*. Em um futuro próximo, um segundo estágio de cultivo, que permita que se atinja o estágio juvenil antes da liberação definitiva deverá ser desenvolvido. No atual estado-da-arte da tecnologia de repovoamento de *U. cordatus*, a liberação de megalopa é tecnicamente justificável.

**GENERAL ABSTRACT**

The mangrove crab, *Ucides cordatus*, is one of the most important biological components of mangrove ecosystems. This species represents an important fishery resource for traditional communities living in mangrove areas. Populations of this species are declining in several locations due to over fishing, habitat destruction and a newly described "Lethargic Crab Disease", with devastating effect over populations of the mangrove crab in Northeastern Brazil.

The large scale larviculture of edible mangrove crab *U. cordatus*, followed by the release of the larvae directly into the environment has been carried out since in 2001. The technology currently employed, although capable of positively answering the stock restoration program demands, still in an experimental phase. The present study begins at present state-of-art of the technology and advances in two directions: 1) to develop the larviculture process, in order to increase the survival rates that are currently obtained 2) to improve the understanding of biotic relationship occurring after the release of the larvae, in order to improve the possibilities of success of the enterprise.

A classical method of evaluation of larval health, based on observation of certain characteristics on the larvae during the culture was tested, using 4 different alimentary protocols. Of all observed characteristics, only the condition of hepatopâncreas could be directly related to the larval welfare and partial and final survival rates.

Four different micro algae species, commonly used in larviculture of decapods, have been tested as base of a feeding schedule for larvae of *U. cordatus*. Of all tested species, *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis gracilis*, *Nannochloropsis oculata* and *Thalassiosira weissflogii*, the treatments that used the first two obtained the best results, in terms of survival rates as well as larval health.

A vertical movement behavior, observed near the end of culture, tended to happen in the same time with of the onset of a series of mortality events. To determine if the contact of the larvae with the bottom of tanks, due to this behavior, could be prevented with use of deeper tanks, an experiment was carried out. The results demonstrated that this movement was part of a natural and ontogenetic behavior involving amplitude of more than 3 meters. Thus, the contact between larvae and the tank bottom could not be prevented with the use of tanks or systems routinely used in aquaculture.

A series of experiments aiming at developing a culture environment adapted to the vertical movement behavior was carried out. The results demonstrated that the use flat bottom tanks could achieve better results in terms of duration of larval stages and the condition of hepatopâncreas. The deleterious effect from the contact of the larva with the tank bottom and different ways to manage this problem was addressed by a series of experiments. Of all the tested forms, siphoning the organic material accumulated of in the tanks resulted in the highest rate of metamorphosis from zoea to megalopa. Finally different substrata were tested during the larval culture. The results indicate that the use of substrata do not significantly increase the rate of larval survival in larviculture of zoeal stages and in at least one of the treatments, the mangrove sediment, the mortality of the larvae were significantly higher than the remaining treatments.

The larval development of *U. cordatus* was analyzed through an experiment of culturing in individual flasks. This method aimed to correlate the events of mortality to the occurrence of disturbances in the process of ecdysis. The results demonstrate that ontogeny of the species more frequently involves 5 larval stages. The appearance of 6<sup>o</sup> stage of zoea was correlated with inadequate environmental variables and to lower survival rates. These events are comparable to the phenomena observed in the larviculture of other species of decapods described in literature as MDS, or "Molt Death Syndrome".

The amount of *U. cordatus* zoea leaving flooded mangrove areas in the direction of coastal regions and the quantity of megalopa returning to parental habitats were estimated. A total of 112,428 zoeae and 389 megalopae, positively identified as being *U. cordatus*, have been captured. The largest amounts of zoea were captured in the beginning of receding tide while for the megalopae, the largest numbers were collected at end of the flood tide.

Plankton net samplings have been carried out at certain points in the interior of the Bay of Paranaguá. The results showed that 4 % of all the zooplankton collected was composed of zoea of Brachyuran crabs. Of those, only 9 % was positively identified as zoea of *U. cordatus*. Among the larval stages of *U. cordatus*, 46% were identified as zoea I, 40% zoea II, 5,6 % zoea III, 4,2 % zoea IV, 2,8 % zoea V and 0.9% zoea VI.

The effect of different times of sediment immersion on the survival rate of megalopae was estimated. The results demonstrate that drying, more than excessive immersion periods had a negative effect on the survivorship of the young *U. cordatus*, especially in their first moments after the settlement.

The best mud and sand composition of the sediment was determined through an experiment. The results, in terms of number of burrows excavated by megalopae, demonstrated that excessively fine silts in high water concentration, which characterizes substratum found in slopes, do not seem to be the best set for first settling for megalopa of *U. cordatus*. In the other hand, excessively sandy bottoms, found in higher supra-tidal regions, are also avoided by larvae in this stage.

The settlement and early survival rates of megalopae of *U. cordatus* in optimal experimental conditions were estimated. The results indicated a 69% survival rate in conditions of predator and competitor exclusion. In the other hand, the survival rates of megalopae released directly in quasi-natural environments, where released larvae were exposed to natural weather and did not received any type of artificial food, showed an average survival rate of 19.33%, 3 months after release.

The effect of intra-specific competition was estimated through releases of different amounts of larvae of *U. cordatus* in plastic trays containing mangrove sediment. The results showed that stage of megalopa of *U. cordatus* is not as competitive among themselves in this phase of its life, provide that shelter areas are abundant.

The combined effect of natural ambient conditions and inter-specific competition on the survival rates of megalopae was estimated. 20 boxes were installed on a relatively well preserved area. Half of the boxes received 50 juveniles of fiddler-crabs *Uca* spp. prior the release of the laboratory cultivated megalopae. The average survival rate, in the boxes without competitors was of 29,9 %, while in the boxes with their presence, the survival dropped to 4,6 %. The difference between the average of carapace width, for *U. cordatus* juveniles, between the controlled and treatment units were considered very significant. The results demonstrated that inter-specific competition represents an important impact in the survival of megalopae of *U. cordatus* cultivated in laboratory and released directly in the environment.

Thus, in a near future, a second stage of cultivation, allowing the metamorphosis of the megalopae of *U. cordatus* to the juvenile stage, before its definitive release, should be developed. In the present state-of-art of the technology for stock restoration of species, the release of megalopae is still technically justifiable.

## Capítulo I - Avaliação de diferentes indicadores do estado de higidez de larvas do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea : Brachyura : Ocypodidae)

### RESUMO

Foram avaliados diferentes métodos para determinação do estado de higidez de larvas de *U. cordatus* durante o processo de larvicultura, utilizando-se para isso os seguintes indicadores: condição do hepatopâncreas; presença de cordão fecal no intestino posterior; presença e a quantidade relativa de epibiontes; integridade do espinho dorsal; taxas finais de sobrevivência larval. Para isso, as larvas de *U. cordatus* foram mantidas em tanques com capacidade para 100 l, em água com temperatura de 26°C e salinidade de 25. As larvas foram alimentadas com quatro microalgas ofertadas individualmente, todas testadas em triplicata: *Tetraselmis gracilis*, *Chaetoceros muelleri*, *Nannochloropsis oculata* e *Thalassiosira weissflogii*. Em todos os tratamentos, a dieta foi complementada com rotífero *Brachionus plicatilis*, na densidade de 6 rotíferos por ml. Observou-se que as taxas finais de sobrevivência larval estiveram relacionadas diretamente às condições do hepatopâncreas, enquanto as demais variáveis analisadas apresentaram fraca correlação com o estado de higidez larval. Testes de Kruskal-Wallis indicaram que as microalgas *T. gracilis*, e *C. muelleri* são as mais adequadas para a larvicultura de *U. cordatus*. *N. oculata* apresentou resultados apenas intermediários, porém superiores aos obtidos com *Thalassiosira weissflogii*. Nos ciclos de cultivo larval realizados após este experimento, as microalgas *C. muelleri* e *T. gracilis* passaram a ser adotadas como padrão para a larvicultura da espécie.

Palavras-chave: hepatopâncreas, larvicultura, repovoamento, zoea.

### ABSTRACT

A method of evaluation of larval health, currently used in large scale larvicultures of *U. cordatus*, is based on the observation of certain characteristics of the larvae during the culture. The observed items are the condition of hepatopâncreas, presence of fecal strands in posterior intestine, presence and the relative amount of epibiontic organisms and integrity of dorsal spine, This method was tested comparing the results of a feeding schedule using 4 different alimentary protocols with partial and final survival rates. 20.000 larvae of *U. cordatus* were cultured in 12 tanks 100 l capacity, with sea water with temperature of 25 °C ± 1° C and 26 of salinity. The larvae were fed with four different species of micro algae, all tested in triplicate: *Tetraselmis gracilis*, *Chaetoceros muelleri*, *Nannochloropsis oculata* and *Thalassiosira weissflogii*. In all treatments, the diet was complemented with rotifer *Brachionus plicatilis*, enriched with a commercial emulsion, at density of 5 rotifers per ml. It was observed that final survival rates closely related to the conditions of hepatopâncreas, while al other characteristics analyzed presented weak correlation with the state of larval healthiness. The results also demonstrated that, of all tested species of micro algae, *T. gracilis*, and *C. muelleri* could be recommended for larvicultures of *U. cordatus*. *N. oculata* presented intermediate results and it could be useful as food for rotifers and while *T. weissflogii* is clearly not recommended for the species. The *T. gracilis* and *C. muelleri* are the micro algae currently adopted as part of standard feeding procedure in the larviculture of the species.

Key words: hepatopâncreas, larviculture, stock enhancement, zoea

## INTRODUÇÃO

Em anos recentes, a recuperação de populações de caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L.1763), através da liberação de formas imaturas nas áreas mais afetadas, passou a ser uma possibilidade aventada com maior frequência pela sociedade civil organizada e pelo Poder Público (Silva, *et al.*, 2006). No entanto o repovoamento desta espécie ainda depende do desenvolvimento de tecnologias mais apropriadas, especialmente no que diz respeito à sua larvicultura em larga escala.

A larvicultura de *U. cordatus* foi realizada com sucesso pela primeira vez por Rodrigues & Hebbeling (1989). Os autores utilizaram placas de petri individuais de 20 ml, contendo água marinha, na salinidade de 24 e náuplios recém eclodidos de artêmia, *ad libitum*, como alimento. Os autores conseguiram obter larvas suficientes para a descrição morfológica de todos os estágios larvais da espécie: seis zoeas e um de megalopa. Porém, para obtenção da quantidade de larvas necessárias para um programa de repovoamento, este método não seria adequado. Além da escala reduzida de produção, um dos principais problemas teria relação com o custo e com a adequação da alimentação das larvas.

Abrunhosa *et al.* (2002), sugerem que, para fins de repovoamento, as taxas de sobrevivência ideais durante a larvicultura devam girar em torno de 50%. Os autores ressaltam que as microalgas são importantes para suprir as necessidades nutricionais das larvas de *U. cordatus*. Por fim, destacam que ainda não está claro quais seriam as espécies de microalgas ou a combinação de diferentes alimentos mais apropriados para o sucesso da larvicultura. Silva (2002), trabalhando em um projeto de repovoamento de caranguejo-uçá, lançou mão da microalga *Tetraselmis chuii* para complementar a alimentação das larvas. Naquele caso, as taxas finais de sobrevivência larval chegaram a 8%.

Na aquicultura mundial, no entanto, microalgas dos gêneros *Tetraselmis* e *Chaetoceros* já vêm sendo utilizadas em larviculturas em larga escala de crustáceos desde a década de 60, sendo consideradas indispensáveis nas larviculturas de camarões marinhos (Guillard, 1975). Somente a partir da década de 1990, métodos para a produção de larvas de caranguejos em laboratório, utilizando microalgas como fonte de alimento complementar, começaram a se tornar frequentes. Desde então, diversas espécies de microalgas foram testadas na larvicultura de caranguejos e siris (Ariyama, 2000; Secor *et al.*, 2002).

Porém, para que se possa comparar o efeito de diferentes dietas sobre o desenvolvimento larval de uma espécie de crustáceo, torna-se necessário desenvolver e validar previamente uma ferramenta metodológica mais adequada para a avaliação da higidez larval. Esta, por sua vez, deveria ser sensível o suficiente para identificar os sinais clínicos de uma dieta menos adequada ainda durante a larvicultura, permitindo a correção

de eventuais deficiências nutricionais do regime alimentar empregado (Tayamen & Brown, 1999).

Testes como os de stress, comumente utilizados por laboratórios de larvicultura de camarões, são pouco sensíveis e apontam apenas situações limítrofes de higidez larval (Clifford, 1992). Já a análise das taxas de sobrevivência obtidas ao final de cada cultivo está sujeita a um grande número de variáveis, além de ser um fato irreversível, não permitindo a correção de problemas antes que as suas conseqüências se manifestem.

O presente estudo tem como objetivo testar a eficiência de um método para avaliar o estado de higidez das larvas do caranguejo-uçá. O trabalho também avalia, dentre as principais espécies de microalgas comumente utilizadas na larvicultura de larvas de camarões marinhos, quais propiciam as melhores taxas de sobrevivência e o menor tempo de desenvolvimento larval de *U. cordatus*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Montagem das unidades experimentais**

Os experimentos foram realizados entre dezembro de 2004 e março de 2005, coincidindo com o período em que ocorrem as eclosões de *U. cordatus* na natureza. Todas as larviculturas experimentais, bem como os cultivos de microalgas e de rotíferos foram realizados no Laboratório de Pesquisa de Organismos Aquáticos (LAPOA), localizado em Curitiba, PR.

As larvas de *U. cordatus* foram obtidas a partir de fêmeas com ovos ovígeras, coletadas em manguezais de Paranaguá, Antonina e Guaratuba, no litoral paranaense, cinco dias antes da lua cheia. As fêmeas foram mantidas em tanques de polietileno cinza escuro, com capacidade para 1.000 litros e em condições ambientais controladas (temperatura  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , salinidade 25, concentração mínima de oxigênio dissolvido de 7 mg/l).

A unidade experimental consistiu de tanques plásticos cilíndricos, de 70 cm de diâmetro e 75 cm de altura, com fundo chato e com capacidade para 100 litros cada. Os tanques foram preenchidos com água marinha (salinidade de 25), filtrada e previamente desinfetada (5 ppm de hipoclorito de sódio por 24 horas, seguido de neutralização com tiosulfato de sódio). As larvas zoea I recém-eclodidas foram coletadas e homogeneizadas em um balde, contadas e transferidas para as unidades experimentais de larvicultura. Cada tanque foi povoado com 20.000 larvas zoea I (densidade de 200 larvas/l). Cada tanque contava com uma pedra de aeração de 7 cm, que gerava uma movimentação da massa d'água apenas suficiente para a homogeneização do alimento, permitindo, porém, que a larva se movimentasse livremente.

Foram testadas quatro espécies de microalgas, que foram escolhidas dentre os gêneros mais comumente utilizados em larvicultura de camarões marinhos: *Chaetoceros*, *Tetraselmis*, *Nannochloropsis* e *Thalassiosira*. (Cook & Murphy, 1969; Liao, *et al.*, 1983; Gomes, 1986). As concentrações das microalgas *C. muelleri* e *T. weissflogii* foram baseadas em Treece (1985) e Ako (1995) para larvicultura de camarões marinhos e as de *N. oculata* e *T. gracilis* foram as usualmente empregadas no setor de larvicultura massiva do LAPOA/GIA (Tabela 1). Cada tratamento experimental (espécie de microalga) foi testado em triplicata, totalizando 12 tanques de larvicultura.

As microalgas foram cultivadas à salinidade de 25; repicadas a partir das cepas mantidas no cepário e cultivadas no sistema "batch" até o volume final de dois litros, usando meio de cultura Guillard's F/2 (Guillard, 1975).

Como a administração do rotífero enriquecido não poderia deixar de ser realizada, sob o risco de inviabilizar o experimento (ver Prefácio), as larvas de todos os tratamentos foram alimentadas com igual quantidade de rotífero *Brachionus plicatilis*, enriquecidos, na densidade 6 rotíferos por ml de água do cultivo, distribuindo qualquer efeito igualmente entre os tratamentos.

Tabela 1. Larvicultura de *U. cordatus*. Concentrações das quatro espécies de microalgas utilizadas na alimentação das larvas.

Sigla	Tratamento (Microalga)	Concentração cels por ml
Chaeto	<i>Chaetoceros muelleri</i>	300.000
Tetra	<i>Tetraselmis gracilis</i>	50.000
Nanno	<i>Nannochloropsis oculata</i>	1.200.000
Thala	<i>Thalassiosira weissflogii</i>	300.000

A água dos tanques foi renovada diariamente a uma taxa de 10% através de troca. As concentrações de nitrogênio na forma de amônia total (N-AT: N-(NH<sub>3</sub>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e de nitrito (N-NO<sub>2</sub>) foram monitoradas diariamente.

A cada 3 dias, era realizada uma amostragem em cada um dos tanques, para determinação das taxas parciais de sobrevivência, utilizando copos graduados de 300 ml. O copo invertido era mergulhado na água e girado em 180° subitamente. Todas as larvas eram contadas e devolvidas. Eram realizadas cinco amostragens em diferentes profundidades, tomando-se máximo cuidado para evitar a movimentação do sedimento do fundo.

O experimento teve duração de 23 dias, período em que a maior parte das larvas zoea I, através de sucessivas mudas, atingiu o estágio de megalopa.

### Critérios para avaliação da qualidade larval

A cada dois dias, 10 larvas de cada tanque foram coletadas ao acaso, levadas ao laboratório e examinadas sob microscópio ótico e estereomicroscópio. As larvas retiradas para observação ao microscópio não eram devolvidas.

Os critérios avaliados para determinação da qualidade das larvas foram definidos com base no método proposto por Tayamen & Brown (1999) para *Macrobrachium rosenbergii* e também comumente utilizadas na larvicultura de camarões marinhos (Bray & Lawrence, 1991; Barbieri & Ostrensky, 2001), com adaptações para as especificidades biológicas e de cultivo larval de *U. cordatus*. Para isso, utilizaram-se as seguintes variáveis: quantidade relativa de lipídio presente no hepatopâncreas, presença de cordão fecal no intestino posterior, presença e quantidade relativa de organismos epibiontes e integridade do espinho dorsal, tempo necessário para mudança de estágio larval e taxas de sobrevivência parcial e total. Neste trabalho, estas variáveis serão chamadas "indicadores do estado de higidez larval", ou simplesmente "indicadores" (Figura 6).

O primeiro indicador utilizado baseia-se em uma análise visual da relação entre a área ocupada pelas gotículas de lipídios e a área total da carapaça da larva. Cada larva analisada recebia um escore, variando de 0 a 5. Para efeitos de padronização, este indicador será aqui chamado de "Condição do Hepatopâncreas". As larvas com espinho dorsal íntegro receberam o escore 1 enquanto aquelas com espinho lesionado receberam escore zero. Larvas com cordão fecal presentes receberam o escore 1 e a sua ausência, escore zero. A presença de protozoários peritríquios e bactérias filamentosas era registrada com escores que variaram de 0 a 3, de acordo com o grau de infestação (Figura 7).

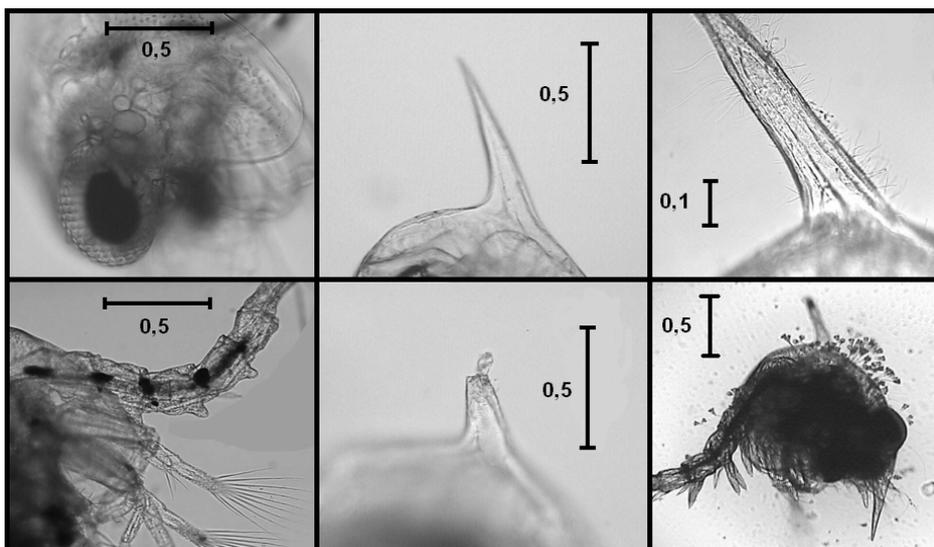


Figura 6. *U. cordatus*. Características utilizadas como indicadores do estado de higidez larval. (A) Condição do Hepatopâncreas. (B) Presença de cordão fecal. (C) Integridade do espinho dorsal: íntegro (C1) e lesionado (C2). (D) Presença de organismos epibiontes sobre o exoesqueleto: bactérias filamentosas (D1) e ciliados peritríquios (D2). Escalas em µm.

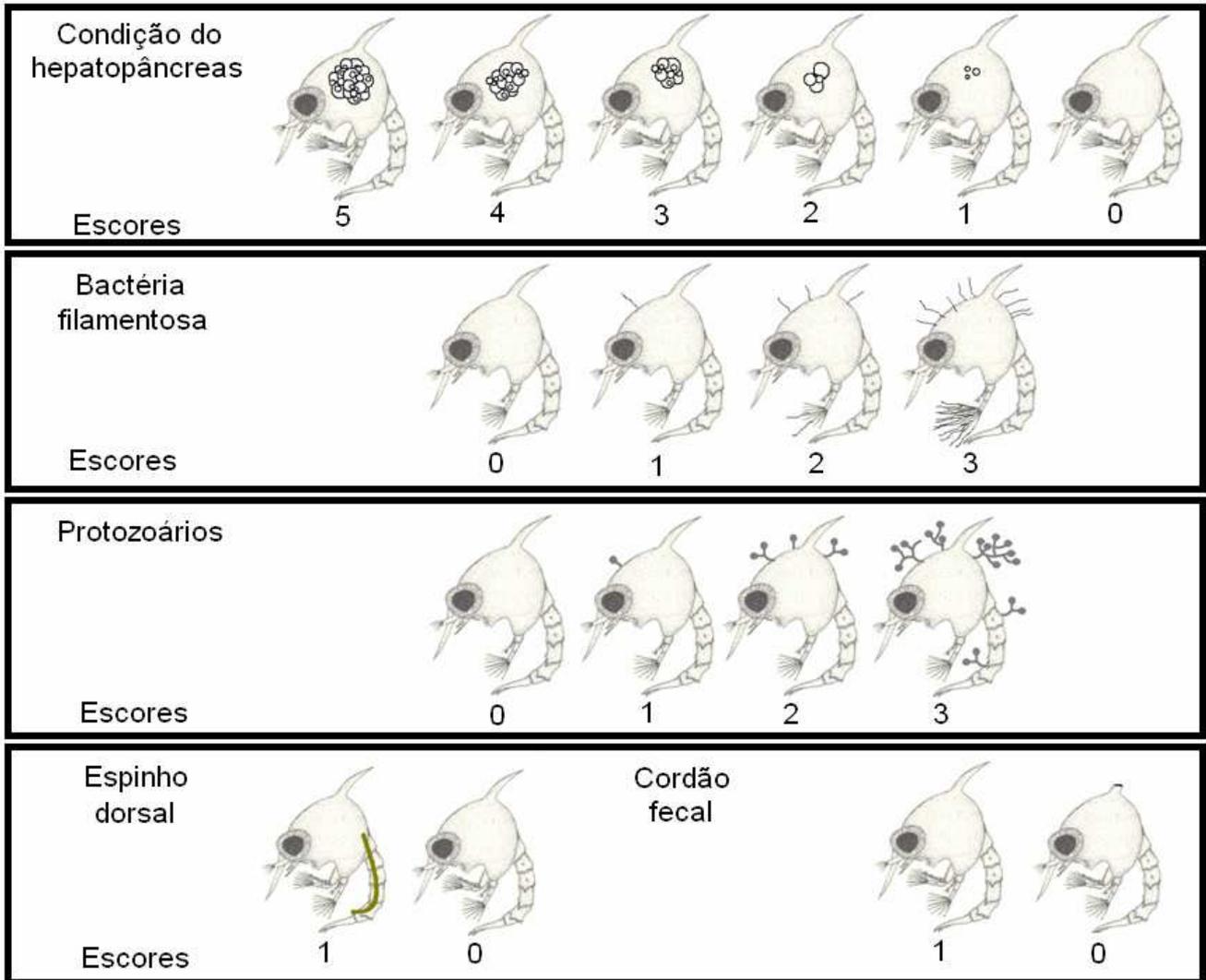


Figura 7. Critério utilizado no estabelecimento dos escores para cada um dos indicadores.

## RESULTADOS

As taxas de sobrevivência das larvas em todos os tratamentos caíram de um patamar de cerca de 95%, registrados no 3º dia de cultivo, para cerca de 40%, no 9º dia, quando a maioria estava entre o estágio de zoea V e zoea VI. A partir deste momento, os tratamentos com *Chaetoceros muelleri* e *Tetraselmis gracilis* passaram a apresentar uma redução gradual nas taxas de mortalidade, refletindo em um distanciamento das curvas de sobrevivência registrado nos tratamentos à base de *Nannochloropsis oculata* e de *Thalassiosira weissflogii* (Figura 8).

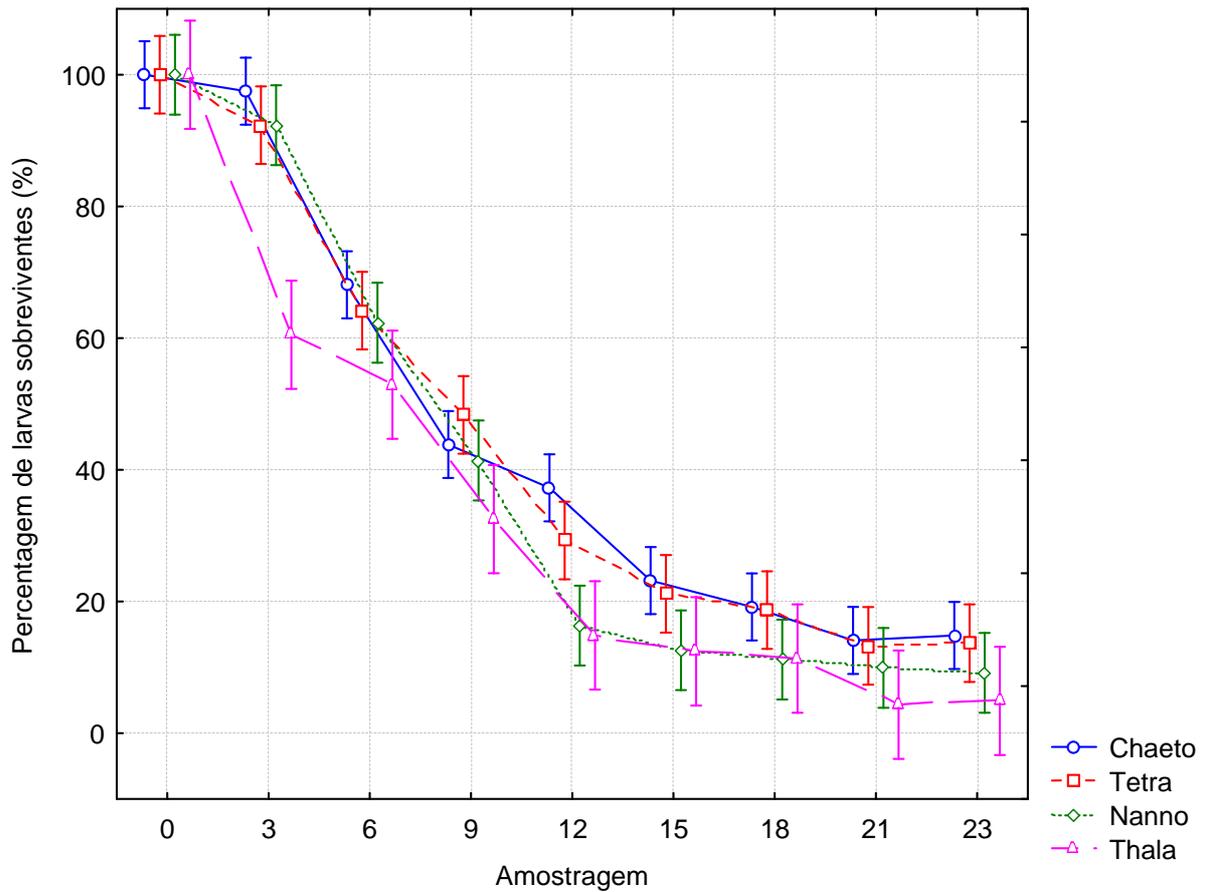


Figura 8. *U. cordatus*. Curvas de sobrevivência das larvas alimentadas com diferentes microalgas. As linhas verticais representam os desvios-padrão. (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*).

Ao final da larvicultura, a taxa mais alta de sobrevivência ( $p < 0,01$ ) foi obtida no tratamento com *Chaetoceros muelleri* (14,84%), seguida do tratamento onde as larvas foram alimentadas com *Tetraselmis gracilis* (13,67%). No tratamento a base de *Nannochloropsis oculata* foi registrada uma taxa de sobrevivência de 9,94%, enquanto o pior desempenho ocorreu no tratamento alimentado com *Thalassiosira weissflogii*, com 4,92% de sobrevivência. Este último, por sua vez, apresentou, desde o início do cultivo, os piores valores (Figura 9).

Quando os dados de sobrevivência final para cada tratamento foram analisados por meio de ANOVA, as diferenças se mostraram significativas ( $p < 0,05$ ). O teste *a posteriori* de Fisher LSD agrupou os dados na mesma seqüência observada para as taxas de sobrevivência final, isto é, os tratamentos que utilizaram *C. muelleri* e *T. gracilis* foram melhores que o tratamento com *N. oculata* e este ainda superior ao da *T. weissflogii*.

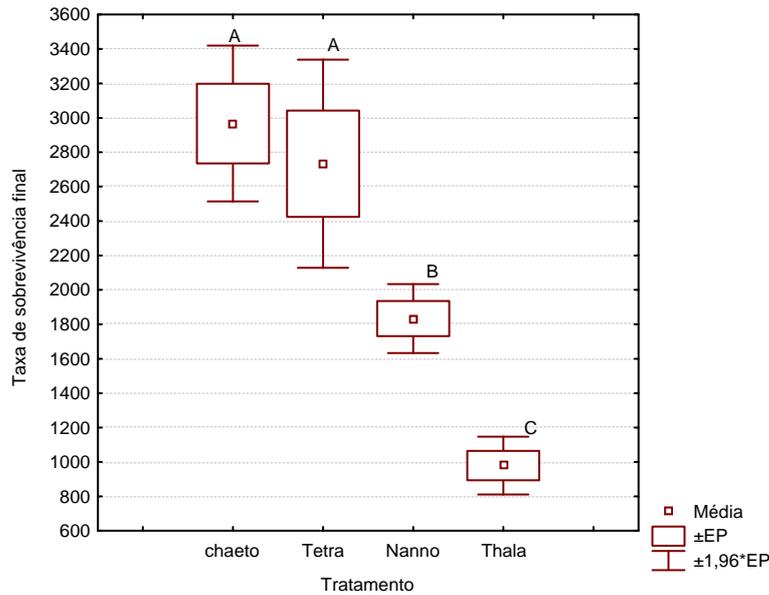


Figura 9. Taxas médias de sobrevivência final de larvas de *U. cordatus* alimentadas com diferentes microalgas. As letras indicam os grupos homogêneos pelo teste *a posteriori* de Fisher LSD. (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*).

Quando os dados foram plotados em relação aos dias de larvicultura, observa-se que as larvas alimentadas com *Chaetoceros muelleri* e *Tetraselmis gracilis* realizaram a muda para o estágio subsequente mais cedo que nos demais tratamentos (Figura 10).

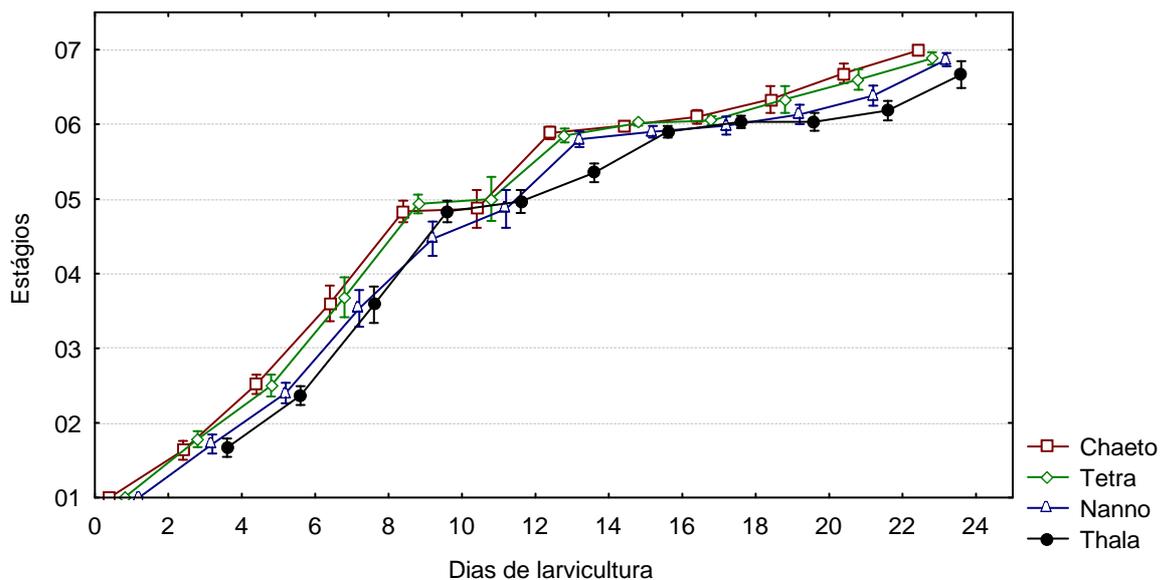


Figura 10. *U. cordatus*. Duração dos estágios de zoea (1-6) até atingir a fase de megalopa (7) nos tratamentos alimentados com diferentes microalgas. As linhas verticais representam os intervalos de confiança (95%). (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*).

As diferenças nos escores relativos à condição do hepatopâncreas foram consideradas significativas ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Kruskal-Wallis. Com a aplicação do teste *a posteriori* de Dunn, foi possível definir os grupos homogêneos. Larvas alimentadas com a microalga *Chaetoceros muelleri* e *Tetraselmis gracilis* apresentaram os melhores desempenhos. Larvas alimentadas com *Nannochloropsis oculata* apresentaram escores intermediários, enquanto larvas alimentadas com *Thalassiosira weissflogii*, apresentaram os menores escores (Figura 11).

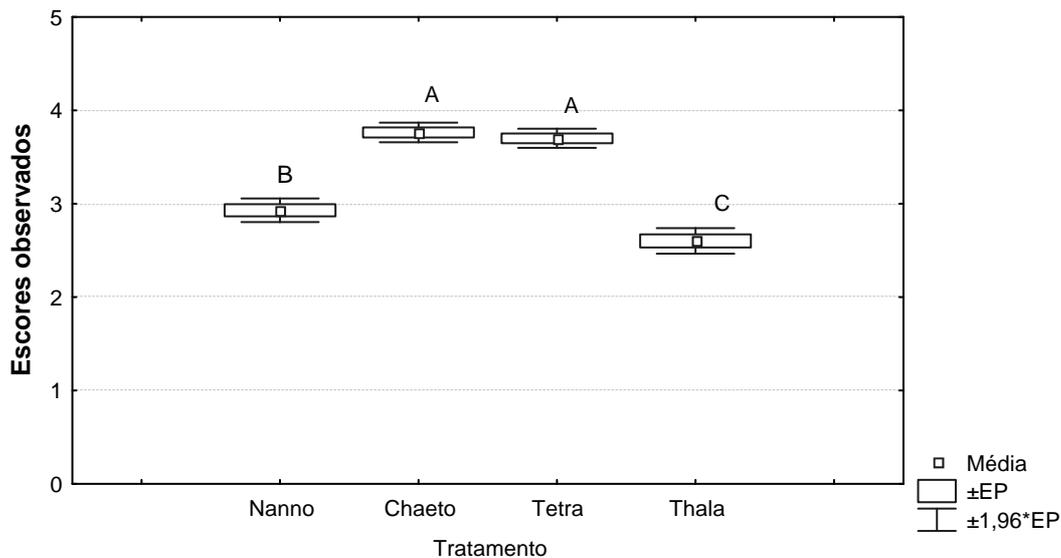


Figura 11. *U. cordatus*. Escores relativos à Condição do Hepatopâncreas de larvas alimentadas com diferentes microalgas. As letras indicam os grupos homogêneos determinados por teste *a posteriori* de Dunn. (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*).

Como houve homogeneidade dos escores médios relativos à condição do hepatopâncreas entre as réplicas de um mesmo tratamento, foi possível agrupar os dados e observar como os resultados médios de cada tratamento oscilaram ao longo da larvicultura (Figura 12).

A partir do 7º dia, o tratamento à base de *T. weissflogii* destacou-se negativamente e, a partir do 10º dia, quando as larvas atingiram o estágio de zoea V, o tratamento com *N. oculata* também começou a apresentar os piores resultados de sua série, aproximando-se dos escores obtidos no tratamento à base de *T. weissflogii*. As larvas dos tratamentos com *C. muelleri* e *T. gracilis*, contrariamente, apresentaram, do 11º ao 16º dia, seus melhores resultados, distanciando-se significativamente dos escores quantificados nos tratamentos com as demais microalgas. A partir do 16º dia de larvicultura (linha vermelha), no momento em que as primeiras metamorfoses para a fase de megalopa começaram a ser observadas, as curvas voltaram novamente a apresentar valores semelhantes entre si ( $p \geq 0,05$ ).

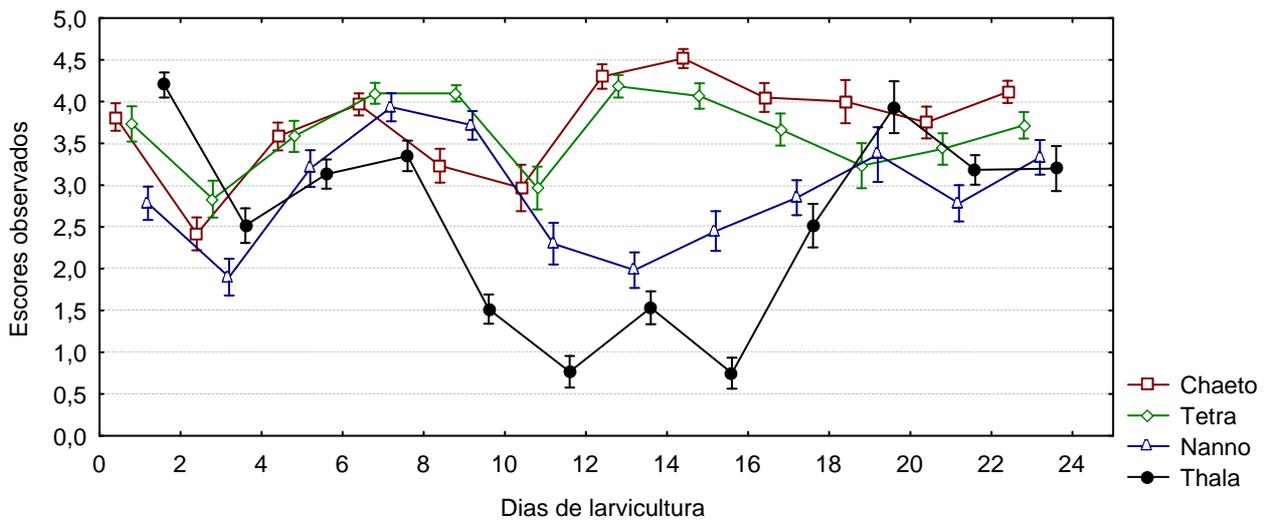


Figura 12. *U. cordatus*. Oscilação temporal do valor médio relativo à condição do hepatopâncreas das larvas alimentadas com diferentes microalgas: (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*). Linhas verticais denotam os erros padrão. A linha vertical indica o momento do cultivo em que as larvas iniciaram a metamorfose para o estágio de megalopa.

Os resultados observados para os demais indicadores analisados, como "presença de cordão fecal", "quantidade de bactérias filamentosas" e "quantidade de protozoários" foram analisados com a aplicação de Kruskal-Wallis ANOVA. As larvas do tratamento a base de *T. weissflogii* apresentaram maior contaminação por bactérias filamentosas que as dos demais tratamentos (Figura 13). A presença do cordão fecal foi mais freqüente ( $p < 0,05$ ) em larvas alimentadas com *C. muelleri* e *T. weissflogii* que nos demais tratamentos (Figura 14). Por outro lado, os ciliados peritríquios foram mais freqüentes em larvas do tratamento com *T. gracilis* (Figura 15). Uma quantidade relativamente pequena de larvas apresentou lesão no espinho dorsal, As diferenças observadas entre os diferentes tratamentos não foram significativas ( $p \geq 0,05$ ) (Figura 16).

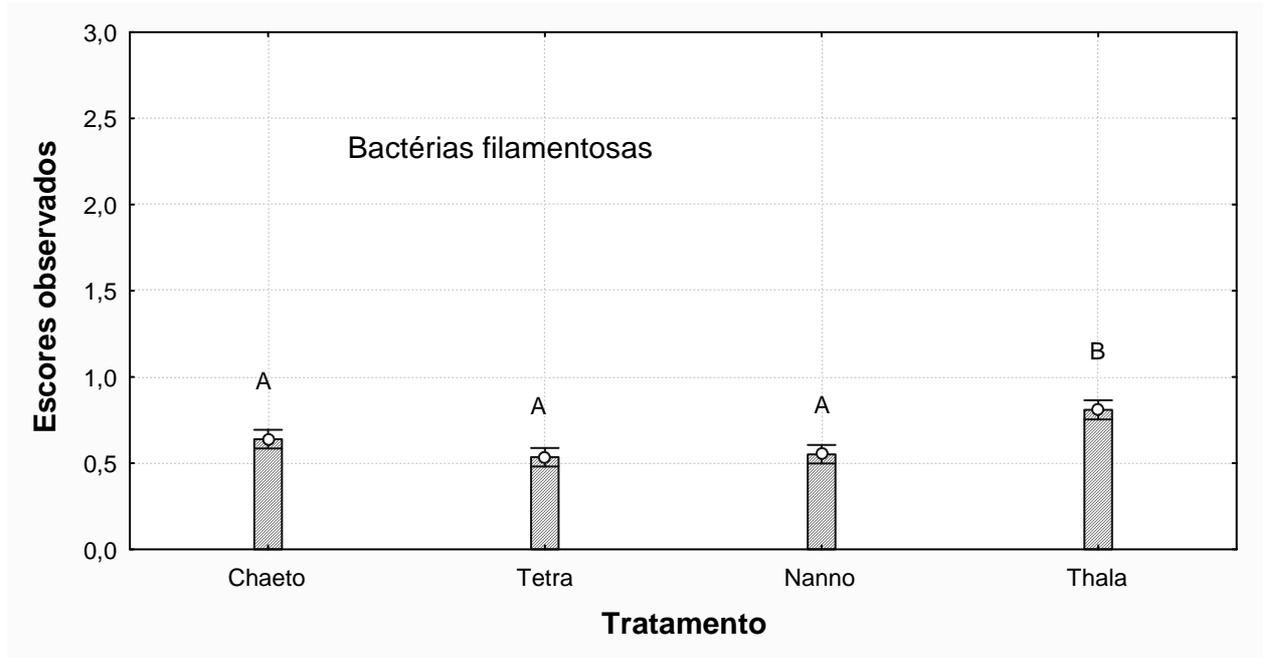


Figura 13. *U. cordatus*. Média dos escores relativos à quantidade de bactérias filamentosas epibiontes presentes na carapaça das larvas alimentadas com diferentes microalgas. As letras indicam os grupos homogêneos. Linhas verticais denotam intervalo de confiança (95%). (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*).

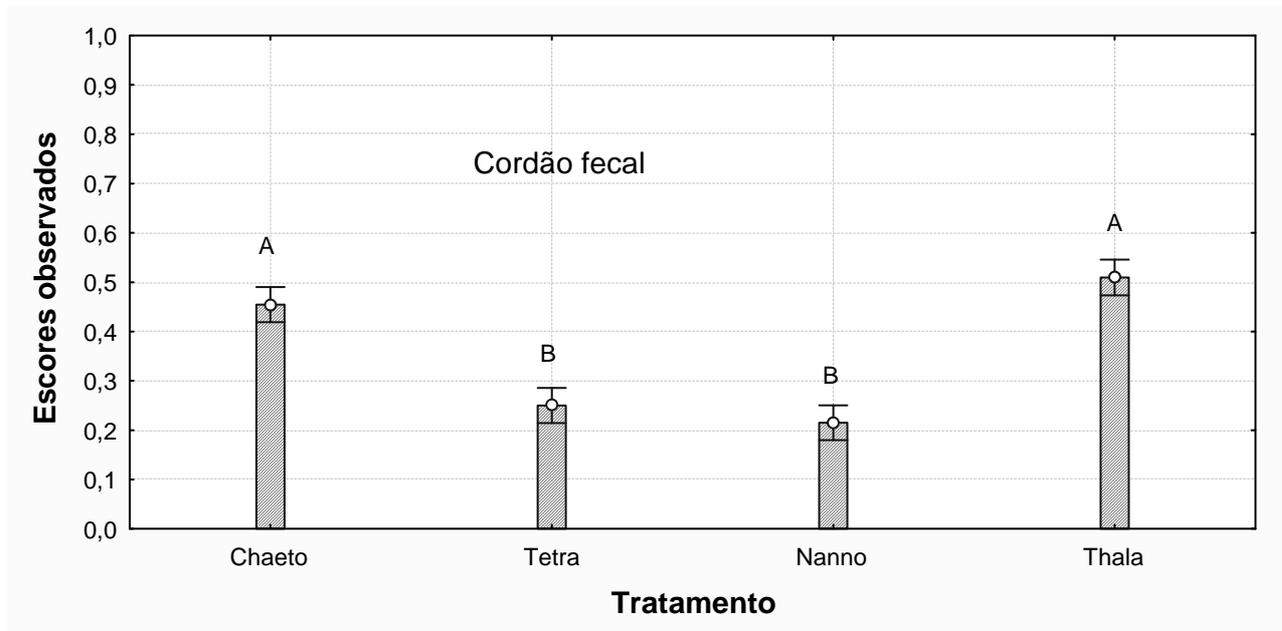


Figura 14. *U. cordatus*. Média dos escores da presença do cordão fecal em larvas alimentadas com diferentes microalgas. As letras indicam os grupos homogêneos. Linhas verticais denotam intervalo de confiança (95%). (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*).

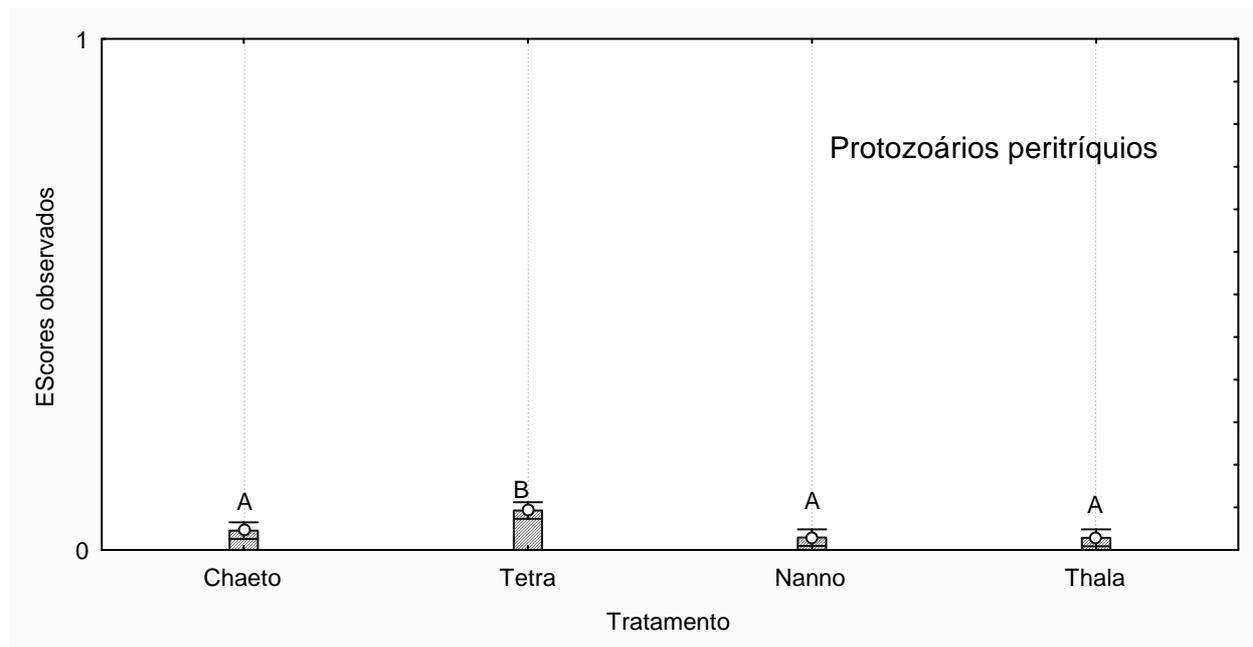


Figura 15. *U. cordatus*. Média dos escores da presença de protozoários ciliados peritríquios sésseis aderidos ao exoesqueleto das larvas alimentadas com diferentes microalgas. As letras indicam os grupos homogêneos. Linhas verticais denotam intervalo de confiança (95%). (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*).

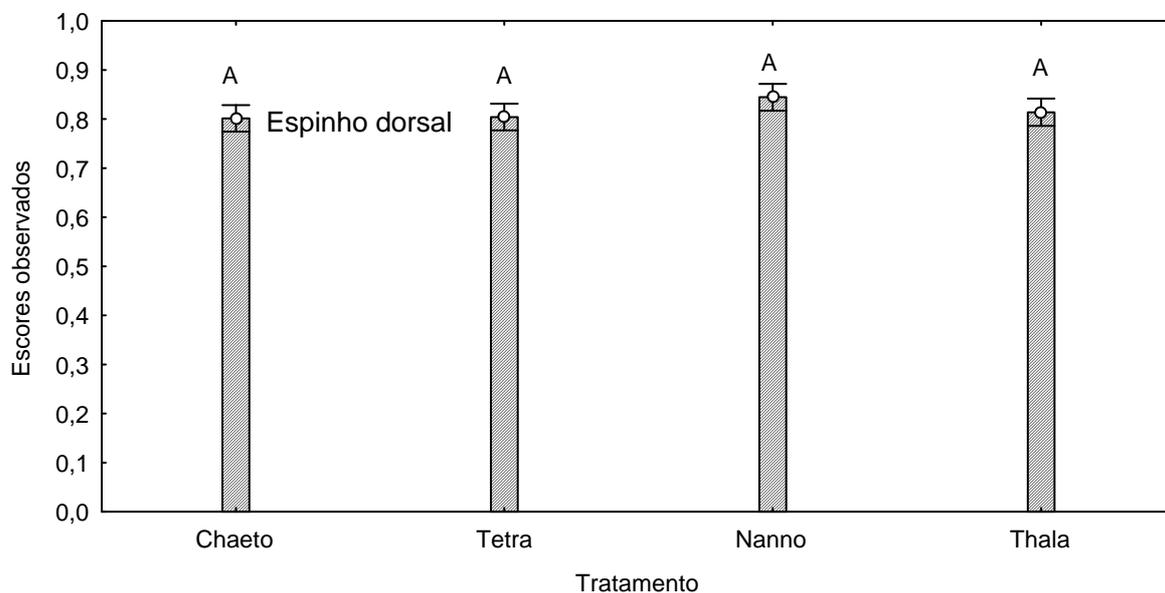


Figura 16. *U. cordatus*. Resultados médios dos escores da integridade do espinho dorsal das larvas nos tratamentos alimentadas com diferentes microalgas. As letras indicam os grupos homogêneos. Linhas verticais denotam intervalo de confiança (95%). (Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Tetra = *Tetraselmis gracilis*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*, Thala = *Thalassiosira weissflogii*).

## DISCUSSÃO

A tecnologia para a larvicultura do *U. cordatus*, ao contrário do que ocorre, por exemplo, com a de camarões marinhos, ainda não está suficientemente consolidada. Assim, é recomendável que as análises para a definição das técnicas mais apropriadas de manejo não sejam feitas somente com base nas taxas finais de sobrevivência obtidas. Resultados parciais, alcançados no decorrer de uma larvicultura devem ser cuidadosamente analisados e interpretados, pois podem indicar o caminho correto para o desenvolvimento de uma tecnologia mais apropriada de produção larval.

Um método direcionado à avaliação da qualidade de larvas de *U. cordatus* cultivadas em laboratório foi desenvolvido por Silva (2002) e vinha sendo utilizado rotineiramente nas larviculturas em larga escala, realizadas no LAPOA, porém, sem ter sido previamente avaliado e validado.

Dentre as variáveis empregadas pelo método e testadas neste experimento, a Condição do Hepatopâncreas é reconhecidamente relacionada com a higidez larval de crustáceos (Vogt *et al.*, 1985; Jussila & Mannonen, 1997; Anger, 2001). A sua análise, no entanto, é dificultada pela grande amplitude de variação do volume das gotículas de lipídio armazenadas nas células "R" do hepatopâncreas, bem como da quantidade de células envolvidas neste armazenamento (Stuart *et al.*, 1967; Gibson & Parker, 1979; Bell & Lightner, 1988). De acordo com Cockcroft (1997), no entanto, o número de gotículas no hepatopâncreas é menos importante para predição do condicionamento de um crustáceo que o volume total de lipídio armazenado. Por este motivo, os escores utilizados neste trabalho foram baseados na análise da área ocupada pelas gotículas e não apenas o seu número.

Constatou-se que a variação destes escores em todos os tratamentos esteve associada diretamente com a variação nas taxas de sobrevivência quantificadas no experimento, com os melhores resultados sendo observados nos tratamentos em que se utilizou *C. muelleri* e *T. gracilis* como alimento das larvas. Tais tratamentos foram justamente aqueles que apresentaram as taxas de sobrevivência parcial e final mais elevadas.

Por outro lado, o tratamento que utilizou *T. weissflogii* apresentou, durante a maior parte do cultivo, os piores escores relativos à condição do hepatopâncreas e, não por acaso, registrou também as mais baixas taxas de sobrevivência durante e ao final da larvicultura. Desta forma, sugere-se que a análise da condição do hepatopâncreas é uma forma eficiente de se monitorar o bem estar das larvas de *U. cordatus* em cultivos em larga escala.

Outro indicador que demonstrou estar associado às taxas de sobrevivência, apesar de negativamente, foi a quantidade de bactérias filamentosas epibiontes. As bactérias filamentosas são de ocorrência cosmopolita nas águas marinhas e utilizam a matéria

orgânica em decomposição como substrato (Baticados, 1988; Lightner, 1988; Carvaca, 1990). Tais epibiontes não penetram no exoesqueleto, mas quando as cerdas dos maxilípedes das larvas são colonizadas em profusão, estas bactérias podem dificultar a muda e principalmente as atividades de natação e captura de alimento das hospedeiras. Seu aparecimento sobre as larvas requer medidas de manejo para sua redução e, em casos mais graves, até mesmo tratamento químico.

De acordo com Natividad & Lightner (1992), as larvas de camarões afetadas por MBV<sup>2</sup> são mais pesadamente parasitadas por organismos epibiontes, enquanto as saudáveis possuem o hábito de se limparem para remoção destes organismos, por isso é comum observar maior quantidade de epibiontes naquelas larvas de menor vitalidade. Desta forma, é possível que o maior grau de infestação por epibiontes bacterianos, observado nos tratamentos com *Thalassiosira weissflogii* em relação aos outros tratamentos, seja uma indicação importante da inadequação da dieta larval baseada nesta microalga, reduzindo sua vitalidade. Sendo assim, a observação desta característica também pode ser recomendada como um indicador do estado geral da larva.

Outros indicadores testados não demonstraram uma associação tão próxima com as taxas parciais ou finais de sobrevivência larval, quanto os acima descritos. O tratamento que utilizou *Tetraselmis gracilis* como alimento larval apresentou as maiores quantidades de protozoários aderidos ao exoesqueleto das larvas. Por outro lado, as taxas de sobrevivência observadas neste tratamento foram, juntamente com as alcançadas pelo que usou *C. muelleri*, as mais elevadas. Os protozoários mais freqüentemente observados foram os pertencentes aos gêneros *Vorticella* sp., *Zoothamnium* sp. e *Epistylis* sp.

Estes organismos, juntamente com as bactérias filamentosas, são conhecidos na aqüicultura pelo coletivo termo "fouling". Seu aparecimento no tanque, no entanto, não necessariamente coincide com as bactérias filamentosas, por isso foram analisados separadamente. Em grandes quantidades, eles podem atrapalhar as atividades vitais das larvas e reduzir sua chance de sobrevivência (Roegge *et al.*, 1977; Bueno & Gastelú, 1998; Boonyaratpalin, 1990). No presente experimento, o número total de larvas afetadas por estes organismos parece não ter sido expressivo. Porém, em quantidades maiores, como ocorre em larviculturas em larga escala (Silva, 2002), o seu efeito sobre a higidez larval costuma ser mais severo.

Constatou-se que a presença de cordão fecal no intestino terminal, observado por transparência através dos segmentos abdominais da larva, significa tão somente que ela ingeriu algum alimento que estava à sua disposição no tanque. Na larvicultura de camarões,

---

2 Monodon Baculovirus – Virus DNA de dupla hélice, produtor de corpos de oclusão. Causa lesões de baixo impacto no hepatopâncreas de larvas de camarão e predispõe, a partir do estágio de protozoa a outras enfermidades (Lightner, 1988).

marinhos ou de água doce, esta condição é utilizada como uma das maneiras de reconhecer o bom estado de saúde das larvas (McVey, 1986; Fast & Lester, 1992; Barbieri & Ostrensky, 2001). Porém, no caso das larvas de *U. cordatus*, esta condição pode não estar diretamente relacionada com a melhor higidez larval, visto que ela foi mais freqüentemente registrada nos tratamentos alimentados com *C. muelleri* e *T. weissflogii*. Durante as observações ao microscópio, freqüentemente foram vistos vários cordões fecais livres no campo do microscópio ao lado de larvas com o intestino vazio. Percebeu-se ainda que as larvas mais ativas dificilmente mantinham cordões fecais na porção terminal de seu intestino por muito tempo, pois este era expelido rapidamente através de movimentos peristálticos.

Desta forma a observação do cordão fecal na zoea de *U. cordatus*, pode estar ligado à redução do grau de peristaltismo, indicando uma larva fraca ou ainda simplesmente uma menor capacidade de digestão do esqueleto de sílica das diatomáceas (Brown, 2002). Isso faz com que a observação deste parâmetro não possa ser recomendada como forma principal de avaliação da higidez larval.

O indicador "ausência de lesão no espinho dorsal" relaciona-se com a higidez do exoesqueleto e é reconhecidamente importante para o bem estar da larva (Anger, 2001). No presente experimento, não foi possível associar os resultados da análise deste indicador com as taxas de sobrevivência larval, já que os escores quantificados foi alto para todos os tratamentos e a sua variação não significativa. Contudo, tal resultado pode ter tido relação com o fato das larvas terem recebido alimentação complementar a base de rotífero, que, por sua vez, foi enriquecido com emulsão nutritiva comercial (INVE Super Selco®), rica em ácidos graxos poliinsaturados (HUFA). Tal nutriente é fundamental para a manutenção da integridade do exoesqueleto das larvas (Fushimi, 1983; Lubzens, 1987; Guerrelhas, 1997), e não poderia ser eliminado do protocolo alimentar sob o risco das larvas não atingirem sequer o estágio de zoa II, o que inviabilizaria o experimento.

O presente experimento também possibilitou uma análise comparativa do uso de diferentes microalgas na dieta alimentar de larvas de *U. cordatus*. A importância desse tipo de análise se fundamenta na grande divergência de resultados obtidos a partir do uso de microalgas na alimentação de larvas de crustáceos.

Naranjo & Robles (1999), trabalhando com larvas de camarões da espécie *Penaeus californiensis*, obtiveram a melhor sobrevivência larval com a microalga *Chaetoceros* sp. (55%), seguido por uma combinação de *Chaetoceros* sp. e *Dunaliella* sp. (52%) e *Isochrysis galbana* (40%). Olivera & Barberena (1992) compararam o desempenho de um protocolo alimentar baseado em *Chaetoceros* sp. e *Tetraselmis* sp. para os camarões *Litopenaeus schmitti* e *Farfantepenaeus paulensis*. Os autores observaram taxas de sobrevivência de 85% para o tratamento que utilizou somente *Chaetoceros* sp., 26% para o que utilizou

somente *Tetraselmis* sp. e 55 % para o que utilizou uma mistura de igual biomassa entre as duas espécies. Já Olivera *et al.*, 1992, trabalhando com o camarão marinho *Litopenaeus schmitti*, obtiveram sobrevivências de até 95% com a utilização de *Thalassiosira fluviatilis* como única microalga ofertada durante as larviculturas experimentais. Os resultados obtidos com o uso de *Tetraselmis tetrathele* e *Chaetoceros* sp., sozinhas ou combinadas foram inferiores ao obtido pelo uso de *T. fluviatilis*.

Em trabalho recente, larvas de *U. cordatus* foram criadas em tanques com altas concentrações de *Tetraselmis chuii*. Porém, ao atingirem o estágio de zoea V, o fornecimento de microalgas era suspenso, enquanto se iniciava a administração de náuplios de artêmia recém-eclodidos. Com este regime alimentar, foi possível atingir taxas de sobrevivência em torno de 8% desde zoea I até megalopa (Silva *et al.*, 2006). Abrunhosa *et al.*, (2002), trabalhando com larvas zoea I de *U. cordatus*, utilizaram a microalga *Dunaliella* sp. e consideraram que, para atingir taxas de sobrevivência adequadas às necessidades de um programa de repovoamento para a espécie, outras espécies de microalgas deveriam ser também testadas.

Os diferentes resultados obtidos entre os autores mencionados refletem a diversidade anatômica e fisiológica das larvas de decápodes. De acordo com Anger (2001), a forma de captura de alimentos utilizada pela zoea de caranguejos braquiúros é bastante diversa da utilizada por camarões peneídeos e dependente das características das microalgas, como mobilidade, cor, contrastante com o meio circundante e tamanho das células.

Assim, os melhores resultados observados nos tratamentos que utilizaram *Chaetoceros muelleri* e *Tetraselmis gracilis* em relação aos tratamentos da *Thalassiosira weissflogii* podem estar mais relacionados à maior atratividade que estas exercem sobre as larvas de *U. cordatus*, já que, de uma forma em geral, esta última tende a apresentar maiores quantidades de proteínas, carboidratos e lipídios quando comparada às duas primeiras (Lavens & Sorgeloos, 1996; Taylor *et al.*, 1997).

Ainda segundo Anger (2001), as larvas de caranguejos braquiúros, assim como de outros crustáceos marinhos, selecionam as suas presas de acordo com sua capacidade de apreensão do alimento. À medida que crescem, elas são atraídas por alimentos proporcionalmente maiores.

Os resultados do presente experimento demonstraram que *Nannochloropsis oculata*, provavelmente devido ao pequeno volume de suas células, não deve ser usada diretamente para alimentação da larva de *U. cordatus*. Porém, a espécie pode ser usada na alimentação do rotífero, e assim, transferir indiretamente qualidades nutricionais da microalga à larva (Hagiwara, 1989; Hino, 1993).

Os resultados aqui obtidos suportam a recomendação de uso das microalgas *C. muelleri* e *T. gracilis* em larviculturas de *U. cordatus*.

### CONCLUSÕES

As taxas de sobrevivência parciais das larvas de *U. cordatus* estão diretamente associadas à condição do hepatopâncreas. Assim, a simples análise visual desta característica pode ser considerada como um eficiente indicador do estado de higidez larval da espécie. A quantidade de bactérias filamentosas epibiontes, por sua vez, pode ser utilizada como um indicador negativo das condições gerais da larvicultura. Os demais indicadores aqui avaliados se mostraram menos precisos. No entanto, eles podem ser utilizados em conjunto para orientação e otimização do processo de manejo das larviculturas.

Entre as espécies de microalgas testadas, *C. muelleri* e *T. gracilis* mostraram ser as mais indicadas para larvicultura de *U. cordatus*, resultando em taxas de sobrevivência parciais superiores às demais, principalmente na fase final da larvicultura. Outros experimentos serão necessários para determinar a correta seqüência de alimentos mais adequados para cada estágio.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRUNHOSA, F. A., SILVA NETO, A. A., MELO, M. A. & CARVALHO, L. O. Importância da alimentação e do alimento no primeiro estágio larval de *Ucides cordatus cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda: Ocypodidae). Revista Ciência Agronômica, v. 33(2), pp. 5-12. 2002.
- AKO, H. Algae in the aquaculture of marine fishes and shrimps. Proceedings of PACON International on Sustainable Aquaculture'95. Honolulu, pp: 7-14. 1995.
- Ali, K. H. 1995. A new, simple system of penaeid larval rearing. In: VI Meeting on shrimp production.
- ANGER, K. The biology of decapod crustacean larvae. Crustacean Issues. V. 14. Balkema A. A . publishers, Rotterdam, Netherlands, 420 pp. 2001.
- ARIYAMA, H. Studies on ecology and stock enhancement of swimming crab *Portunus trituberculatus* in Osaka Bay. Bulletin of the Osaka Prefecture Fisheries Experimental Station, v. 12, pp. 1 - 90. 2000.
- BARBIERI, C. R. & OSTRENSKY, A. Camarões marinhos – reprodução, maturação e larvicultura. Aprenda Fácil Editora, Viçosa, MG. 255 pp. 2001.
- BATICADOS, M. C. L. Control of luminous bacterial infection in prawn hatcheries. SEAFDEC Asian Aquaculture, v. 10(9). 1988.

- BELL, T. & LIGHTNER, D. A handbook of normal penaeid shrimp histology. Special Publication, n. 1. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 114 pp. 1988.
- BOONYARATPALIN, S. Shrimp larval diseases. Proceedings of the Aquatech`90 conference. Kuala Lumpur, Malaysia. Pp. 158-171. 1990.
- BRAY, W.A. & LAWRENCE, A.L. New concepts in seedstock production: learning to determine quality. International symposium on commercial production of shrimp larvae, Mazatlan, Mexico, pp. 1–15. 1991.
- BROWN, M. R. Nutritional value of microalgae for larviculture. In: Avances en Nutrición Acuicola Cruz-Suerez. Memórias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. Cancun, 2002.
- BUENO, S. L. S & J. C. G. GASTELÚ. Doenças em camarões de água doce. In Carcinocultura de água doce: tecnologia de produção de camarões Valenti, W. C. ed. Fapesp. São Paulo. 1998.
- CARVACA, F. Manual práctico de bacteriologia marina. ESPOL, Guayaquil. 78 pp. 1990.
- CLIFFORD, H.C. Marine shrimp pond management: a review. J. Wyban, Editor. Proceedings of the special session on shrimp farming. World aquaculture society, Baton Rouge, pp. 110–137. 1992.
- COCKCROFT, A. C. Biochemical composition as a growth predictor in West Coast rock lobster (*Jasus lalandii*). Programme and Abstracts. The Fifth International Conference and Workshop on Lobster Biology and Management. Queenstown, New Zealand, 24 pp. 1997.
- COOK, H. & MURPHY, M. The culture of larval penaeid shrimp. Transactions of the American Fisheries Society, v. 4(98), pp. 751-754. 1969.
- FAST, A. W. & LESTER, L. J. Marine shrimp culture: principles and practices. Development of aquaculture and fisheries science, v. 23, 877 pp. 1992.
- FUSHIMI, T. Ingestion by fish larvae and juveniles of the rotifer, *Brachionus Plicatilis*, Biology and mass culture. Japanese society of science and fisherie. Ed. Koseishya-Koseikaku Tokyo. Pp. 69-93. 1983.
- GIBSON, R & PARKER, P. L. The decapod hepatopancreas. Marine biology, v. 17, pp. 285-346. 1979.
- GOMES, L. Cultivo de crustáceos e moluscos. Livraria Nobel S.A., São Paulo, Brasil. 226 pp. 1986.
- GUERRELHAS, A. C. Seed production of *Penaeus vannamei* in Brazil. In: Simposio Centroamericano de Acuicultura, IV, Tegucigalpa - Honduras, Anais pp.152-153. 1997.
- GUILLARD, R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith, W.L., Charley, M.H. (eds.). Culture of Marine Invertebrate Animals, p. 29-60. 1975.
- HAGIWARA, A. Recent studies on the rotifer *Brachionus plicatilis* as a live food for the larval rearing of marine fish. La mer, v. 27, pp. 116-121. 1989.

- HINO, A. Present culture systems of the rotifer *Brachionus plicatilis* and the function of micro-organisms. C. S. Lee, M. S. Su & I. C. Liao (eds). *Proceedings in fish hatchery, Taiwan*. V.3, pp. 51-59. 1993.
- JUSSILA, J & MANNONEN, A. Energy content of marron (*Cherax tenuimanus*) and noble crayfish (*Astacus astacus*) hepatopancreas and its relationship to hepatopancreas moisture content. *Aquaculture*, v. 149, pp. 157-161. 1997.
- LAVENS, P., SORGELOOS, P. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, v. 361, pp. 295. 1996.
- LIAO, I. C., SU, H. M. & LIN, J. H. Larval foods for penaeid prawns. *In: McVEY, J.P. (ed.). CRC Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture*. USA: CRC Press, p. 43-69. 1983.
- LIGHTNER, D. Diseases of cultured penaeid shrimp in the Americas. *In: C. Sinderman and D.V. Lightner, editors. Diseases Diagnosis and Control in Marine Aquaculture in the Americas*. Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam, Netherlands. 1988.
- LUBZENS, L. Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, 147:245-255. 1987.
- McVEY, J. Handbook of Mariculture. McVey, J.P. (Ed.). V.I. Crustacean Aquaculture. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA. p. 129-154. 1986.
- NARANJO, J., PORCHAS, M. A. & ROBLES, M. Sobrevivencia, metamorfosis y crecimiento de larvas del camarón *Penaeus californiensis* (Decapoda: Penaeidae) alimentadas con diferentes microalgas. *Rev. biol. trop.* vol.47, no.4, p.917-922. 1999.
- NAVIDAD, J. M. & D. V. LIGHTNER. Prevalence and Geographic Distribution of MBV and Other Diseases in Cultured Giant Tiger Prawns *Penaeus monodon* in the Philippines. *In: Diseases of penaeid Shrimp in Asia and the United States*. Wendy Fulks & Kevan L. Main Eds. The Oceanic Institute. Makapuu Point, Honolulu. Pp. 130-160. 1992.
- OLIVERA, A. & BARBERENA. C. Proceso de producción de diferentes microalgas para larvicultura de peneídeos. IV congreso latinoamericano sobre ciencias del mar. Coquimbo. Chile. 1992.
- OLIVERA, A. BELTRAME, E. & VINATEA, L. Efecto del uso individual de *Chaetoceros* sp. y *Thalassiosira fluviatilis* así como sus combinaciones con *Tetrathele* y *Tetraselmis* sp. en el crecimiento de larvas de *Penaeus schmitti* (BURKENROAD, 1936). I congreso Ecuatoriano de Acuicultura. Guayaquil. ECUADOR. 1992.
- RODRIGUES, M.D. & HEBLING, N.J. *Ucides cordatus cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda). Complete larval development under laboratory conditions and its systematic position. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 6(1), pp. 147-166. 1989.
- ROEGGE, M. A.; RUTLEDGE, W. P. & W. C. GUEST. Chemical control of *Zoothamnium* sp. on larvae of *Macrobrachium acanthurus*. *Aquaculture*, 12:137-140. 1977.

- SECOR, D. H., HINES, A. H., PLACE, A. R. Japanese hatchery-based stock enhancement: lessons for the Chesapeake Bay blue crab. Maryland Sea Grant publication, N.1, 62pP. 2002.
- SILVA, U. T. A. Cultivos Experimentais de Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763). Tese de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba – Paraná. 89 pp. 2002.
- SILVA, U. T. A.; OSTRENSKY, A. ; VENTURA, R. ; SANTOS, A. F. ; BOEGER, W. A. . Caranguejo-uçá, A produção em laboratório. Panorama da Aqüicultura, v. 16, p. 15-21, 2006.
- SNELL, T. W., CHILDRESS, M. J. & BOYER, E. M. Assessing the status of rotifer mass culture. J. World aquaculture Society, v. 18, pp. 270-277. 1987.
- STEWART, J. E., CORNICK, J. W., FOLEY, D. M., LI, M. F. & BISHOP, C. M. Muscle weight relationship to serum proteins, hemocytes, and hepatopancreas in the lobster, *Homarus americanus*. Journal of Fisheries, Canada, v. 23, pp. 2339-2354. 1967.
- TAYAMEN, M. & BROWN, J. H. A condition index for evaluating larval quality of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). Aquaculture Research. V. 30. pp. 917-922. 1999.
- TREECE, G. Larval rearing technology. Texas shrimp farming manual. Texas A & M University System, Corpus Christi, Texas, USA. p. III-43 - III-64. 1985.
- TAYLOR, J. J., SOUTHGATE, P. C., WING, M. S. & ROSE, R. A. The Nutritional Value of Five Species of Microalgae for Spat of the Silver-Lip Pearl Oyster, *Pinctada maxima* (Jameson) (Mollusca: Pteriidae). Asian fisheries science, v. 10(1), pp. 1-9. 1997.
- VOGT, G., STORCH, V., QUINTINIO, E. T. & PASCUAL, F. P. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda). Aquaculture, v. 48, pp. 1-12. 1985.

## Capítulo II - Análise experimental da distribuição vertical de larvas de *Ucides cordatus* (Crustacea: Brachyura : Ocypodidae) na coluna d'água ao longo dos estágios iniciais de sua ontogenia

### RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de testar a hipótese de que a maior presença de larvas no fundo dos tanques de larvicultura, ao final dos cultivos realizados em laboratório está relacionada a uma tendência de movimentação vertical natural das larvas ao longo de seu desenvolvimento ontogênico. Quatro tubos de PVC, com 3 m de altura, providos de 10 janelas transparentes, que permitiam a visualização do posicionamento e da movimentação das larvas foram instalados verticalmente e preenchidos com água marinha. Diariamente, cerca de 1000 larvas eram liberadas no topo do tubo e observadas após 30 minutos em que o tubo era mantido em completa escuridão. Todos os estágios e fases larvais foram testados. Os resultados demonstraram que as larvas de *U. cordatus*, nos primeiros estágios, permaneceram próximas à superfície. Com o passar do quinto estágio, até a fase de megalopa, as larvas passaram a se posicionar em maiores profundidades, finalmente concentrando-se no fundo dos tubos. Assim sendo, ainda que haja influência direta da matéria orgânica depositada no fundo dos tanques sobre as taxas finais de sobrevivência larval, não seria tecnicamente viável a utilização de tanques mais profundos para tentar resolver o problema. Alternativas tecnológicas deverão ser testadas e desenvolvidas.

Palavras-chaves: migração vertical, comportamento larval, larvicultura, repovoamento, zoea.

### ABSTRACT

In order to test the hypothesis that the presence of larvae of late stages in the bottom of larviculture tanks at the end of culture cycles is related to a ontogenetic vertical movement, the behavior larvae of *U. cordatus* dispersed in the water was analyzed. Four 3 m PVC pipes, provided with 10 transparent windows, allowing the visualization of positioning of the larvae, were installed in an upright position area and filled with sea water. Every day, about 1000 larvae were released in the top of each pipe and observed, after 30 minutes resting in the dark. All larval stages were tested. The results demonstrated that larvae of *U. cordatus*, in the initial stages, remained next to the surface. With after the stage of zoea V the larvae were more frequently observed at greater depths, finally accumulating at the bottom of the pipes, when megalopa stage was reached. It was concluded that amplitude of the vertical movement of the *U. Cordatus* zoea involves more than 3 meters in the water column. Therefore, the use of deeper culture tank would not prevent the contact of the larva with the bottom. Other solutions for the problem must be addressed.

Key words: Vertical migration, larval behavior, larviculture, stock enhancement, zoea.

## INTRODUÇÃO

Novas metodologias para o cultivo de larvas de *Ucides cordatus* em condições ambientais controladas estão em desenvolvimento no Laboratório de Pesquisas de Organismos Aquáticos (LAPOA) do Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais (GIA/UFPR), objetivando a produção de larvas da espécie em grande escala para sua posterior liberação em áreas onde as populações de caranguejos se encontrem mais seriamente pressionadas.

Apesar dos esforços crescentes, o número total de larvas produzidas no LAPOA a cada ano ainda é inferior àqueles que os pesquisadores envolvidos acreditam ser necessário para repovoar áreas de manguezal mais extensas do que 10 hectares. Taxas de sobrevivência inferiores a 10% ainda ocorrem com freqüência, devido principalmente a eventos de mortandade que tendem ocorrer na fase final dos cultivos.

Durante as larviculturas realizadas no LAPOA, foi observado que os estágios iniciais se encontram mais próximos à superfície. Ao atingirem o estágio de zoea VI, as larvas passam a ser mais freqüentemente encontradas próximas ao fundo dos tanques. Este comportamento também foi reportado durante o cultivo larval de outras espécies de crustáceos decápodes (Anger, 2001). A hipótese levantada é que o comportamento de "deslocamento para o fundo" poderia estar relacionado com os eventos de mortalidade registrados na fase final da larvicultura.

De acordo com Lightner (1996), larvas cultivadas podem se infestar com organismos epibiontes através do contato com detritos fecais e matéria orgânica em decomposição, geralmente presentes no fundo do tanque no final dos cultivos.

O ambiente onde naturalmente se desenvolve o estágio de zoea de *U. cordatus* é bastante diverso daquele de cultivo. Os eventos de eclosão, que ocorrem em áreas mais internas dos estuários, são geralmente sincronizados com as marés vazantes de sizígia (Santarosa-Freire, 1998). As larvas são arrastadas pelas correntes até as regiões mais externas, com predominante influência oceânica (Diele, 2000, Pinheiro & Fransozo, 2002). Esses locais são geralmente mais profundos, com águas bastante oxigenadas e relativamente mais frias (Ismael *et al.* 1997).

Durante seu desenvolvimento, a zoea vive em ambientes onde as colunas d'água são profundas o suficiente para permitir que as larvas apresentem uma intensa mobilidade vertical, posicionando-se em zonas de conforto em relação às cunhas salinas, temperatura, luminosidade, até correntes marinhas, dentre outras variáveis ambientais (Sulkin, 1984; Foward, 1988; Tankersley *et al.*, 1995). Este movimento, facilmente observável, é conhecido como migração vertical cíclica. Outro tipo de migração, menos perceptível, é conhecido como migração vertical ontogênica (Queiroga *et al.*, 1997). Estágios mais jovens tendem a

se concentrar na superfície, enquanto os mais avançados são mais facilmente encontrados em águas mais profundas (Sulkin *et al.*, 1980, Paula *et al.*, 2004).

Por outro lado, os cultivos larvais de *U. cordatus* realizados no LAPOA são conduzidos em tanques com cerca de 70 cm de profundidade. Assim sendo, movimentações mais ampla que este limite, colocaria as larvas em contato direto com o fundo do tanque.

O objetivo principal do presente trabalho é determinar a amplitude do movimento vertical do *U. cordatus*, nos estágios iniciais de sua ontogenia e, dessa forma, obter a indicação da necessidade ou não de readequação da infra-estrutura laboratorial de cultivo, com a utilização de tanques de larvicultura mais profundos que os atualmente empregados.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados em 4 tubos de PVC, de seção retangular, com o fundo lacrado, em forma de um longo recipiente de 3 m de altura por 10 cm de largura, comportando um volume total de 21 litros. Cada tubo representou uma réplica. Os tubos apresentava 10 janelas cada, com dimensões de 20 x 5 cm, numeradas de forma crescente em relação ao aumento de profundidade. As janelas foram seladas com placas de vinil acrílico transparente, de modo que se pudesse visualizar o interior dos tubos nas diversas profundidades da coluna d'água.

As larvas utilizadas nos experimentos eram provenientes dos cultivos em larga escala, realizados no LAPOA. Assim sendo, a dieta alimentar utilizada seguiu o padrão estabelecido para as larviculturas, ou seja, microalga *Tetraselmis gracilis* (50 mil células por ml), juntamente com o rotífero *Brachionus plicatilis*, (6 rotíferos por ml). Ao atingir zoea V, este regime alimentar foi substituído por náuplios de artêmia recém eclodidos (0,5 náuplios por ml). A salinidade nos tanques foi mantida em torno de 25 e a temperatura em torno de 25 ° C ( $\pm 1$  ° C). Somente larvas saudáveis foram escolhidas, conforme a análise laboratorial realizada diariamente na larvicultura (ver capítulo I, para maiores detalhes). Todos os 6 estágios larvais da fase de zoea, além da fase de megalopa, foram testados. A zoea IV foi computada juntamente com a zoea V nos experimentos, para evitar eventuais erros de identificação, uma vez que estes estágios podem ser facilmente confundidos entre si (ver capítulo IV da presente tese).

Para realização do experimento, os tubos eram previamente cobertos com cortina de tecido preto impermeável à luz e preenchidos com água do mar na mesma salinidade e temperatura daquelas encontradas nos tanques de larvicultura. Aproximadamente 4.000 larvas eram retiradas dos tanques de cultivo com uma peneira de malha 0,3 mm e divididas em 4 frascos de Béquer de 500 ml, em quantidades semelhantes.

A seguir, as larvas em cada frasco de Béquier eram transferidas para cada tubo correspondente. Após um período de pausa de 30 minutos, as cortinas de cada tubo eram retiradas de uma vez. As janelas de cada tubo era inspecionada por um observador diferente e as larvas avistadas eram contadas e os dados registrados em uma planilha.

Os experimentos eram realizados em intervalos de 48h, sendo o mesmo procedimento padrão repetido para cada estágio diferente. Apenas um estágio foi testado em cada momento, repetido ao mesmo tempo, nos 4 tubos. Após o término de cada experimento, os tubos eram esvaziados através de uma torneira localizada em suas bases. As larvas sobreviventes eram resgatadas e descartadas, para evitar que fossem utilizadas novamente.

A posição média das larvas na coluna d'água para cada estágio em uma dada réplica foi medida utilizando-se a fórmula:

$$\sum_{i=1}^{10} \frac{n_i d_i}{N}$$

Onde  $n_i$  é o número de larvas observadas na janela- $i$ ,  $d_i$  é a profundidade da janela- $i$  e  $N$  é o número total de larvas observadas em todas as janelas. Esses cálculos foram realizados separadamente para cada réplica e cada um dos valores médios obtidos foi usado como uma entrada única em uma análise de variância (ANOVA), realizada após a constatação do ajuste da distribuição dos dados a uma curva normal da Gauss, testado através do teste de Shapiro-Wilk.

## RESULTADOS

O experimento demonstrou que os indivíduos no estágio de zoea I e II se mantiveram mais próximos da superfície do tubo, e, portanto, mais visíveis nas 3 janelas mais elevadas. Os estágios mais avançados foram mais visíveis nas janelas intermediárias ao longo da coluna d'água, enquanto que aquelas dos estágios finais de zoea e a megalopa ocuparam regiões cada vez mais profundas do tubo (Figura 17).

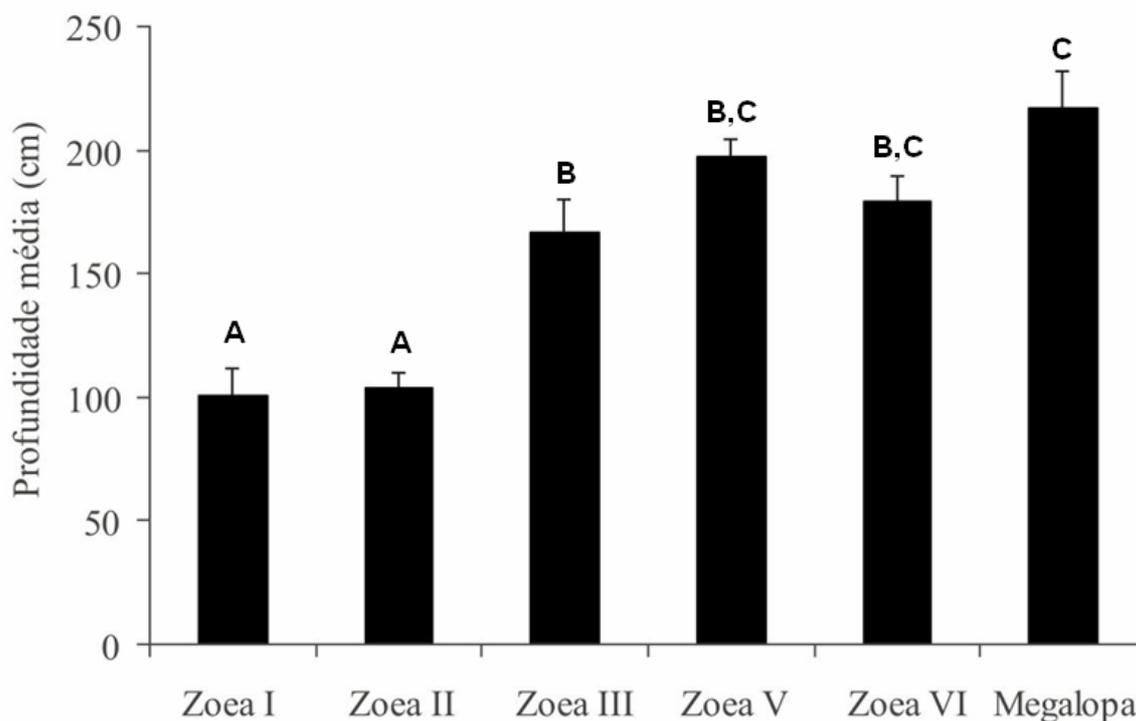


Figura 17. Posição média em relação à superfície da água assumida pelos diferentes estágios de *U. cordatus* ao longo da coluna d'água e seus respectivos erros padrões.

O teste de Levene não confirmou a homogeneidade das variações na série de dados. Por isso, a análise de variância foi realizada com dados ranqueados (Kruskal-Wallis) e demonstrou serem significativas as diferenças encontradas ( $F_{5, 114} = 20,9, p < 0,00001$ ).

Uma inspeção dos histogramas, combinando os resultados de todas as réplicas, mostrou uma mudança gradual na profundidade média ocupada por diferentes estágios larvais (Figura 18). A partir de zoea III, o ponto de maior concentração de larvas variou uniformemente ao longo do desenvolvimento larval, com uma clara tendência dos estágios mais avançados a se manterem em profundidades proporcionalmente maiores. ( $F_{5, 114} = 19,8, p < 0,00001$ ).

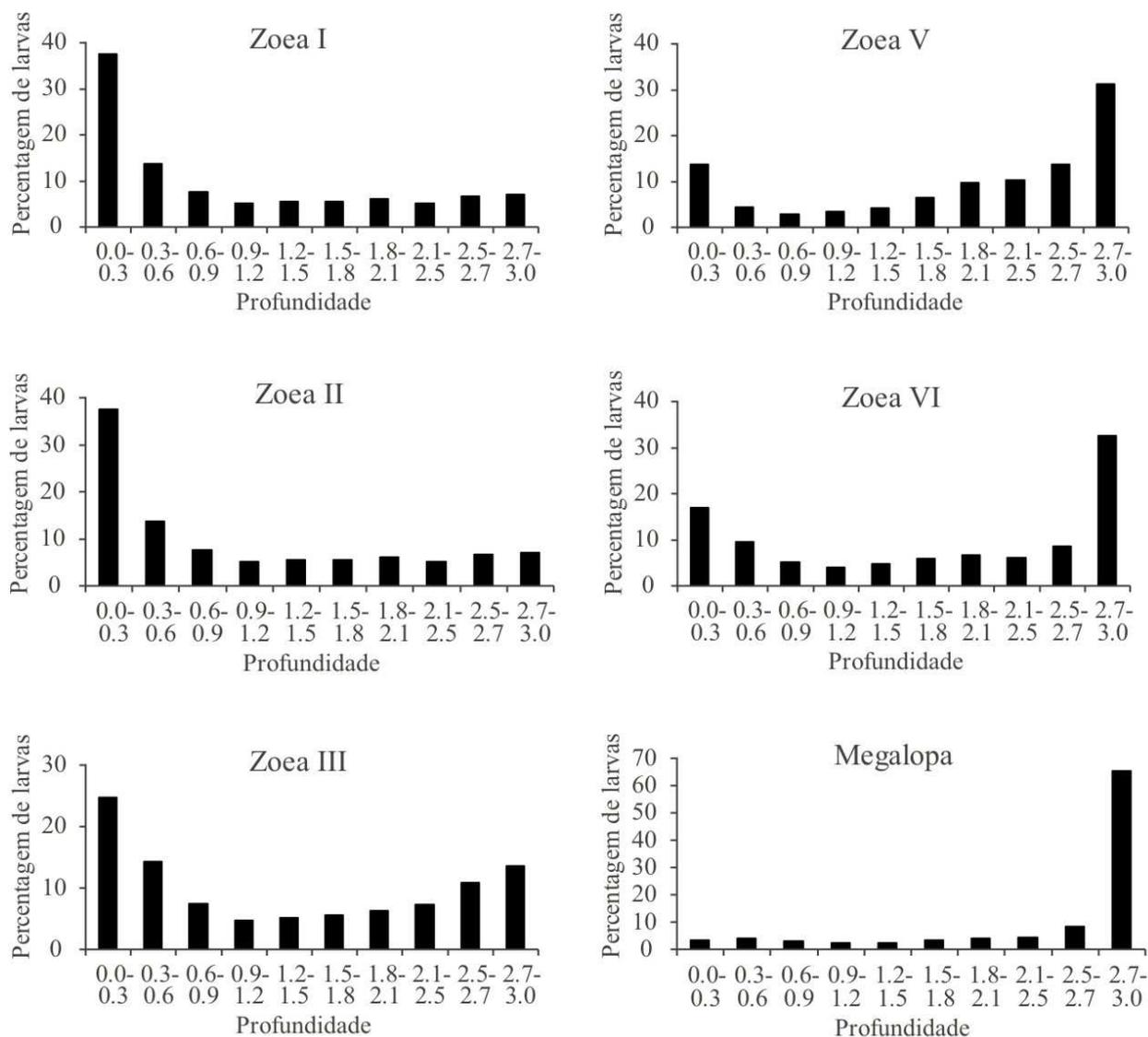


Figura 18. Distribuição de freqüência das larvas de *U. cordatus* ao longo da coluna da água, combinando todas as réplicas.

O estágio de zoea VI manteve-se preferencialmente em posição muito próxima ao fundo, apesar da grande coluna de água à sua disposição. Após a última metamorfose da fase larval, quando os indivíduos transformaram-se em megalopas, praticamente todas as larvas permaneceram próximas ao fundo. Essa mudança gradual foi confirmada por análise *a posteriori* dos resultados da ANOVA através do teste de Tukey HSD (Tabela 2).

Tabela 2. Probabilidades obtidas a partir das análises *à posteriori* das variações na posição média dos diferentes estágios do *U. cordatus* ao longo da coluna da água usando o teste de Tukey HSD. As probabilidades são baseadas nos dados não transformados (diagonal superior) e nos dados ranqueados (diagonal mais baixa). As probabilidades estatisticamente significativas são mostradas em negrito.

	zoea 1	zoea 2	zoea 3	zoea 5	zoea 6	megalopa
zoea 1	-	0.9999	<b>0.0008</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>
zoea 2	0.9998	-	<b>0.0017</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>
zoea 3	<b>0.0007</b>	<b>0.0003</b>	-	0.3622	0.9674	<b>0.0188</b>
zoea 5	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>	0.3401	-	0.8388	0.8045
zoea 6	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>	0.9891	0.7209	-	0.1415
megalopa	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0278</b>	0.8859	0.1288	-

## DISCUSSÃO

A adequação dos sistemas de cultivo aos requerimentos ambientais e comportamentais das larvas de caranguejo-uçá é um processo contínuo e busca, em última análise, o aumento nas taxas finais de sobrevivência obtidas em condições controladas. Essa adequação pode ser fundamentada tanto na experimentação empírica, quanto na analogia entre o ambiente de cultivo e o ambiente natural. Nesse último caso, deve-se ter em mente que alguns comportamentos observados na natureza, apesar de fundamentais no processo de desenvolvimento larval, podem não ser reproduzíveis ou adaptáveis aos sistemas de cultivo.

A movimentação vertical da zoea de caranguejos na coluna d'água é um fato reconhecido na literatura. Alguns autores citam exemplos em que essa movimentação vertical é influenciada por fatores abióticos cíclicos. Park *et al.*, (2004), trabalhando com larvas de *Hemigrapsus sanguineus*, demonstraram que as zoeas I e III responderam positivamente ao aumento de pressão, subindo na coluna d'água em direção à superfície, enquanto o último estágio de zoea da espécie, zoea V, não respondeu aos aumentos na pressão hidrostática.

O'Connor & Epifanio (1985), trabalhando com *Uca pugnax*, perceberam que as zoeas I permanecem mais próximas da superfície durante sua migração das áreas de eclosão para fora dos estuários. Já as larvas em zoea V permanecem mais próximas do fundo dos corpos d'água, mudando seu comportamento apenas quando ocorriam mudanças bruscas de salinidade, naquele caso, da ordem de 10 ou mais.

Portanto, a tendência de posicionamento em relação à coluna d'água pode também variar com o avanço do desenvolvimento larval. A zoea I se mantém naturalmente nas

regiões mais superficiais da coluna d'água, enquanto os últimos estágios migram para camadas mais profundas (Queiroga *et al.*, 1997). Este posicionamento responderia primariamente a estímulos barocinéticos e geotáxicos (Millikin & Williams, 1984).

Uma das hipóteses mais aceitas para explicar este comportamento defende que seria uma adaptação ligada à estratégia de dispersão e recrutamento larval. Larvas na fase de zoea, sendo eminentemente planctônicas, poderiam se posicionar mais favoravelmente em relação à direção das correntes, aproveitando as diferentes velocidades das camadas da coluna d'água (Sulkin, 1984). Após a eclosão, durante a retenção das larvas em ambientes favoráveis, e até mesmo no momento do retorno das mesmas aos ambientes onde ocorre o assentamento, esta movimentação vertical maximizaria o deslocamento, com as correntes mais superficiais, ou o retardariam, com a sua aproximação com o fundo.

As movimentações verticais cíclicas, em função de variações de fatores abióticos, são raramente observadas durante as larviculturas conduzidas no interior dos laboratórios. Já a tendência dos estágios mais adiantados de se posicionarem cada vez mais junto ao fundo dos tanques foi freqüentemente observada (Silva, 2002). Os resultados deste experimento confirmaram que esta movimentação é natural e que pode ser atribuída à migração vertical ontogênica.

Os cultivos larvais de *U. cordatus* no LAPOA são conduzidos em tanques com cerca de 70 cm de profundidade. Os aereadores mecânicos (sopradores), comumente utilizados em laboratórios de larvicultura, não são capazes de romper pressões de colunas de água superiores a 1,5 metros, razão pela qual os tanques de larvicultura geralmente não ultrapassam esta marca (Lawson, 1994). Os resultados do presente experimento demonstraram que a amplitude da movimentação larval pode alcançar profundidades superiores a 3 metros.

Desta forma, mesmo com a utilização de tanques de cultivo com o dobro da profundidade daqueles utilizados atualmente nos cultivos em larga escala, o contato das larvas com o fundo, em função das migrações verticais ontogênicas a que estão sujeitas, não poderia ser evitado. Assim sendo, a utilização de tanques mais profundos para tentar se resolver o problema não seria tecnicamente viável. Alternativas tecnológicas deverão ser testadas e desenvolvidas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGER, K. The biology of decapod crustacean larvae. Crustacean Issues. V. 14. Balkema A. A . publishers, Rotterdam, Netherlands, 420 pp. 2001.

- DIELE, K. Life history and population structure of the exploited mangrove crab *U. cordatus* (L.) (Decapoda: Brachyura) in the Caeté estuary, North Brazil. Doctor's thesis. Zentrum für Marine Tropenökologie, Universität Bremen, Bremen, Germany. 103 pp. 2000.
- FORWARD, R. B. JR. Larval release rhythms of decapod crustaceans: an overview. *Bulletin of Marine Science*. v. 41, p. 165-176. 1988.
- ISMAEL, D. ANGER, K. MOREIRA, G. S. Influence of temperatures on larval survival, development and respiration in *Chasmagnatus granulata* (Crustacea Decapoda). *Helgoländer Meeresunters*. 51p. 1997.
- LAWSON, T. B. (Ed). *Fundamentals of Aquacultural Engineering*. Kluwer Academic Publishers, pp. 364. 1994.
- LIGHTNER, D. A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 1996.
- MILLIKIN, M. R. & WILLIAMS, A. B. Synopsis of biological data of the blue crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun). FAO Fish. Synopsis N. 138 NOAA Tech. Rep. NMFS 1. Pp. 1-39. 1984.
- O' CONNOR, N. J. & C. E. EPIFANIO. The effect of salinity on the dispersal and recruitment of fiddler crab larvae. *J. Crust. Biol.* V. 5:137-145. 1985.
- PARK, S., CHARLES, E., EPIFANIO, C. E., ERIN, K., & GREY, C. Behavior of larval *Hemigrapsus sanguineus* (de Haan) in response to gravity and pressure. Graduate College of Marine Studies, University of Delaware, USA. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 307, pp. 197– 206. 2004.
- PAULA, J. BARTIOTTI, C. DRAY, T. MACIA, A. & H. QUEIROGA. Patterns of temporal occurrence of brachyuran crab larvae at Saco mangrove creek, Inhaca Island (South Mozambique): implications for flux and recruitment *Journal of plankton research*. V 26 (10):1163-1174. 2004.
- PINHEIRO, M. A. A. *Biologia do caranguejo-uçá Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) no litoral sul do Estado de São Paulo. Relatório Científico Final do Projeto Uca FAPESP (Proc. 98/6055-0), Jaboticabal, SP, pp. 211. 2001.
- QUEIROGA, H., COSTLOW, J. D. Jr., MOREIRA, M. H. Vertical migration of the crab *Carcinus Maenas* first zoea in a estuary: Implications for tidal stream transport *Marine ecology progress series*, v. 149, pp. 121-132. 1997.
- SANTAROSA-FREIRE, A. Dispersão larval do caranguejo do mangue *Ucides cordatus* em manguezais da Baía de Paranaguá, Paraná. Tese de Doutorado. Doutorado em Oceanografia (Oceanografia Biológica) da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1998.
- SILVA, U. A. Cultivos Experimentais de Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763). Tese de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba – Paraná. 89 pp. 2002.

SULKIN, S. D., VAN HEUKELEM, W., KELLY, P., VAN HEUKELEM, L. The Behaviour basis of larval recruitment in the crab *Callinectes sapidus* (Rathbun): a laboratory investigation of ontogenic changes in geotaxis and barokinesis. Biological bulletin, v. 159, pp. 402-417. 1980.

SULKIN, S. D. Behavioral basis of depth regulation in the larvae of Brachyuran crabs. Mar. Ecol.Prog. Ser. 15, 181-205. 1984.

TANKERSLEY, R. A., L. M. MCKELVEY, & R. B. FORWARD, Jr.. Responses of estuarine crab megalopae to pressure, salinity and light: Implications for flood-tide transport. Mar. Biol. V. 122:391-400. 1995.

## Capítulo III - Efeitos das condições ambientais e das técnicas de manejo sobre a higidez e sobrevivência de larvas do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea Brachyura Ocypodidae)

### RESUMO

Uma série de experimentos foi conduzida com o objetivo de testar meios de se reduzirem os efeitos deletérios da matéria orgânica acumulada no fundo dos tanques de cultivo sobre as larvas de *Ucides cordatus*. No primeiro experimento, 20 mil larvas (estágio inicial de zoea I) foram cultivadas em 3 tipos diferentes de tanques: de fundo chato (controle), tanque-rede (em que todas as larvas podem ser facilmente transferidas de uma vez para um novo tanque) e cilindro-cônico (em que o fluxo ascendente de água tende a manter as larvas longe do fundo). Os tratamentos utilizaram tanques, com 100 litros de capacidade, e foram testados com 5 repetições cada. As larvas foram alimentadas com a microalga *Tetraselmis gracilis* ( $50.10^3$  células por ml) e com o rotífero *Brachionus plicatilis* (6 rotíferos por ml) até o estágio de zoea V. A partir daí eram fornecidos náuplios de artêmia (0,5 náuplios por ml). Não houve diferença significativa em relação à sobrevivência final alcançada nos diferentes tanques testados. Porém, se considerados outros indicadores utilizados para avaliar o estado de higidez larval durante o cultivo - como taxa parcial de sobrevivência, escala temporal entre mudas sucessivas e condição do hepatopâncreas - conclui-se que os tanques de fundo chato proporcionam melhores resultados, enquanto os tanques cilindro-cônico são os menos recomendáveis para a larvicultura de *U. cordatus*. O segundo experimento teve por objetivo testar o efeito de diferentes tipos de substrato sobre a sobrevivência final de larvas e foi realizado em recipientes plásticos de 300 ml, contendo 5 larvas cada. Foram testados 5 tipos de substrato: areia, pedra brita, conchas de ostra, halimeda e sedimento de manguezal. A alimentação utilizada foi a mesma do experimento anterior. No tratamento controle (ausência de substrato), foi registrado o maior número de larvas que atingiram a fase de megalopa e no tratamento que utilizou sedimento de manguezal ocorreu a maior mortalidade de larvas. A sobrevivência final obtida nos demais tratamentos não foi significativamente diferente entre si ( $p > 0,05$ ). No terceiro experimento foram testadas três diferentes técnicas de manejo do material orgânico acumulado no fundo dos tanques de cultivo no final dos cultivos: limpeza do fundo por sifonamento, aumento da concentração de oxigênio dissolvido junto ao fundo do tanque e tratamento químico do sedimento de fundo. Vinte tanques de fundo chato, com 100 litros de capacidade foram separados em três tratamentos e um controle. Uma quantidade de sedimento foi removida por sifonagem do fundo dos tanques de cultivo em larga escala e transferido para os tanques experimentais. Vinte e quatro horas depois, após a completa resedimentação da matéria orgânica, 100 larvas no estágio de zoea VI, foram liberadas em cada tanque. As três diferentes técnicas de manejo do sedimento foram comparadas com o grupo controle, em que o material orgânico não sofreu nenhum tipo de manejo. A técnica do sifonamento se mostrou mais eficiente que as demais. A maior taxa de mortalidade larval foi registrada no tratamento controle (em que o sedimento foi mantido sem nenhum tipo de manejo), enquanto os resultados obtidos nos demais tratamentos não diferiram entre si. Os resultados dos experimentos permitem afirmar que a larvicultura de *U. cordatus* deve ser realizada em tanques de fundo chato, sem substratos artificiais e com limpeza constante do fundo, através de sifonagem.

Palavras-chave: repovoamento, larvicultura, megalopa, muda, molt death syndrome.

## ABSTRACT

A series of experiments was conducted with the objective of testing different ways to reduce the deleterious effect of organic matter accumulated in the bottom of culture tanks on the survivorship of cultured larvae of *U. cordatus*. In the first experiment, 20,000 larvae in the initial stage of zoea I were cultivated in 3 different types of tank: flat bottom (control), net pens (where all the larvae can be transferred at the same time to a new tank) and the cylindrical-conical (where the ascending water flow has a tendency of keeping the larvae away from the bottom). The tanks, each with 100 liters of capacity, were tested with five replicates. The larvae had been fed with the micro algae *Tetraselmis gracilis* ( $50 \cdot 10^3$  cells per ml) and with rotifer, *Brachionus plicatilis* (6 ind. per ml) until the stage of zoea V. From this stage on, they were supplied with freshly hatched artemia nauplii (0.5 ind. per ml). The best results were observed in the treatment that used flat bottom tanks while the cylinder-conical achieved the worse scores. The objective of the second experiment was to test different types of substratum on survivorship and metamorphosis rate of the larvae. It was carried out in 300 ml plastic containers, with five larvae each. Five types of different substratum were tested (sand, brittle rock, pieces of oyster shells, halimeda and mangrove sediment). The feeding schedule used was the same of the previous experiment. In the controlled treatment (absence of substrata) it was registered the higher number of ecdysis from zoea to megalopa while the treatment that used mangrove sediment it was registered the highest mortality rate. The final survival rate, obtained in the remaining treatments, was not significantly different from each other. In the third experiment, 3 different techniques for handling the accumulation of organic material in the culture tanks were tested: siphoning of the material, oxygen supplementation and chemical treatment. All of those were compared with to the control group, in which the organic material deposited in the bottom of tanks did not suffer any handling. 20 flat bottom tanks, of 100 liters of capacity, were separated in 4 groups. The organic material from the bottom of these tanks was collected trough siphoning and transferred to the experimental tanks. 24 hours later, 100 larvae in the stage of zoea VI, were released in each experimental tank. The siphoning method showed to be more efficient than all the rest. The highest mortality rate was registered in the controlled group (in which the sediment was kept without any handling), while the results of all the remaining treatments did not differ significantly among themselves. This series of the experiments allows the conclusion that the larviculture of *U. cordatus* should be carried through in flat bottom tanks, without any artificial substrata and with constant siphoning of the bottom as part of the routine husbandry.

Key words: substratum, vertical migration, larval behavior, larviculture, stock enhancement, zoea.

## INTRODUÇÃO

Programas de repovoamento de crustáceos aquáticos estão fundamentados na obtenção de grandes quantidades de larvas em estágio adequado para sua liberação no ambiente. A obtenção dessas larvas, por sua vez, depende fundamentalmente da existência de uma tecnologia de larvicultura apropriada.

As maiores dificuldades enfrentadas durante o desenvolvimento da larvicultura do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus*, são os elevados índices de mortalidade que geralmente ocorrem no final da larvicultura, durante o processo de metamorfose da fase de zoea para megalopa. Grandes quantidades de larvas são encontradas mortas no fundo do tanque, sem que tenham conseguido completar a ecdise e se liberar da exúvia antiga. Mais de 90% das larvas de um tanque de larvicultura podem ser afetadas em um único dia (Silva, 2002).

Um fenômeno semelhante vem sendo registrado igualmente na larvicultura de várias outras espécies de crustáceos decápodes. Entre as hipóteses levantadas para explicar o fenômeno, que vão desde problemas nutricionais até a composição química da água, nenhuma foi capaz de explicar plenamente o desencadeamento desta síndrome (Bowser & Rosemark, 1981; Hilton, 1984; Daniel *et al.*, 1985; Harpaz & Schmalbach, 1986).

Durante os cultivos em grande escala realizados no Laboratório de Pesquisa com Organismos Aquáticos (LAPOA) foi observado que, na etapa final de cultivo, as larvas de *U. cordatus*, principalmente aquelas no estágio de zoea VI, tendem a se concentrar no fundo dos tanques de larvicultura (Silva, 2002). Nessa fase do cultivo costuma haver a deposição de grandes quantidades de matéria orgânica em decomposição, excrementos, exúvias e larvas mortas. A hipótese aqui levantada é que o contato das larvas sadias com este material orgânico, rico em microorganismos decompositores, poderia estar relacionado como o alto índice de mortalidade observado.

Experimentos anteriores demonstraram que as larvas de *U. cordatus* apresentam um comportamento de migração vertical de caráter ontogênico (ver capítulo II, da presente tese). Naquele trabalho ficou demonstrado que esse comportamento pode explicar a presença de larvas de estágios mais adiantados em contato direto com o fundo dos tanques. Ficou também demonstrado que a amplitude deste movimento vertical é superior a 3 metros, o que inviabilizaria a utilização de tanques mais profundos nos laboratórios, como forma de se evitar o contato das larvas com o fundo.

As evidências indicam que a interação entre as larvas com o fundo dos tanques torna-se deletério apenas devido ao fato das larvas serem cultivadas em ambiente artificial, em densidades muito superiores às aquelas que ocorrem em ambiente natural.

O presente trabalho tem por objetivo testar uma série de modificações no ambiente de cultivo e nas técnicas de manejo empregadas, na intenção de reduzir o efeito deletério da

interação das larvas com o material orgânico depositado no fundo dos tanques de larvicultura de *U. cordatus*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e data dos experimentos**

Os experimentos foram realizados entre janeiro e março de 2005, no LAPOA. O laboratório pertence ao Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), da Universidade Federal do Paraná e está localizado em Curitiba, PR.

### **Obtenção das larvas de *U. cordatus***

Foram coletadas 50 fêmeas ovígeras de *U. cordatus* em manguezais do município de Guaratuba, Paraná, Brasil. As fêmeas foram transportadas ao laboratório e acondicionadas em tanques plásticos, supridos com água marinha na salinidade de 25. Durante os testes, a temperatura da água dos tanques variou em torno de 25 ° C ( $\pm 1$  ° C). A eclosão das larvas ocorreu naturalmente, cerca de dois dias antes da lua nova.

### **1º. Experimento: Cultivo de larvas em diferentes tipos de tanques**

Foram testados três tipos de tanques: tanque cilíndrico-cônico, tanques de fundo chato e tanques-rede. Todos os tanques tinham capacidade para 100 litros de água. Cada tipo de tanque (tratamento) foi testado com cinco repetições. Os tanques de fundo chato eram similares aos que já estavam sendo utilizados nas larviculturas em larga escala realizadas no LAPOA e consistiam simplesmente em um tanque cilíndrico com fundo plano. O tanque-rede foi formado de um conjunto de dois tanques de fundo chato, de diâmetros iguais, encaixados um dentro do outro. O tanque interno tinha um fundo de tela de 300  $\mu$ m de abertura de malha. No tanque cilindro-cônico, a água era bombeada (por meio de uma bomba Sarlo-Better, com vazão de 200 l/h) pelo dreno do fundo e captada novamente na superfície, criando um fluxo ascendente capaz de re-suspender suavemente as larvas que chegassem ao fundo. Uma estrutura de tela de 300  $\mu$ m de abertura de malha impedia que as larvas fossem succionadas para dentro da bomba (Figura 19).

Na montagem do experimento, o volume correspondente ao filtro no caso do tratamento do tanques cilindro-cônico e o volume entre a tela e o fundo, no caso do tratamento com tanque-rede, foi compensado com um volume maior de água, para evitar diferenças significativas nas densidades de estoque entre os tratamentos.

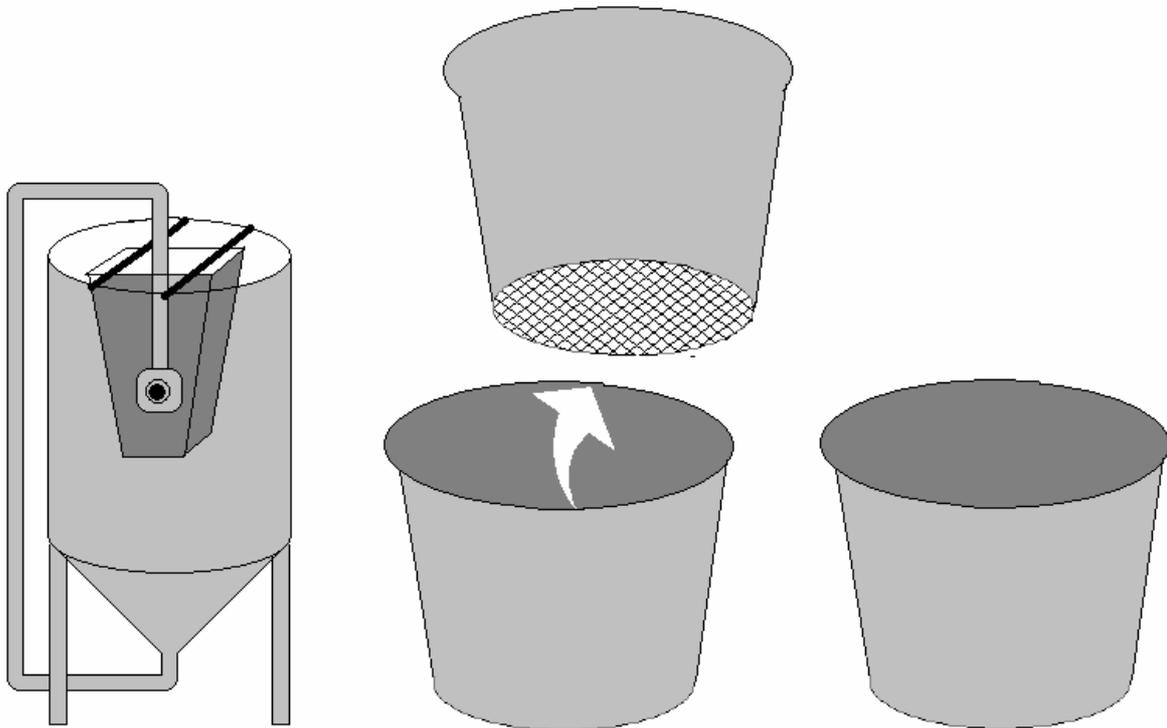


Figura 19. Diferentes tipos de tanques testados. Cilindro-cônico (esquerda), tanque-rede (centro) e fundo chato (direita).

Os três conjuntos de tanques foram previamente preenchidos com cerca de 100 litros de água marinha, filtrada, desinfetada com hipoclorito de sódio e neutralizada para eliminação do cloro residual livre, com temperatura de cerca de 25°C e salinidade de 26. As larvas foram coletadas diretamente dos tanques de eclosão do LAPOA por sifonamento e distribuídas aleatoriamente em suas respectivas unidades experimentais. Vinte mil larvas recém eclodidas foram depositadas em cada um dos tanques.

As larvas receberam alimentação padrão utilizada para *U. cordatus* no LAPOA, ou seja, suspensão de microalgas da espécie *Tetraselmis gracilis* ( $5.10^3$  células por ml), além de duas doses diárias de rotíferos *B. plicatilis* (de modo a elevar a concentração para 6 rotíferos por ml). A água dos tanques foi renovada em uma taxa de 10% diariamente através de simples troca. No tratamento que utilizou o tanque rede foram realizadas ao todo 3 transferências do tanque-rede interno para um tanque limpo, contendo água nas mesmas condições ambientais que o anterior.

Dois tipos de amostragens foram realizados durante o experimento. No primeiro tipo uma amostra de 10 larvas era retirada diariamente de cada um dos tanques e analisada ao microscópio para identificação do estágio larval e para o monitoramento da condição do hepatopâncreas, o único indicador utilizado para análise da higidez, já que reflete mais precisamente a condição geral da larva em um dado momento do cultivo (ver capítulo I, da presente tese).

A outra amostragem foi realizada por 3 vezes durante o experimento, para estimar as taxas de sobrevivência final. O copo graduado de 300 ml invertido era mergulhado na água e girado em 180° subitamente. Todas as larvas eram contadas e devolvidas.

As larviculturas realizadas nos tanques experimentais tiveram a duração de 30 dias, quando as taxas de sobrevivência finais foram determinadas.

### **2º. Experimento: Cultivo de larvas em diferentes tipos de substrato**

A unidade experimental consistiu de recipientes plásticos de cor branca, com 5 cm de diâmetro inferior, 8 cm de diâmetro superior e 10,5 cm de altura. Foram testados 5 tratamentos experimentais (diferentes tipos de substratos): areia fina de praia, pedra brita ( $\pm$  1,5 cm de diâmetro), halimeda para aquário, conchas de ostra trituradas e sedimento de manguezal, comparando os resultados com o tratamento controle, onde não foi utilizado nenhum tipo de substrato. Todo o material foi previamente autoclavado por 15 minutos, antes de serem utilizados no experimento. Os recipientes foram divididos em 6 grupos de 5 recipientes, pois cada tratamento foi testado com cinco réplicas.

As larvas para este experimento foram previamente cultivadas de acordo com a metodologia padrão adotada no LAPOA (ver Prefácio) até alcançarem o estágio de zoea V, quando esta dieta foi completamente substituída por náuplios de artêmia (0,5 náuplios por ml) até atingirem o estágio de zoea VI.

Cada recipiente foi preenchido com 300 ml de água, na salinidade 25 e recebeu cinco larvas no estágio de zoea VI, totalizando 150 larvas.

Todos os recipientes foram mantidos em câmara germinadora com temperatura e fotoperíodo constantes ( $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ; 16 horas de luz por dia). A água de cada unidade experimental era totalmente renovada uma vez por dia. Durante o período de realização do experimento, as larvas continuaram recebendo alimentação à base de artemia, na densidade de 0,5 náuplios de artêmia por ml.

Diariamente, as larvas que realizavam a metamorfose para o estágio de megalopa eram retiradas das unidades experimentais, contadas e substituídas por novas larvas no estágio de zoea VI. O experimento teve duração de seis dias.

### **3º. Experimento: Manejo do material depositado em tanques de fundo chato**

Neste experimento foram testadas três diferentes técnicas de manejo do material orgânico acumulado no fundo dos tanques de cultivo no final dos cultivos: limpeza do fundo por sifonamento, aumento da concentração de oxigênio dissolvido junto ao fundo do tanque e tratamento químico do sedimento de fundo.

A unidade experimental consistiu em tanques plásticos de 100 litros, de fundo chato. Vinte tanques foram separados em três tratamentos e um controle. Os tanques foram

preenchidos com mesma água dos tanques de cultivo massivo, e de onde as larvas seriam também retiradas.

Parte do sedimento acumulado no fundo dos tanques de cultivo foi coletada por sifonamento, homogeneizado, separado em frações iguais e distribuído homogeneamente entre as unidades experimentais. Vinte e quatro horas depois, após a completa resedimentação da matéria orgânica do fundo, cada unidade recebeu 100 larvas no estágio de zoea VI, provenientes dos tanques de cultivo em larga escala. Vinte e quatro horas mais tarde, o manejo específico para cada tratamento foi realizado.

Nos tanques do primeiro tratamento (fundo limpo), o material depositado no fundo foi cuidadosamente retirado por sifonagem. No segundo tratamento (Amonex), 2 ppm de amônia quaternária (Amonex® L.A. Ambiental) foi adicionado à água. No terceiro tratamento (oxigênio), o fundo dos tanques foi oxigenado através de mangueiras de aeração conectadas a um cilindro de oxigênio. Cada tanque recebeu quantidades semelhantes de oxigênio, distribuído através de três pedras de aeração de 15 x 2 x 3 cm. A sifonagem do fundo não foi repetida, assim como a administração de Amonex®, porém a administração de oxigênio foi realizada durante todo o experimento.

O cultivo experimental prosseguiu por 10 dias até que todas as larvas tivessem sofrido metamorfose ou então morrido. A água dos tanques foi renovada em 10% por troca diariamente e o cultivo seguiu da maneira que é tradicionalmente feita para esse estágio durante as larviculturas em grande escala. As larvas que morreram ou que sofreram metamorfose foram retiradas do cultivo para evitar que o canibalismo, comportamento característico deste estágio, não interferisse no resultado final. Após avaliação da distribuição dos dados obtidos, através de teste de Shapiro-Wilk, os dados foram tratados por ANOVA, seguida por teste *a posteriori* de Fisher LSD. Os resultados dos tratamentos foram comparados com o tratamento controle, que não recebeu nenhum tipo de manejo.

## RESULTADOS

### 1º. Experimento: Cultivo de larvas em diferentes tipos de tanques

O teste de Kruskal-Wallis indicou que as diferenças observadas entre as taxas de sobrevivência obtidas nos três tratamentos não foram significativas ( $p \geq 0,05$ ). No entanto, uma análise das curvas de sobrevivência obtidas apontou uma tendência dos piores resultados serem alcançados no tratamento em que se utilizou o tanque cilindro-cônico (Figura 20).

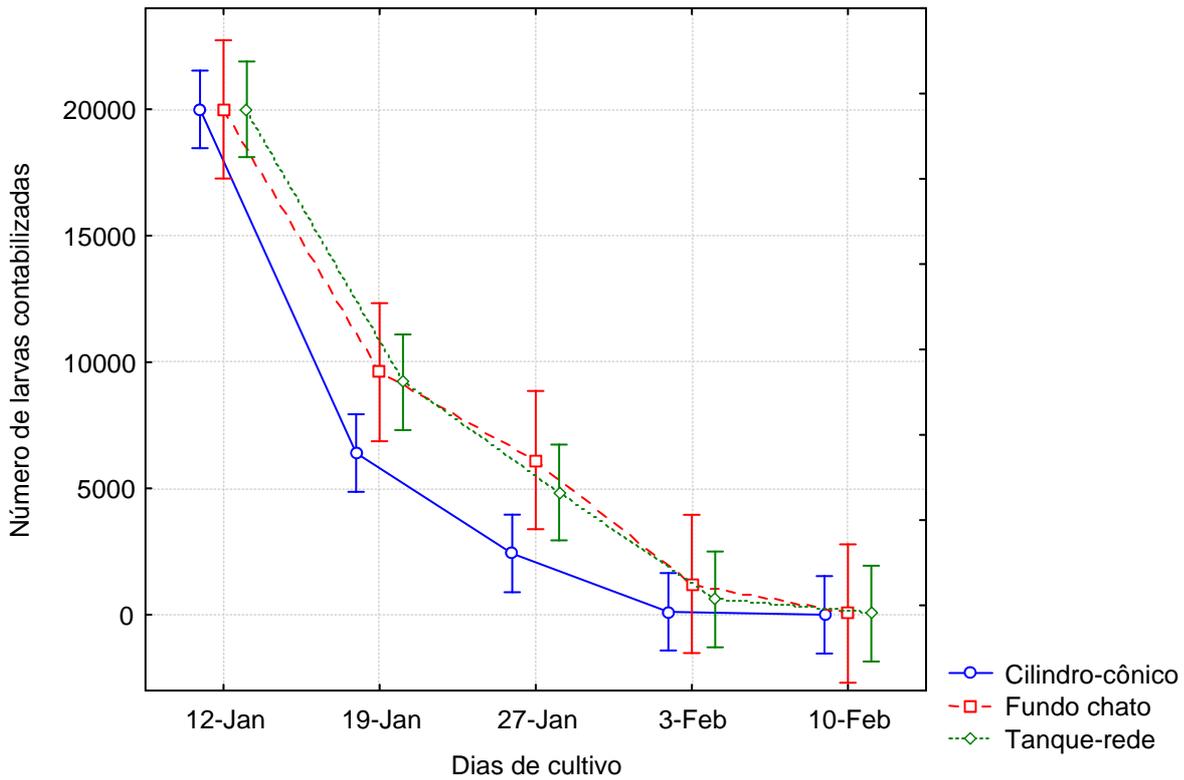


Figura 20. Taxas de sobrevivência de larvas de *U. cordatus* cultivadas em diferentes tanques de larvicultura. As linhas verticais denotam os intervalos de confiança (95%).

Da mesma forma, quando a série de dados relativos à mudança de estágio entre os tratamentos foi analisada através do teste de Kruskal-Wallis, as diferenças foram consideradas significativas ( $p < 0,05$ ). O teste *a posteriori* de Dunn demonstrou que durante todo o cultivo as larvas cultivadas nos tanques de fundo chato foram capazes de atingir o próximo estágio num intervalo de tempo mais curto que as larvas dos demais tratamentos (Figura 21). A partir do 25º dia de cultivo, não havia mais larvas viáveis no tratamento dos tanques cilindros-cônicos, porém, enquanto foi possível encontrar larvas, este tratamento se comportou de forma semelhante ao tanque-rede, no que se refere ao tempo de duração dos estágios.

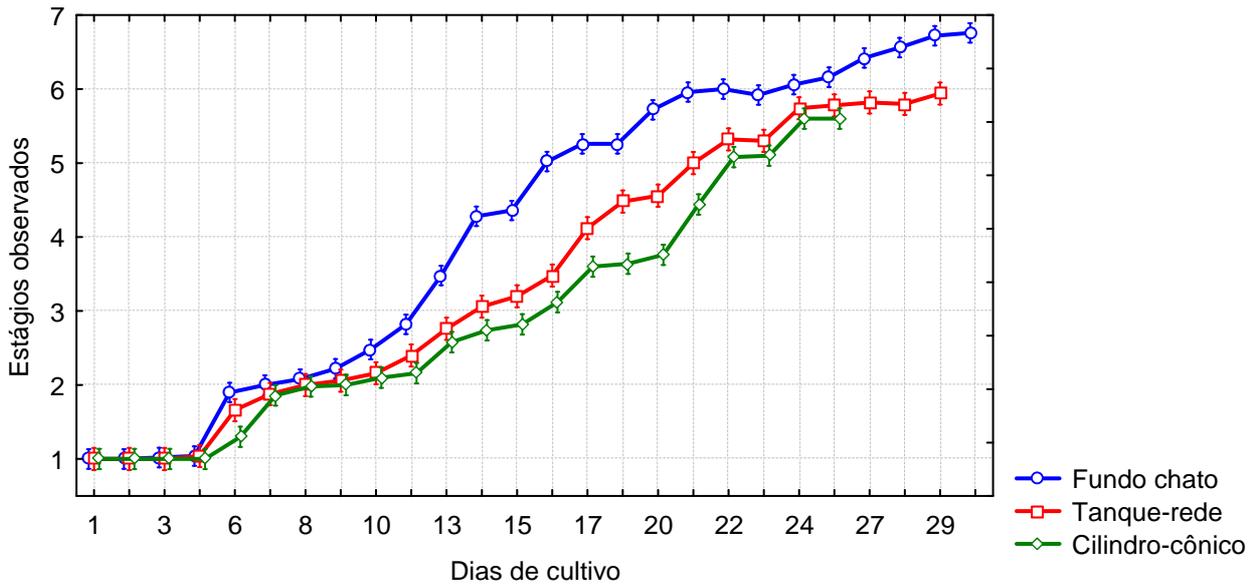


Figura 21. Tempo de duração dos estágios de desenvolvimento de larvas de *U. cordatus* (1 a 6 - zoea e 7- megalopa) cultivadas em diferentes tipos de tanques. As linhas verticais denotam os intervalos de confiança (95%).

A análise de variância dos dados relativos à condição do hepatopâncreas realizada através de teste de Kruskal-Wallis, seguido de teste *a posteriori* de Dunn demonstrou que a condição do hepatopâncreas das larvas do tratamento fundo chato foi significativamente melhor que a dos demais tratamentos (Figura 22).

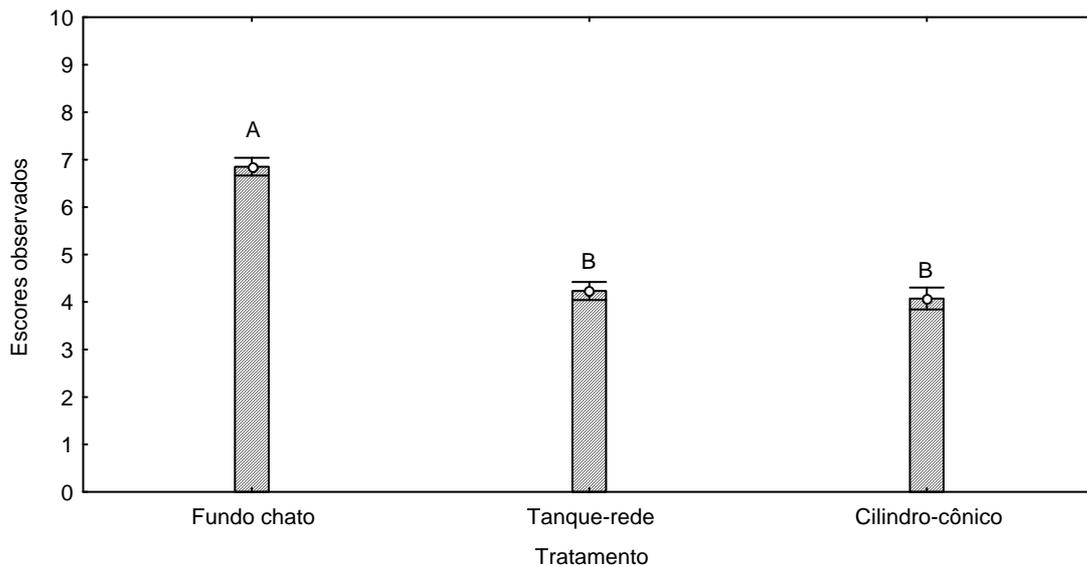


Figura 22. Dados agrupados relativos à condição geral do hepatopâncreas das larvas de *U. cordatus* cultivadas em diferentes tipos de tanques. Linhas verticais representam os desvios padrão. As letras representam grupos homogêneos de acordo com teste *a posteriori* de Dunn.

Uma análise visual das curvas de variação temporal dos escores que representam a condição geral do hepatopâncreas (Figura 23) demonstra que o tratamento que utilizou tanques de fundo chato apresentou os escores mais elevados durante todo o cultivo.

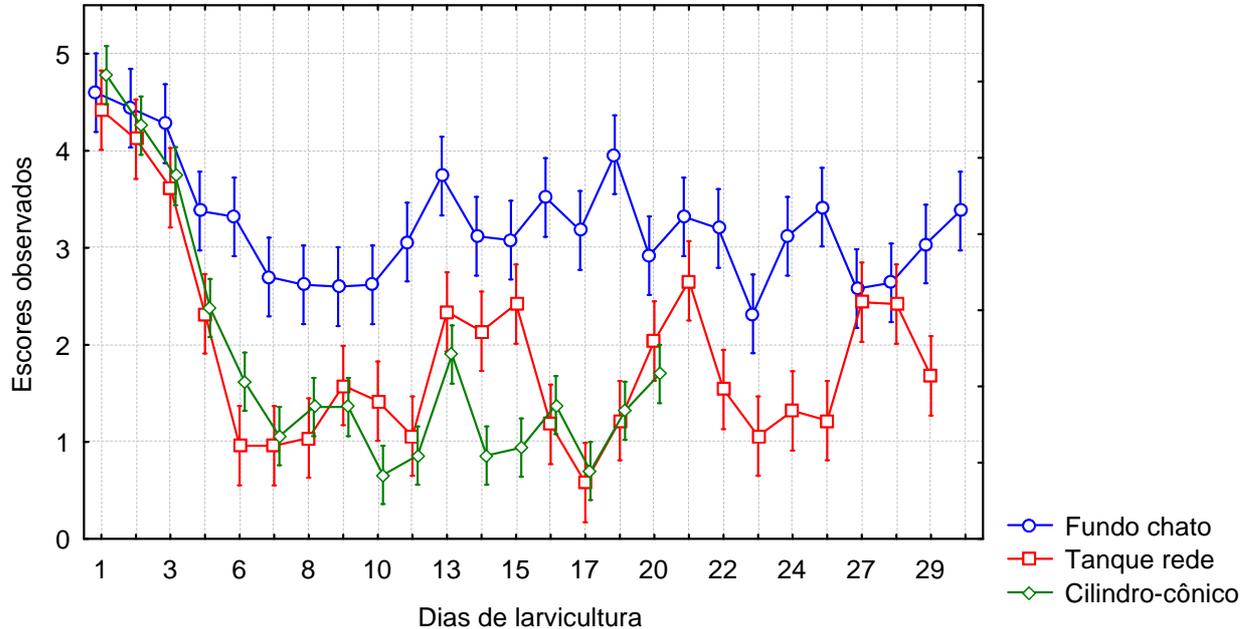


Figura 23. Oscilação do indicador de condição geral do hepatopâncreas de larvas de *U. cordatus* cultivadas em diferentes tipos de tanque. As linhas verticais denotam os intervalos de confiança (95%).

## 2º. Experimento: Cultivo de larvas com diferentes substratos de fundo

A série de dados foi analisada pelo método de Kruskal-Wallis, com aplicação do teste de Dunn, *a posteriori*. Tais análises indicaram que o número de zoeas VI que conseguiu realizar a ecdise para megalopa foi estatisticamente semelhante entre os tratamentos areia, pedra brita, halimeda e concha de ostra e o controle. O número de megalopas geradas no tratamento em que foi utilizado sedimento de mangue, foi significativamente distinto dos demais, e inferior ao obtido no grupo controle ( $p < 0,05$ ), sugerindo que sedimento de mangue exerce uma influência claramente negativa sobre a sobrevivência dos estágios finais da fase de zoea das larvas de *U. cordatus* (Figura 24).

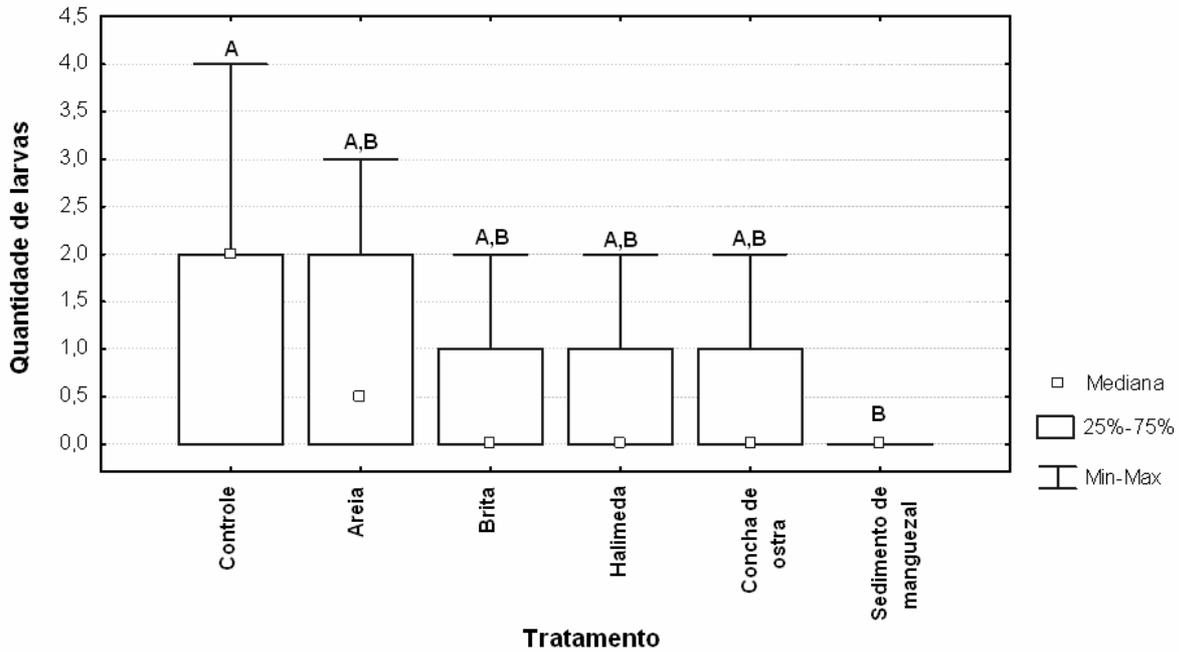


Figura 24. Número de larvas de *U. cordatus* que realizaram ecdise para megalopa, em tanques de cultivo com diferentes substratos. As letras representam grupos homogêneos, de acordo com o teste *a posteriori* de Dunn.

No tratamento em que foi empregado sedimento de mangue a mortalidade foi superior à ocorrida nos demais tratamentos. A maior sobrevivência foi observada no tratamento controle, sendo estatisticamente maior ( $p < 0,05$ ) que a dos tratamentos sedimento de mangue e conchas de ostra (Figura 25).

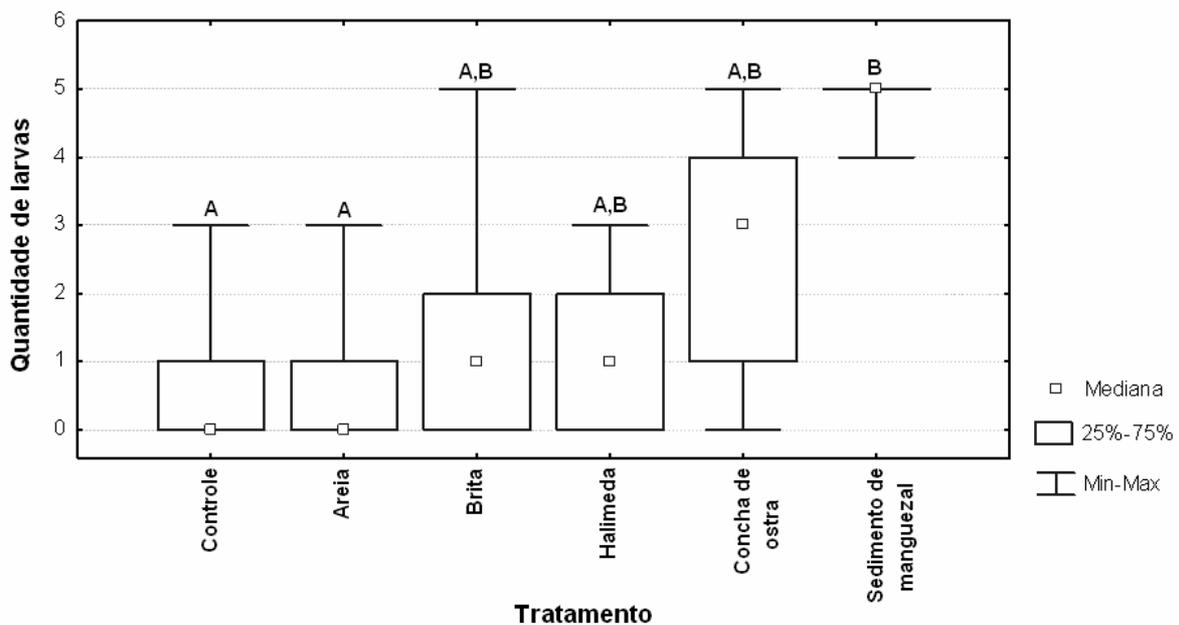


Figura 25. Mortalidade de larvas de *U. cordatus* cultivadas em unidades experimentais com diferentes materiais como substrato. As letras representam grupos homogêneos, de acordo com o teste *a posteriori* de Dunn.

### 3º. Experimento: Tipos de manejo do material sedimentar depositado em tanques de fundo chato

Os piores resultados foram observados tanto no tratamento em que a presença de sedimentos orgânicos foi mantida, quanto naquele em que o oxigênio foi adicionado.

A utilização de Amonex® resultou em resultados estatisticamente melhores que os obtidos a partir dos tratamentos já descritos. No entanto, a maior sobrevivência foi observada no tratamento em que o material depositado no fundo dos tanques foi retirado por sifonagem (Figura 26).

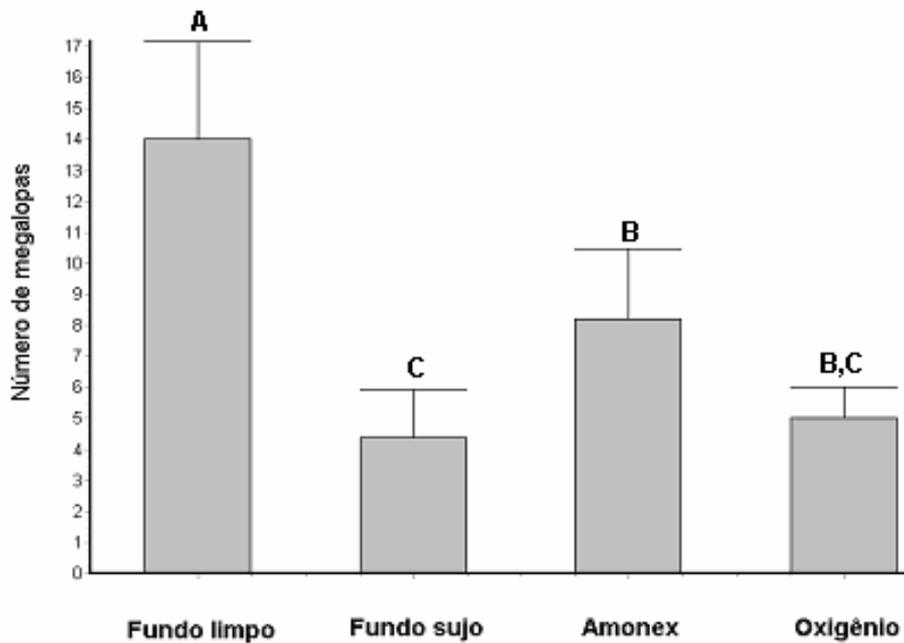


Figura 26. Número de larvas de *U. cordatus* que realizaram a ecdise de zoea VI para megalopa em tanques submetidos a diferentes técnicas de manejo de fundo. Letras indicam grupos homogêneos pelo teste *a posteriori* de Fisher LSD.

### DISCUSSÃO

A elevação das taxas de mortalidade de larvas de crustáceos decápodes no final do ciclo de desenvolvimento larval tem sido observada por vários autores que, na maioria das vezes, relacionam este fenômeno com problemas durante a ecdise.

Brock (1988) descreve episódios de intensa mortalidade que geralmente ocorrem no final do cultivo larval de *Macrobrachium rosenbergii*. As larvas acometidas morrem antes de efetuarem a muda seguinte. O autor denomina fenômeno como “Exúvia Entrapment Disease”, ou “EED”. Hamasaki *et al.* (2002) descrevem eventos semelhantes ocorrendo no final da larvicultura do siri *Scylla serrata*, ao qual chamam de MDS, ou “Molt death Syndrome”.

Entretanto, alguns autores acreditam que a composição química da água possa estar relacionada com o problema. Segundo Brock (1983 *In*: Bueno & Gastelú, 1998), a elevada concentração de carbonato de cálcio pode promover a formação de depósitos de cálcio na superfície interna da exúvia, dificultando a liberação desta por parte da larva.

Outros autores, entretanto, acreditam que este fenômeno esteja relacionado com a questão nutricional. D'Abramo *et al*, 1981 observaram reduções significativas nas mortalidades das larvas de *Homarus americanus* com características de MDS após a introdução de fosfatidilcolina em sua dieta. Coutteau *et al* (1997), analisaram a influência da adição de fosfolípido advindo da lecitina de soja para este mesmo fim. Já Tlustý *et al* (2005) testaram três tipos de dietas microencapsuladas para a alimentação larval de *Homarus americanus* e verificaram que a utilização do produto comercialmente conhecido como Progression® (Salt Lake Inc.) resultou nas melhores taxas de sobrevivência. Harpaz e Schmalbach (1986) relatam o controle destes eventos de mortalidades, para a mesma espécie, através da utilização na dieta de folhas de plantas como *Ailanthus altissima* e *Malva parviflora*.

No entanto, a relação das larvas com o ambiente de cultivo, como um dos fatores determinantes para o desencadeamento dos eventos de mortalidade, tem sido muito pouco estudada.

O ciclo de vida da maioria dos invertebrados marinhos bentônicos é caracterizado por fases bem distintas. No final da fase planctônica ocorre um dos momentos mais críticos no desenvolvimento: a transição para a vida bentônica. Dois momentos são importantes nessa fase: a metamorfose e o assentamento larval (Gebauer *et al.*, 2002). Na larvicultura em larga escala de *U. cordatus*, é justamente durante a metamorfose de zoea VI para megalopa que são registrados os mais intensos episódios de mortalidade. É possível perceber o exato momento em que a mortalidade em massa se inicia, pois o fundo dos tanques fica repleto de larvas mortas ou debilitadas.

No presente estudo, os resultados demonstram que diferentes características do fundo do tanque podem influenciar significativamente a higidez larval e frequência de ecdises. Tanto os tratamentos que utilizaram fluxos ascendentes de água quanto os que utilizaram telas para evitar o contato prolongado das larvas com o fundo apresentaram resultados significativamente piores do que o tratamento controle, em que não se impedia este contato. As larvas mantidas nos tanques cilindros-cônicos não lograram sequer passar do estágio de zoea V.

Enquanto nos tanques de larvicultura de camarões marinhos é comum a utilização de aeração vigorosa, que serve tanto para manter as larvas como os alimentos em suspensão, os resultados aqui obtidos indicam que o uso de fluxos ascendentes não é recomendável na larvicultura de *U. cordatus*. De acordo com Quintino *et al.* (2000), também

para o cultivo do siri *Scylla serrata*, o uso de aeração forte esteve relacionado a baixas taxas de sobrevivência.

De acordo com Melo (com. pess.), as larvas de decápodes, durante o processo de muda, enquanto se livram da velha exúvia, perdem momentaneamente a capacidade de se manter na coluna d'água. Geralmente, este processo não dura mais que alguns poucos minutos, tempo insuficiente para que, em águas profundas, a larva alcance o fundo (ver capítulo II, da presente tese). No entanto, em tanques de cultivo, essa movimentação as coloca diretamente em contato com o fundo e, conseqüentemente, com o material orgânico lá depositado.

Os resultados observados neste experimento, em relação ao tempo necessário para que as larvas realizem a muda, suportam a idéia que tanques de fundo plano permitem que a larva sofra a ecdise e volte à coluna d'água, sem a necessidade de movimentação excessiva.

Era esperado que o fundo dos tanques-rede acumulasse menor quantidade de sedimento e desta forma apresentasse os melhores resultados. Foi utilizada uma tela de abertura de malha suficiente para impedir a saída da zoea I, mas larga o suficiente para permitir a passagem de detritos, evitando seu acúmulo. Na prática, porém, a abertura de malha desta tela mostrou-se relativamente pequena para o objetivo proposto, de forma que a rápida colmatação resultante da decantação de matéria acabou neutralizando os eventuais benefícios do uso de tanques-rede.

No experimento seguinte testou-se a influência de diferentes tipos de substrato sobre a sobrevivência das larvas durante o cultivo do estágio de zoea. Sabe-se que a ausência de substrato, no momento em que a larva está pronta para realizar a metamorfose para megalopa, pode levar a um retardo do desenvolvimento, má-formação das larvas, ou mesmo a metamorfose seguida de morte da megalopa (Pechenik, 1990).

Gebauer *et al.*, (2003), estudando o caranguejo *Sesarma curacaoense*, perceberam a importância da presença de algum tipo de substrato durante a muda de megalopa para a fase juvenil. Utilizando gaze de nylon como substrato, estes autores conseguiram diminuir significativamente a mortalidade das pós-larvas durante a ecdise. O'Connor (1991) evidenciou que a presença de sedimento proveniente de locais onde a espécie habita naturalmente, juntamente com a presença de adultos da mesma espécie, foram fatores indutores da metamorfose de larvas de *Uca pugilator* e de *U. pugnax*.

A necessidade de substratos para estimular a indução da metamorfose de megalopa para o primeiro instar juvenil foi demonstrada para diversas outras espécies, como *Homarus americanus* (Botero & Atema, 1982), *Petrolisthes* spp. (Jensen, 1991), *Callinectes sapidus* (Forward *et al.*, 1995), *Panopeus herbstii* (Weber & Epifanio, 1998), *Pagurus maclaughlinae* e *Paguristes tortugae* (Harvey, 1996) e *Chasmagnathus granulata* (Gebauer *et al.*, 1998).

Porém, a maioria destes trabalhos se refere à ecdise de megalopa para primeiro estágio de juvenil, momento em que a larva naturalmente procura os habitats parentais para o recrutamento. A importância da presença de substratos para a ecdise de zoea VI para megalopa foi muito pouco estudada até hoje.

No presente experimento, os resultados mais negativos foram observados no tratamento em que se utilizou sedimento de manguezal. Trabalhos clássicos de dispersão larval apontam que o desenvolvimento pós-embrionário das larvas da maioria dos caranguejos braquiúros ocorre em regiões marinhas, próximas à costa, longe dos habitats parentais (Fernandes *et al.*, 2002). Os resultados do experimento corroboram esta assertiva, ao demonstrar que os sedimentos argilosos interferem negativamente na sobrevivência das larvas.

As diferenças observadas nas taxas de sobrevivência obtidas nos demais tratamentos não foram significativas, ao passo que os melhores resultados foram obtidos no tratamento controle, onde nenhum tipo de substrato foi utilizado.

No cultivo larval de várias espécies de braquiúros, recomenda-se a utilização de substratos inertes, como telas de nylon ou peças de plástico com superfícies irregulares, após metamorfose de zoea para megalopa. Esta recomendação visa basicamente evitar o efeito do canibalismo entre megalopas, e principalmente juvenis, por meio da criação de refúgios (Souza, 2006), não tendo relação direta com o cultivo de larvas na fase de zoea.

No último experimento da série, que testou alternativas de manejo para os problemas decorrentes da sedimentação orgânica acumulada no fundo dos tanques, a comparação entre os resultados observados no tratamento controle e no tratamento que utilizou o sifonamento demonstraram que a presença do material orgânico acumulado no fundo dos tanques influencia negativamente a sobrevivência das larvas.

O tratamento em que se utilizou Amonex<sup>®</sup> também gerou uma taxa de sobrevivência significativamente maior que o controle. Este resultado indicou que o efeito deletério do sedimento do fundo é devido, em grande parte, à atividade microbiana.

Clemens *et al.* (1999) sugerem que a mortalidade das larvas em meio a alta DBO<sup>3</sup> observada no sedimento do fundo de tanques de cultivo pode ser amplificada no momento da muda, principalmente em função de uma maior dificuldade de difusão percuticular do oxigênio para os tecidos. Os autores sugerem que a suplementação de oxigênio no fundo dos tanques, nesta fase da larvicultura, poderia reduzir a mortalidade. Porém, os dados do presente trabalho não corroboraram com estes autores, uma vez que não foram observadas diferenças significativas entre as taxas de sobrevivência obtidas no tratamento em que foi adicionado oxigênio em comparação com o tratamento controle.

---

3 Demanda Bioquímica de Oxigênio

## CONCLUSÕES

A presença de material orgânico em decomposição acumulado no fundo dos tanques faz com que o contato das larvas de *U.cordatus* com o fundo dos tanques seja bastante prejudicial às larvas. Contudo, não se deve evitar tal contato através do uso de fluxos ascendentes de água. O material sedimentar depositado ao longo da larvicultura, por sua vez, deve ser mecanicamente retirado dos tanques, através de sifonagem ou por outro método de manejo semelhante. Por fim, não se recomenda o uso de substratos no fundo dos tanques de larvicultura de caranguejo-uçá durante a fase de zoea.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOTERO, L. & ATEMA, J. Behavior and substrate selection during larval settling in the lobster *Homarus americanus*. *Journal of crustacean biology*. V. 2(1), pp. 59-69. 1982.
- BOWSER, P. R. & ROSEMARK, R. Mortalities of cultured lobsters, *Homarus sp.*, associated with a molt death syndrome. *Aquaculture*, v. 23(1-4), pp. 11-18. 1981.
- BROCK, J. A. Exúvia entrapment disease of *M. rosenbergii* larvae. Pp142-144. In: Sinderman, C. J. & Lightner, D. V. Eds. *Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture*. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, V. 17. Elsevier, Amsterdam. 1988.
- BUENO, S. L. S & GASTELÚ, J. C. G. Doenças em camarões de água doce. *In*: *Carcinocultura de água doce: tecnologia de produção de camarões* Valenti, W. C. ed. Fapesp. São Paulo. 1998.
- CLEMENS, S. Massabuau, J. C. Meyrand, P & J Simmers. Changes in motor network expression related to molting behavior in lobster: role of molt induced deep hypoxia. *J. Exp. Biol.* 202:817-827. 1999.
- COUTTEAU, P., GEURDEN, I., CAMARA, M. R., BERGOT, P., & SORGELLOOS, P. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larvicultura. *Aquaculture*, v. 155, pp. 149-164. 1997.
- DANIEL, P. C., BAYER, R.C. & CHAPMAN, S. Barnacle larvae (*Balanus spp.*) as a potential diet for juvenile lobsters (*Homarus americanus*) – *Aquaculture*. V. 46(1), pp. 67-70. 1985.
- D'ABRAMO, L. R. , BORDNER, C. E., CONKLIN, D. E. & BAUM, N. A. Essentiality of dietary phosphatidylcholine for the survival of juvenile lobsters. *The Journal of Nutrition*, v. 111(3), pp. 425-431. 1981.
- FERNANDES, L. D. A., BONECKER, S. L. C. & VALENTIN, J. L. Dynamic of decapod crustacean larvae on the entrance of Guanabara bay. *Brazilian archives of biology and technology*, v. 45(4), 2002.

- FORWARD, R. B. Jr., TANKERSLEY, R. A., DeVRIES, M. C., RITTSCHOF, D. Sensory physiology and behaviour of the blue crab, *Callinectes sapidus*, postlarvae during horizontal transport. *Marine and freshwater behaviour and physiology*, v. 26, pp. 233-248. 1995.
- GEBAUER, P., PASCHKE, K., & ANGER, K. Delayed metamorphosis in decapod crustaceans: evidence and consequences. *Revista chilena de historia natural*, v. 76, pp. 169-175. 2003.
- GEBAUER, P., PASCHKE, K., ANGER, K., Metamorphosis in a semiterrestrial crab, *Sesarma curacaoense*: intra- and interspecific settlement cues from adult odors. *Journal of experimental marine biology and ecology*, v. 268, pp. 1-12. 2002.
- GEBAUER, P., WALKER I., ANGER, K. Effects of substratum and conspecific adults on the metamorphosis of *Chasmagnathus granulata* (Dana). *Journal of experimental marine biology and ecology*, v. 223, pp. 185-198. 1998.
- HAMASAKI, K, SUPRAYUDI, M. A. & T. TAKEUCHI. Mass mortality during metamorphosis to megalops in the seed production of mud crab *Scylla serrata* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) *Fisheries science*. 68: 1226–1232. 2002.
- HARPAZ, S. & SCHMALBACH, E. A. Improved growth and health of the Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, by addition of fresh leaves to the artificial diet. *Aquaculture*, v. 55, pp. 81–85. 1986.
- HARVEY, A. W. Delayed metamorphosis in Florida hermit crabs: multiple cues and constraints (Crustacea: Decapoda: Paguridae: Diogenidae). *Marine ecology progress series*, v. 141, pp. 27-36. 1996.
- HILTON, J. W., HARRISON, K. E. & SLINGER, S. J. A semi-purified test diet for *Macrobrachium rosenbergii* and the lack of need for supplemental lecithin. *Aquaculture*, v. 37(3), pp. 209-215. 1984.
- JENSEN, G. C., ARMSTRONG, D. A. Intertidal zonation among congeners: Factor regulating distribution of porcelain crabs *Petrolisthes* spp. (Anomura: Porcellanidae). *Marine ecology progress series*, v. 73, pp. 47-60. 1991.
- MELO, S. Dr<sup>a</sup>. Professora substituta. Especialista em cultivo de larvas de Decapoda Caridea (*Macrobrachium*) e Thalassinidea (*Upogebia*). Curso de Pós-Graduação em Zoologia da UFPR.
- O'CONNOR, N. J. Flexibility in timing of the metamorphic molt by fiddler crab megalopae *Uca pugilator*. *Marine ecology progress series*, v. 68(3), pp. 243-247. 1991.
- PECHENIK, J. A. Delayed metamorphosis by larvae of benthic marine invertebrates: Does it occur? Is there a price to pay?. *Ophelia*, v. 32, pp. 1-21. 1990.
- QUINITIO, E. T., PARADO-ESTEPA, F. D. Transport of *Scylla serrata* megalopae at various densities and durations. *Aquaculture*, v. 185, pp. 63-71. 2000.

SILVA, U. A. Cultivos Experimentais de Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763). Tese de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba – Paraná. 89 pp. 2002.

SOUZA, R. V. Canibalismo e assentamento de formas jovens de caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L.) (Crustácea, Brachyura, Ocypodidae), em condições de laboratório. Curitiba, Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, pp. 39. 2006.

TLUSTY, M. F., FIORE, D. R., GOLDSTEIN, J. S. Use of formulated diets as replacements for Artemia in the rearing of juvenile American lobsters (*Homarus americanus*). Aquaculture, v. 250(3-4), pp. 781-795. 2005.

WEBER, J. C., EPIFANIO, C. E. Response of mud crab (*Panopeus herbstii*) megalopae to cues from adult habitat. Marine biology, v. 126, pp. 655-661. 1998.

## Capítulo IV – Uma via alternativa de desenvolvimento larval de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) em laboratório

### RESUMO

Este estudo está fundamentado no acompanhamento individual do desenvolvimento de larvas de *U. cordatus* cultivadas em laboratório. Cem larvas, no estágio de zoea I, obtidas através de eclosões espontâneas de fêmeas ovígeras, foram cultivadas em frascos individuais, contendo 30 ml de água marinha (salinidade 25) com duas dietas alimentares distintas. As 50 larvas do primeiro grupo foram alimentadas exclusivamente com náuplios de artêmia recém-eclodidos (0.5 náuplios por ml) enquanto as do segundo, com uma combinação da microalga *Nannochloropsis oculata* ( $12 \times 10^5$  células por ml) e rotíferos *Brachionus plicatilis* (6 rotíferos por ml). O experimento foi desenvolvido em um ambiente com temperatura ( $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ) e fotoperíodo (16:8 L/E) controlados. Diariamente, as larvas eram supridas de água e alimento fresco e as exúvias e larvas mortas eram recolhidas e analisadas. O experimento foi concluído quando a última larva atingiu o estágio de megalopa. Nenhuma larva do primeiro grupo atingiu o estágio de zoea V, enquanto no segundo, as taxas de sobrevivência até este estágio ultrapassaram 80%. A partir deste ponto, no entanto, duas vias de desenvolvimento larval foram identificadas. Das 37 larvas no estágio de zoea V, 13 sofreram metamorfose diretamente para megalopa, seis morreram e outras 18 mudaram para zoea VI. Destas, apenas duas lograram se transformar em megalopa. Dezesesseis 16 delas morreram sem atingir o estágio seguinte. Deste grupo, 13 zoeas VI que morreram apresentavam características de "MDS", ou Molt Death Syndrome - quando a larva morre na fase de pré muda tardia (D4) do ciclo de muda. É sugerido que a zoea VI seja um estágio supranumerário, decorrente de condições ambientais desfavoráveis.

Palavras-chave: repovoamento, larvicultura, megalopa, muda, MDS, zoea.

### ABSTRACT

This study was based on monitoring the larval individual development of *U. cordatus* cultivated in laboratory. One hundred larvae, in the stage of zoea I, obtained through spontaneous eclosions, were cultivated in individual flasks, containing 30 ml of sea water at 25 salinity and controlled temperature of  $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , with two distinct feeding schedules. The first group was fed exclusively with freshly hatched artemia nauplii (0,6 ind. per ml) while the other, with a combination of the micro algae *Nannochloropsis oculata* ( $12 \times 10^5$  cells per ml) and rotifers *Brachionus plicatilis* (6 rot. per ml). The experiment was carried out in a temperature ( $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ) and photoperiod (16:8L/D) controlled environment. Every day, the larvae were transferred to a new flask with fresh water and food. The exuviae and deceased larvae were collected and analyzed. The experiment was concluded when the last larva reached the stage of megalopa. No larvae from the first group reached the stage of zoea V, while in the second group, the survival rates until zoea V exceeded 80%. From this point on, however, two different ways of larval development were identified. Of the 37 larvae in the stage of zoea V, 13 suffered metamorphosis directly to megalopa, six of them died and the rest of the 18, suffer ecdysis to zoea VI. Of all the zoea VI, only two successfully metamorphosed themselves into megalopa while all 16 died without reaching the following stage. Of all dead zoea VI, 13 of them, when observed at microscope, presented characteristics of megalopa while still attached to an old zoea VI exoskeleton. This way, the present work describes a phenomenon that resembles "MDS", or Molt Death Syndrome, when the decapod larva dies in the late pre-molt phase (D4) of the ecdysial cycle. It is suggested that zoea VI are a supra-numeral stage, and its appearance is due to unfavorable environmental conditions.

Key words: stock enhancement, larvicultura, megalopa, ecdysis, Molt death syndrome, zoea.

## INTRODUÇÃO

Cultivos larvais de *U. cordatus* (L. 1763) em larga escala são realizados anualmente no LAPOA, Laboratório de Pesquisas de Organismos Aquáticos, da Universidade Federal do Paraná. A larvicultura da espécie é realizada durante o seu período reprodutivo natural, como parte de um programa institucional de repovoamento de caranguejo-uçá do litoral paranaense. Apesar da produção de larvas do laboratório satisfazer os objetivos mais imediatos do programa, a tecnologia de cultivo ainda se encontra na fase experimental.

Um dos maiores problemas enfrentados nas larviculturas da espécie são os elevados índices de mortalidade de larvas, que geralmente ocorrem na fase final da larvicultura, durante o processo de ecdise de zoea VI para megalopa, e que atingem até 90 % das larvas cultivadas.

As metodologias de larvicultura para outras espécies de caranguejos braquiúros, lagostas e lagostins, também se encontram em níveis experimentais (Sulkin e Norman, 1976; Paul *et al.*, 1989; Sulkin *et al.*, 1998; Mann *et al.*, 2001; Ruscoe *et al.*, 2004). Um fenômeno conhecido como “Molt Death Syndrome”, ou “MDS”, vem sendo responsabilizado por perdas de até 100% das larvas na maioria dos casos relatados por esses autores. Grandes quantidades de larvas mortas são encontradas no fundo do tanque, quase sempre apresentando características mistas entre zoea e decapodito, sem lograrem a compleição da ecdise.

No mundo inteiro, diversas hipóteses foram apresentadas para explicar o fenômeno, que vão desde problemas nutricionais até à composição química da água. Conklin *et al.*, 1980 (*in* Coutteau *et al.*, 1997), utilizou lecitina de soja na dieta de larvas de *Homarus americanus* e reportou reduções significativas na incidência de MDS. D'Abramo *et al.* (1981) sugeriram adição de fosfatidilcolina para os mesmos propósitos, enquanto Tlustý *et al.* (2005) afirmaram ter reduzido as mortalidades com a utilização de uma dieta microencapsulada conhecida comercialmente como Progression® (Salt Lake Inc.). Até mesmo folhas de plantas como *Malva parviflora* e *Ailanthus altissima* foram sugeridas como forma de controle em *Macrobrachium rosenbergii* (Harpaz e Schmalbach, 1986).

Por outro lado, Brock (1988) sugere que elevadas concentrações de carbonato de cálcio podem promover a formação de depósitos na superfície interna da exúvia, dificultando a liberação desta pela larva, desencadeando a MDS.

Os eventos de alta mortalidade, ocorridos nas larviculturas de *U. cordatus* no LAPOA, foram investigados em vários experimentos anteriormente mencionados nesta tese (ver capítulos I, II III) e através de revisão bibliográfica. Não foram encontrados relatos da ocorrência de MDS em larvas de *U. cordatus*. Porém, a larvicultura em larga escala não

permite o acompanhamento individual do processo de muda, dificultando a identificação da origem dos problemas.

O objetivo do presente trabalho foi analisar, de forma individual, o desenvolvimento pós-embrionário de *U. cordatus* em busca de padrões recorrentes que possam revelar uma relação entre os eventos de mortalidade registrados no final dos cultivos e distúrbios no processo de ecdise, o que comprovaria a ocorrência de MDS também em larvas de *U. cordatus*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Fêmeas de *U. cordatus* foram coletadas por catadores profissionais no litoral paranaense e transferidas para o LAPOA, em Curitiba. As larvas, obtidas através de eclosões ocorridas naturalmente, foram contadas e transferidas ao acaso para 100 frascos, contendo 30 ml de água marinha, na mesma temperatura, pH e salinidade dos tanques de eclosão. Os frascos foram mantidos em estufa, com temperatura ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) e fotoperíodo (16:8 L/E) controlados. Os frascos foram separados em dois grupos iguais, submetidos a dois protocolos alimentares diferentes: náuplios recém eclodidos de artêmia (Great Salt Lake Artemia cysts. Premium quality - INVE Aquaculture Nutrition), na densidade de 0,5 náuplios por ml, e uma combinação da microalga *Nannochloropsis oculata*, na densidade de  $12 \times 10^5$  células por ml, e do rotífero *Brachionus plicatilis*, na densidade de 6 rotíferos por ml.

Diariamente, as larvas foram transferidas, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, para um novo frasco contendo água limpa e alimento fresco. Também, foram inspecionadas exúvias e eventuais larvas mortas, que foram recolhidas e fixadas em álcool 70% glicerinado. A data da muda e o estágio de desenvolvimento foram registrados em uma planilha. O experimento foi concluído quando todas as larvas atingiram a fase de megalopa ou morreram.

Lâminas semipermanentes foram montadas com as exúvias, seladas com esmalte transparente e fotografadas sob microscópio óptico. A identificação dos estágios de desenvolvimento larval de *U. cordatus* foi baseada na descrição morfológica proposta por Rodrigues & Hebling (1989). Os estágios de zoea I a zoea III foram identificados com base no número de cerdas do segundo maxilípede. Já para os estágios de zoea IV, V e VI, foram considerados o número e a forma dos pleópodos.

## **RESULTADOS**

No tratamento em que se utilizou artêmia, todas as larvas morreram antes de atingir o estágio de zoea V. As taxas de sobrevivência foram inferiores a 45% de zoea I até zoea III

e nula para zoea IV (Tabela 3). No tratamento onde as larvas foram alimentadas com microalgas e rotíferos, as taxas de sobrevivência foram mais altas, atingindo 70% até zoea V.

Tabela 3. *U. cordatus*. Taxas de sobrevivência de cada estágio de desenvolvimento larval, em diferentes protocolos alimentares.

Estágio	Protocolos Alimentares			
	Náuplios de artêmia		Microalgas e rotíferos	
	n válido	Taxas de sobrevivência (%)	n válido	Taxas de sobrevivência (%)
zoea I	50	100	50	100
zoea II	21	42	42	84
zoea III	5	10	40	80
zoea IV	2	4	39	78
zoea V	0	0	35	70
zoea VI	0	0	18	38
megalopa	0	0	13*	26

\*11 megalopas provenientes de zoea V e 2 de zoea VI

A partir deste ponto, no entanto, observou-se que o desenvolvimento larval seguiu por duas vias distintas. Das 35 zoeas V, 11 sofreram metamorfose diretamente para megalopa, 18 mudaram para zoea VI e seis morreram sem conseguir atingir o próximo estágio (Figura 27).

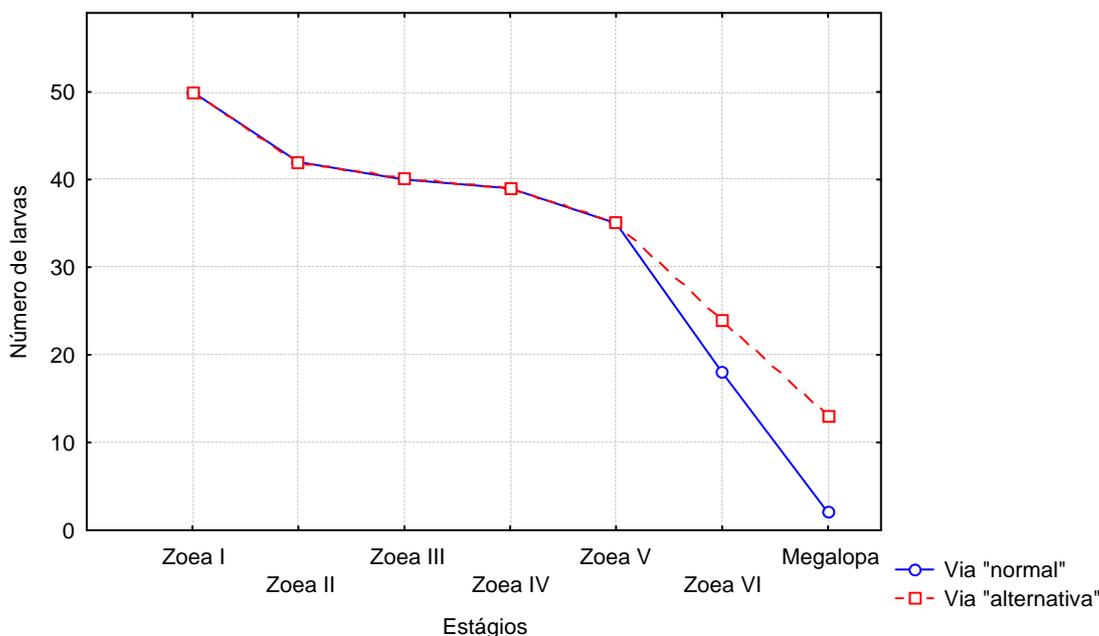


Figura 27. *U. cordatus*. Diferentes vias de desenvolvimento larval, observadas no tratamento em que as larvas foram alimentadas com microalgas e rotíferos enriquecidos com emulsão comercial. Em azul, a via considerada normal de acordo com Rodrigues & Hebling (1989) e em traçado vermelho uma via mais curta de desenvolvimento larval.

Quando plotadas em um gráfico, combinando as curvas de sobrevivência para cada estágio, é possível observar que o estágio de zoea VI ocorreram concomitantemente à fase de megalopa (Figura 28).

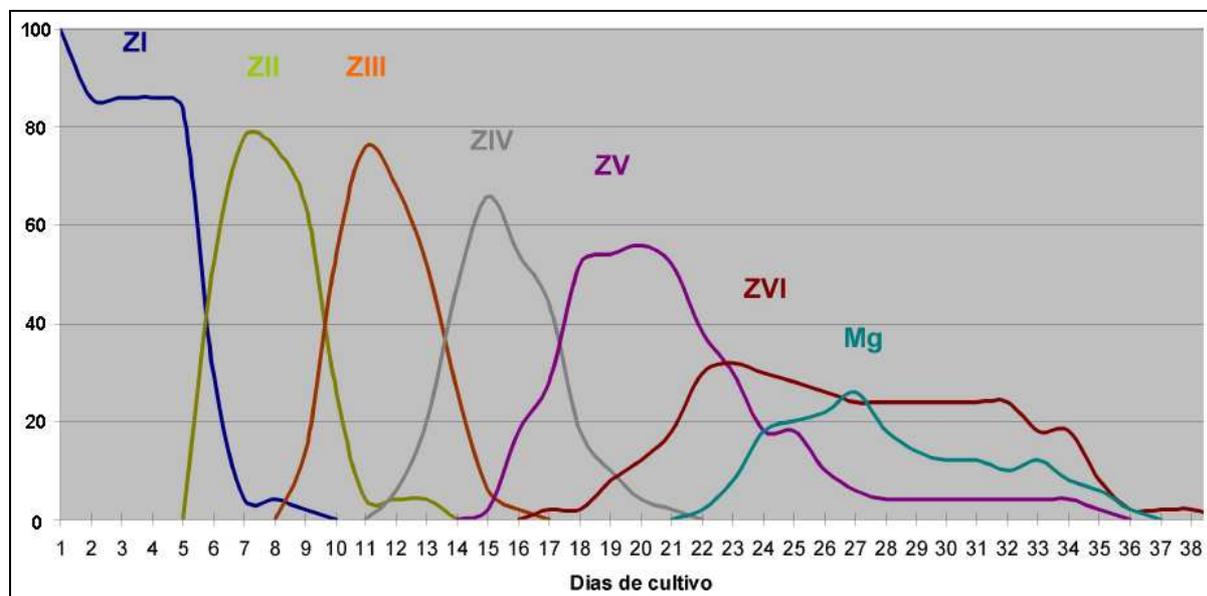


Figura 28. Curvas de duração e sobrevivência de larvas *U. cordatus* alimentadas com microalgas e rotíferos nos diferentes estágios ao longo do cultivo experimental.

Para comparar os dados referentes aos dois tratamentos, foi utilizado o teste “U” de Mann-Whitney, após a confirmação, através do teste de Shapiro-Wilk, de que os dados não se adequavam a uma curva normal.

O tempo de duração de zoea I foi maior ( $p < 0,01$ ,  $U = 186$ ,  $N = 44$ ) no tratamento com náuplios de artêmia. Nos demais estágios, onde a análise foi possível análise (zoeas II, III e IV), esta tendência foi mantida, embora, nesses casos, não tenham sido detectadas diferenças significativas entre os dois tratamentos ( $p = 0,33$ ,  $0,78$  e  $1$ , respectivamente).

No tratamento a base de microalgas e rotíferos o tempo médio que as larvas levaram até a conclusão da metamorfose para megalopa foi de 25,3 dias (Mediana = 24, Amplitude = 22-33)

A primeira megalopa surgiu no experimento no 22º dia de cultivo. Até o dia 27, havia ocorrido a maior parte das metamorfoses para megalopa. A partir deste ponto algumas megalopas, tanto oriundas de zoea V quanto VII, começam a morrer. A última megalopa sofreu ecdise somente no 33º dia de cultivo, quando somente 5 megalopas ainda continuavam vivas (Tabela 4).



Quando as larvas em estágio de zoea V foram analisadas ao microscópio mais cuidadosamente, percebeu-se que aquelas que dão origem diretamente a megalopas são diferentes daquelas que passam antes pelo estágio de zoea VI. Maiores e morfologicamente distintas, as primeiras apresentam o quinto par de pleópodos bastante proeminente, facilmente reconhecível e por isso receberam o termo “zoea V(a)”. As últimas, que ainda passarão por um último estágio de zoea antes da metamorfose para megalopa, são menores e apresentam apenas pleópodos vestigiais no penúltimo segmento abdominal, e foram chamadas de “zoea V(b)” (Figura 29). A zoea V(b) pode ser facilmente confundida com a zoea IV, durante a análise diária de rotina.

Figura 29. *U. cordatus*. Zoea V (a) (acima) e zoea V (b) (abaixo). Notar a diferença de tamanho dos pleópodos nos segmentos abdominais.

Das 18 larvas em estágio zoea VI, apenas duas lograram atingir a fase de megalopa, enquanto 16 morreram. Quando as estas zoeas mortas foram analisadas ao microscópio, observou-se que 13 encontravam-se com a exúvia de zoea ainda aderido, embora os apêndices característicos de megalopa já fossem visíveis (Figura 30). As larvas aparentaram estar na fase de pré-muda, ou D4 do ciclo descrito por Anger *et al.* (2003).

Figura 30. *U. cordatus*. Comparação uma zoea VI “normal” (esquerda) e uma zoea VI acometida por MDS (direita). Os pereiópodes na larva com MDS são desproporcionalmente grandes em relação a carapaça.

Os pleópodos das larvas afetadas apresentavam um estrangulamento em sua base, não visível nas zoeas VI consideradas “normais” (Figura 31). É possível que este seja um dos pontos onde a exúvia velha se prende ao exoesqueleto da larva, impedindo a finalização da ecdise.

Figura 31. *U. cordatus*. Segmentos abdominais de uma zoea VI acometida por MDS. Notar o estrangulamento na base dos pleópodos e a presença do novo exoesqueleto aprisionado pelo velho.

## DISCUSSÃO

Os cultivos larvais realizados em frascos individuais seguem, em linhas gerais, a metodologia proposta por Costlow & Bookhout (1959) e, mais tarde, Fransozo (1980). As principais diferenças entre estes e os cultivos em larga escala são: a menor densidade, ausência de movimentação de água provocada por aeração e a completa renovação do ambiente de cultivo, com a transferência da larva de um frasco para o outro. Esta diferença faz com que, na maioria dos casos, resultados obtidos por experimentos em frascos individuais não possam ser diretamente extrapolados para tanques de cultivo em larga escala.

No presente experimento, este método foi utilizado para possibilitar o acompanhamento do processo de desenvolvimento da mesma larva até o fim dos cultivos e permitir sua posterior comparação com cultivos realizado por outros autores.

A obtenção de todos os estágios de desenvolvimento larval de *U. Cordatus* foi conseguida por Rodrigues e Hebling (1989). Isso permitiu, pela primeira vez, sua descrição morfológica. As larvas, cultivadas individualmente em placas de Petri pelos autores, foram alimentadas com náuplios de artêmia recém-eclodidos, atingiram uma taxa de sobrevivência de 31.6%, até a fase de megalopa. Os referidos autores observaram que a maioria sofreu seis mudas na fase de zoea antes de se tornarem megalopa e somente cerca de 10% das larvas lograram passar do estágio de zoea V diretamente para o de megalopa. Por outro lado, Diele (2000), utilizando náuplios de artêmia como fonte exclusiva de alimento, observou que nenhuma larva de *U. cordatus* chegou a atingir estágio de zoea III.

Ruscoe *et al.* 2004, num estudo sobre a alimentação de larvas de siri *Scylla serrata* (Forskål, 1755), observaram que é possível cultivar as larvas até a metamorfose para juvenil usando exclusivamente náuplios de artêmia. Porém a sobrevivência, a velocidade de desenvolvimento e o sucesso na metamorfose são aumentados com a inclusão de rotíferos na alimentação inicial.

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram as observações de Diele (*op. cit.*), e indicam que a utilização de náuplios de artêmia como único alimento para larvas de *U. cordatus* não é a dieta mais adequada.

Porém, a diferença mais marcante observada no presente estudo em relação ao trabalho de Rodrigues e Hebling (1989), foi a inversão de frequência de ocorrência das megalopas nas duas vias de desenvolvimento larval. No trabalho daqueles autores, 89,4% das larvas que atingiram a fase de megalopa passaram por seis estágios (zoea I a VI), enquanto, apenas um grupo menor de larvas (10,5%) logrou atingir diretamente a fase de megalopa, após cinco estágios de zoea. Em contraste, no presente estudo, para o único tratamento em que as larvas atingiram a fase de megalopa, a maior fração (86,6%) das larvas sofreu metamorfose diretamente a partir da zoea V.

Os próprios autores ressaltam, em sua revisão bibliográfica que, sete dentre nove integrantes da família Ocypodidae, à qual *U. cordatus* pertence, possuem cinco e não seis estágios de zoea. Estes dados podem indicar que a via mais freqüente de desenvolvimento de *U. cordatus* envolve cinco estágios de zoea e uma de megalopa.

O prolongamento do tempo de desenvolvimento larval, com o aparecimento de um sexto estágio de zoea antes da megalopa, seria uma via alternativa, que ocorreria em condições de adversidade alimentar ou ambiental (Anger, 2001). Corrobora esta hipótese, a taxa de sobrevivência muito baixo obtida dentre as larvas que passaram pelo estágio de zoea VI antes de atingir o de megalopa.

A existência de vias alternativas no desenvolvimento larval de crustáceos decápodes foi investigada por diversos autores (Costlow, 1965; Sandifer & Smith, 1979; Makarov, 1981; McConaughy, 1988; Anger, 2001). Para Montú *et al.*, 1990, o aparecimento de estágios supranumerários representa uma possível adaptação às condições ambientais desfavoráveis.

Zeng, *et al.* (2004), trabalhando com larvicultura de *S. paramamosain*, observaram o aparecimento de um sexto estágio larval, quando o descrito para a espécie era de apenas cinco. Os autores, neste trabalho utilizaram diversas combinações de dois diferentes regimes alimentares, um baseado exclusivamente em rotíferos enriquecidos e outro baseado em náuplios de artêmia, com várias densidades e seqüências alimentares. Nos seus experimentos, o estágio supranumerário surgiu nos tratamentos com pior performance e alta correlação com baixas taxas de sobrevivência.

Pestana & Ostrensky, 1995, trabalhando com *Chasmagnatus granulata* (Dana, 1851) também reportaram o aparecimento de um quinto estágio supranumerário nos cultivos onde as taxas de sobrevivência foram mais baixas. Os autores também observaram que as larvas em zoea IV, que sofreriam metamorfose diretamente para megalopa eram maiores que aquelas que ainda passariam pelo 5º estágio.

No presente experimento, também foi observado que as larvas em zoea V que mudaram diretamente para megalopa eram menores e morfologicamente distintas daquelas que iriam ainda passar pelo estágio de zoea VI. Estas duas diferentes categorias de larvas do mesmo estágio foram denominadas zoea V (a) e (b). A quantificação do número de zoea V (a) e (b) em um determinado tanque de cultivo poderá se constituir em uma importante ferramenta para prever o acometimento de MDS durante um processo de larvicultura.

A existência de dois morfotipos distintos para zoea V, fato desconhecido dos pesquisadores durante as análises de rotina dos cultivos em larga escala realizados no LAPOA (Silva, 2006), fez com que, por muito tempo, se confundisse a zoea V (b) com a zoea VI. Apenas uma análise mais detalhada, envolvendo a dissecação da larva ao microscópio, pode diferenciar os dois estágios com segurança. Por este motivo, em alguns

experimentos que envolveram análise de grandes quantidades de larvas, optou-se por computar os dois estágios conjuntamente, para evitar erros de identificação e facilitar o processo.

Das 18 larvas que passaram pelo estágio de zoea VI, apenas duas lograram atingir a fase de megalopa. Todas as demais morreram. Porém a análise microscópica destas larvas mortas revelou outro resultado importante. Treze das 16 zoeas VI pareciam ter morrido durante a muda, porém antes de terem conseguido livrar-se do antigo exoesqueleto. Estas larvas já possuíam pereiópodes e quelípodos semelhantes a megalopa, mas ainda apresentavam segmentos abdominais e carapaça do estágio de zoea VI.

Desta forma, o presente experimento confirma que os eventos de mortalidade ocorridos durante os cultivos em larga escala, principalmente com relação a zoea VI, estiveram relacionados com distúrbios no processo de muda. Assim, o presente estudo constitui o primeiro registro oficial da ocorrência de MDS em larvas de *U. cordatus*.

Os resultados do presente estudo arremetem para a convergência desta condição em diversas larviculturas de camarões e caranguejos marinhos. O termo MDS foi sugerido por Bowser & Rosemark (1981), enquanto o termo EED foi sugerido por Brock (1983). Para efeitos de padronização, no caso do *U. cordatus* será utilizado o termo MDS.

A importância destas informações, para o desenvolvimento de uma tecnologia de larvicultura de *U. cordatus*, está em identificar previamente os indícios de ocorrência de MDS em tanques de cultivo, para que, em uma segunda etapa possa se tentar reduzir as altas taxas de mortalidade que tendem ocorrer na fase final dos cultivos, quando são registradas larvas com características de MDS em meio à tanatocenose<sup>4</sup> no fundo dos tanques.

## CONCLUSÕES

A utilização de dietas alimentares inadequadas na larvicultura de *U. cordatus* pode induzir uma via alternativa de desenvolvimento larval mais longa, que inclui um estágio a mais, zoea VI, e menos eficiente, uma vez que as taxas de sucesso de muda das zoea VI para a fase de megalopa são bastante reduzidas.

As larvas no estágio de zoea VI têm maior propensão a sofrer distúrbios no processo de ecdise e, com isso, morrerem sem atingir a fase de megalopa. Como conseqüência, o aparecimento de grandes quantidades de zoea VI nos tanques de cultivo está relacionado com altos índices de mortalidade de larvas.

---

<sup>4</sup> Comunidade morta

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGER, K. The biology of decapod crustacean larvae. Helgoland. Biologische Anstalt Helgoland Stiftung Alfred-Wegener-Institut für Polarund Meeresforschung, Germany. 2001.
- BOWSER, P. R. & ROSEMARK, R. Mortalities of cultured lobsters, *Homarus sp.*, associated with a molt death syndrome. *Aquaculture*, v. 23(1-4), pp. 11-18. 1981.
- BROCK, J. A. Diseases (infectious and non infectious), metazoan parasite, predators and public health considerations in *Macrobrachium* culture and fisheries. Pp329-370. *In:McVey, J. P. CRC Handbook of Mericulture. V. 1. Crustacean Aquaculture. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 1983.*
- BROCK, J. A. Exúvia entrapment disease of *M. rosenbergii* larvae. Pp.142-144. *In: Sinderman, C. J. & D. V. Lightner Eds. Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, V. 17. Elsevier, Amsterdam. 1988.*
- COSTLOW, J. D. & C. G. BOOKHOUT. The larval development of *Callinectes sapidus* (Rathbun) reared in laboratory. *Biol. Bull.*, 116 (3) : 373-396. 1959.
- COSTLOW, J. D. Variability in larval stages of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Biological Bulletin*, v. 128, pp. 58–66. 1965.
- COUTTEAU, P., GEURDEN, I., CAMARA, M. R., BERGOT, P., & SORGELOOS, P. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larvicultura. *Aquaculture*, v. 155, pp. 149-164. 1997.
- D'ABRAMO, L. R. , BORDNER, C. E., CONKLIN, D. E., BAUM, N. A. Essentiality of dietary phosphatidylcholine for the survival of juvenile lobsters. *The Journal of Nutrition*, v. 111(3), pp. 425-431. 1981.
- DIELE, K. Life history and population structure of the exploited mangrove crab *U. cordatus* (L.) (Decapoda: Brachyura) in the Caeté estuary, North Brazil. Doctor's thesis. Zentrum für Marine Tropenökologie, Universität Bremen, Bremen, Germany. 103 pp. 2000.
- FRANSOZO, A. Desenvolvimento pós-embrionário de *Paguristes erytrops* (Holthuis, 1959) (Decapoda Diogenidae) e *Mitrax hispidus* (Herbst, 1790) (Decapoda Majiidae). 89 pp. Unesp – Campus de Rio Claro. Inst. Bioc. Dissertação de Mestrado. 1980.
- HARPAZ, S. & SCHMALBACH, E. A. Improved growth and health of the Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, by addition of fresh leaves to the artificial diet. *Aquaculture*, v. 55, pp. 81–85. 1986.
- MAKAROV, R. R. & MASLENNIKOV, V. V. Ecology of larval development of the crustacean *Euphausia superba*. Change in dominant larval forms as a function of environmental conditions. *Marine Ecology Progress Series*, v. 4, pp. 265–271. 1981.

- MANN, D. L., ASAKAWA, T., PIZZUTTO, M., KEENAN, C. P. & BROCK, I. J. Investigation of an Artemia-based Diet for Larvae of the Mud Crab *Scylla serrata*. *Asian Fisheries Science*, v. 14, pp. 175-184. 2001.
- McCONAUGHA, J. R. Export and reinvasion of larvae as regulators of estuarine decapod populations. *American fisheries society symposium*, v. 3, pp. 90-103. 1988.
- MONTÚ, M., ANGER, K. & DeBAKKER, C. Variability in the larval development of *Metasesarma rubripes* (Decapoda, Grapsidea) reared in the laboratory. *Nerítica*, v. 5, pp. 113–128. 1990.
- PAUL, A. J., PAUL, J. M. & COYLE, K. O. Energy sources for first-feeding zoeae of king crab *Paralithodes camtschatica* (Tilesius) (Decapoda, Lithodidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 130, pp. 55-69. 1989.
- PESTANA, D. & OSTRENSKY, A. Occurrence of an alternative pathway in the larval development of the crab *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) under laboratory conditions. *Hydrobiologia*, v. 306, pp. 33–40. 1995.
- RODRIGUES, M. D.; HEBLING, N. J. *U. cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda). Complete larval development under laboratory conditions and its systematic position, *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 6, n. 1, p.147-166. 1989.
- RUSCOE, I. M., WILLIAMS, G. R. & SHELLEY, C. C. Limiting the use of rotifers to the first zoeal stage in mud crab (*Scylla serrata*, Forskål) larval rearing. *Aquaculture*, v. 231, pp. 517-527. 2004.
- SANDIFER, P. A. & SMITH, T. I. J. Possible significance of variation in the larval development of the palaemonid shrimps. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 39, pp. 55–64. 1979.
- SULKIN, S. D. & NORMAN, K. A comparison of two diets in the laboratory culture of the zoeal stages of the brachyuran crabs *Rhithropanopeus harrisi* and *Neopanope* sp. *Marine research*, v. 28, pp. 183-190. 1976.
- SULKIN, S., LEHTO, J., STROM, S. & HUTCHINSON, D. The nutritional role of protists in the first stage larvae of the Dungeness crab, *Cancer magister*. *Marine Ecology Progress Series*, v. 169, pp. 237-242. 1998.
- TLUSTY, M. F., FIORE, D. R., GOLDSTEIN, J. S. Use of formulated diets as replacements for Artemia in the rearing of juvenile American lobsters (*Homarus americanus*). *Aquaculture*, v. 250(3-4), pp. 781-795. 2005.
- ZENG, C., LI, S. & ZENG, H. Occurrence of additional zoea-VI larvae in the mud crab, *Scylla paramamosain* (Estampador), reared in the laboratory. *Hydrobiologia*, v. 529, pp. 49-58. 2004.

## Capítulo V – Estudo sobre a dispersão larval de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) em estuários do litoral paranaense

### RESUMO

Um estudo sobre a dispersão larval de *Ucides cordatus* (L. 1763) foi realizado, com o objetivo de: 1) estimar a quantidade de larvas no estágio de zoea I que se afastam dos habitats paternos, bem como a quantidade de megalopas que retornam a estes mesmos locais; e 2) identificar o estágio das larvas retidas no interior do estuário, em regiões de alta influência nerítica. Para estudar o primeiro aspecto, foram realizadas coletas em um ponto do rio dos Pinheiros, na baía de Guaratuba, durante a semana de lua cheia do mês de janeiro e do mês de fevereiro de 2005. A cada hora, mil litros de água foram coletados e filtrados em uma rede de plâncton com 100 µm de abertura de malha. Foram registrados dados referentes à altura da maré, salinidade, temperatura, entre outras variáveis. O material coletado foi fixado e posteriormente separado segundo os grandes grupos. As zoeas de caranguejo foram identificadas através de chaves específicas. Foram capturadas 112.428 zoeas por m<sup>3</sup> e 389 megalopas por m<sup>3</sup>. A taxa média de retorno foi estimada em cerca de 0,35 %. A maior parte das zoeas foi exportada no início da maré vazante, enquanto a maior parte das megalopas retornou no início da maré enchente. Para o segundo aspecto, foram realizados arrastos de superfície, com rede de plâncton com 100 µm de abertura de malha, em uma área no interior da baía de Paranaguá, que apresenta padrões de circulação de água que favorecem a retenção de material particulado em suspensão. Os arrastos realizados revelaram que 4 % do zooplâncton eram compostos por zoeas de Brachyura e dessas apenas 9 % foram identificados como zoeas de *U. cordatus*. Entre os estágios larvais de *U. cordatus* observados, 46% se encontravam no estágio de zoea I, 40% no estágio de zoea II, 5,6 % no de zoea III, 4,2 % no de zoea IV, 2,8 % no de zoea V e 0,9% no de zoea VI. Os resultados demonstram que, dependendo das condições hidrodinâmicas do local, é possível coletar larvas de *U. cordatus* em diferentes estágios retidas próximas aos habitats parentais.

Palavras chave: Retenção larval, repovoamento, ciclo de marés, zoea, megalopa.

## ABSTRACT

A series of studies on the *Ucides cordatus* larval dispersion strategy were carried out in the field aiming at the following two aspects: 1) To infer at the relation between the amount of zoea I that will move away from paternal habitats and the amount of recruits which will return to these same places and 2) to identify the stages of retained larvae in the inner areas of the estuary. To study the first aspect, a collecting station was installed at the edges of Pinheiro River, in the bay of Guaratuba, Brazil. Every hour 1,000 liters of water was filtered through a 100 µm plankton net, during the 7 days, around the new moon of January and February, 2005. All the data concerning tide amplitudes, salinity, and temperature, among other variables were annotated. The collected material was separated in zooplankton groups. The zoeas of all species of crab were identified through specific keys. As a total, 112,428 zoeas and 389 megalopas for m<sup>3</sup> had been captured in the collecting point. The results of the experiment demonstrated that most of the zoeas were present at the site in the beginning of the receding tide while and most of megalopas was collected in the beginning flood tide. As for the other aspect, surface trawling were performed with a zooplankton net with similar characteristics as the former mentioned experiment, in certain points inside an inner area of Bay of Paranaguá, Brazil. This particular place shows patterns of water circulation that allows an increased retention times. The result of the trawlings had disclosed that 4 % of zooplankton was composed of zoeas of Brachyuran crabs and only 9 % of these had been positively identified as zoeas of *U. cordatus*. Among the larval stages of *U. cordatus* collected, 46% of them were identified as zoea I, 40%, as zoea II, 5.6 % as zoea III, 4.2 % as zoea IV, 2.8 % as zoea V and 0.9% as zoea VI. Depending on the hydrodynamic conditions of the habitat, it is possible to collect all the larval stages of *U. cordatus* in close proximity with their parental habitats.

Key words: Larval retention, stock enhancement, tide cycles, megalopa, zoea.

## INTRODUÇÃO

Entre Invertebrados marinhos, a cada ciclo reprodutivo, grandes quantidades de larvas são liberadas na água e usualmente se dispersam para longe dos habitats paternos. Quantidades bem menores, no entanto, conseguem retornar após completar seu desenvolvimento larval (Wehrtmann & Dittel, 1990; Little & Epifanio, 1991; O'Connor, 1993; Boylan & Wenner, 1993; Christy & Morgan, 1998). A relação entre a liberação de larvas e o recrutamento de formas pré-juvenis é vital para a manutenção dos números populacionais de várias espécies estuarinas. (Morgan, 1990; Anger *et al.*, 1994; Morgan & Christy, 1994)

O caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), apresenta ciclos ontogênicos complexos, nos quais as zoeas se desenvolvem em regiões diferentes daquela onde se encontram as populações parentais. Após a sua eclosão, as larvas iniciam intensa migração, a partir das regiões estuarinas onde nascem, até áreas de influência oceânica, onde geralmente se desenvolvem. Quando completam seu desenvolvimento, iniciam uma migração no sentido contrário adentrando as baías, já na forma de recrutas (Pinheiro & Fransozo, 2002). Este périplo larval entre os ambientes estuarinos e oceânicos é considerado como um dos momentos cruciais no ciclo de vida dessas espécies (McConaughy, 1988).

Santarosa-Freire (1998) lançou a hipótese que essas áreas teriam condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento larval do *U. cordatus*. As coletas realizadas pela autora, no entanto, não possibilitaram a captura de estágios mais avançados que zoea I, o que a levou a rejeitar sua hipótese inicial e aceitar que as larvas são exportadas do estuário.

Diele (2006) sustenta que a reduzida taxa de sobrevivência das larvas em baixas salinidades seria um forte indício da necessidade para exportação. A autora sustenta que as condições encontradas no interior dos estuários seriam inadequadas ao desenvolvimento da larva de *U. cordatus*.

Porém, à luz das recentes informações acerca do tempo necessário para mudança de estágio, que se contrapõem ao tempo descrito para a espécie na literatura, é possível sugerir que os esforços até aqui dispendidos podem ter sido prejudicados pela falta de uma melhor sincronização com os eventos de eclosão e de ontogenia larval.

Para a maioria dos projetos de repovoamento de organismos aquáticos, o maior risco de insucesso vem da possibilidade de que as quantidades produzidas e liberadas sejam insuficientes para vencer a capacidade natural de “tamponamento” do ambiente, não causando qualquer impacto que possa ser mensurável.

Por este motivo, é fundamental que as relações entre as quantidades de zoeas I, produzidas naturalmente em uma determinada região durante as eclosões sincronizadas, e

a quantidade de megalopas recrutadas que conseguem retornar aos manguezais, assim como a capacidade natural de repovoamento das regiões alvo seja mais bem compreendida.

O objetivo deste trabalho é avaliar a relação entre os movimentos da maré e os eventos de eclosão, dispersão, desenvolvimento larval em condições naturais e recrutamento de larvas de *U. cordatus* nos estuários paranaenses.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coletas na Baía de Guaratuba**

As coletas foram realizadas do dia 07 ao dia 12 de janeiro e repetidas um mês depois, do dia 08 ao dia 12 de fevereiro de 2005, durante a fase de lua cheia. Foi instalado um ponto de coleta no rio dos Pinheiros, distante cerca de dois quilômetros da baía de Guaratuba (Figura 32). No ponto de coleta, o rio tem aproximadamente 100 metros de largura e profundidade variando entre 1 e 3 metros. Nesse ponto, foi instalada uma moto-bomba elétrica Schneider, de ½ HP, conectada a um mangote de 50 mm de secção. A ponta do mangote foi atada a uma viga de madeira de secção retangular, de 3 X 2 polegadas, instalada a 10 metros da margem. Uma bóia mantinha a abertura do mangote a uma profundidade constante de um metro. A bomba era calibrada diariamente, no momento da preamar, predeterminando-se o tempo necessário para encher uma caixa d'água com exatamente 1.000 litros.

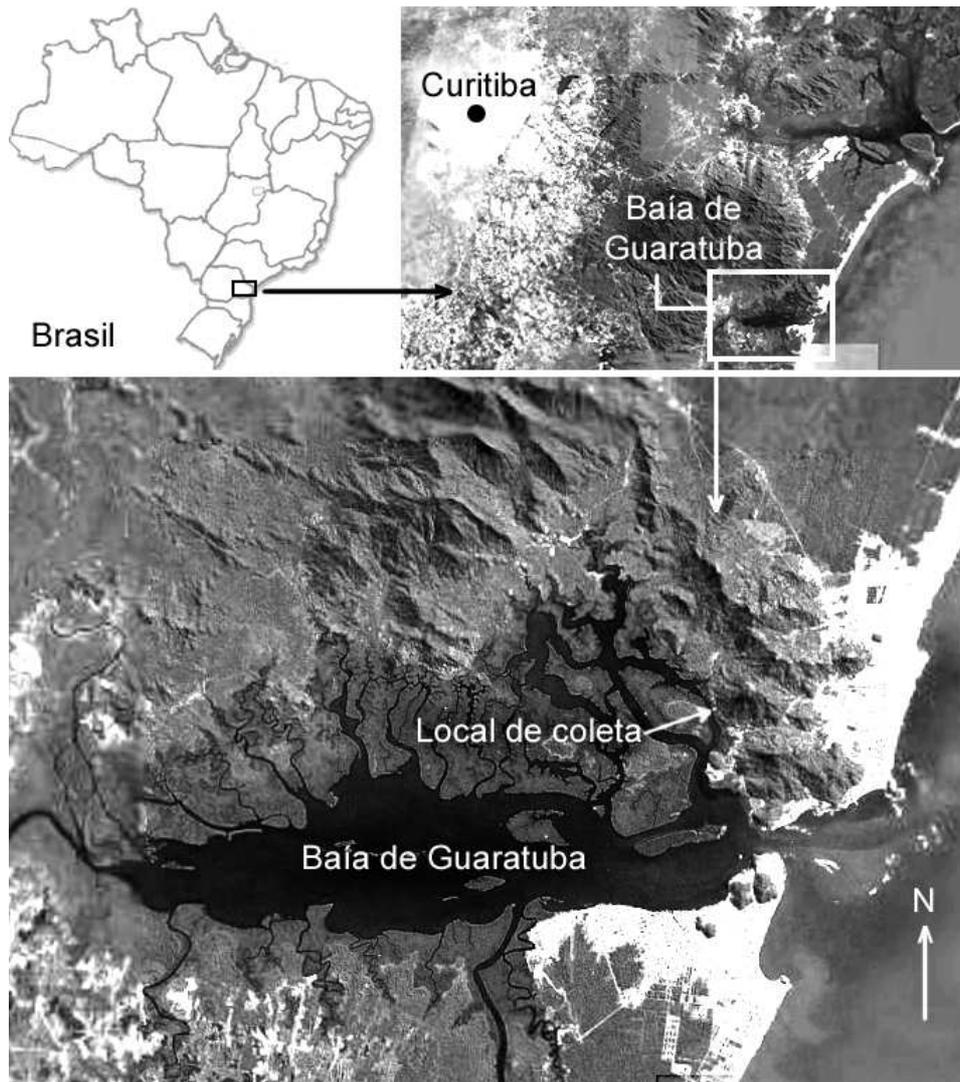


Figura 32. Baía de Guaratuba e localização do ponto de coleta.

A água captada pela bomba foi filtrada em uma rede de plâncton cônica de 100  $\mu\text{m}$  de abertura de malha e o material coletado foi fixado em formol tamponado a 4% e acondicionado em frascos plásticos identificados.

As coletas eram realizadas a cada hora, 24 horas por dia. Em cada coleta foram medidas as variáveis abióticas pontuais como a salinidade e a temperatura da água.

Em laboratório, após homogeneização da amostra, realizaram-se subamostragens de 1 ml, com pipeta de Pasteur, utilizando câmara de Sedgwick-Rafter, sob microscópio óptico binocular Leica.

O material biológico foi quantificado e identificado até o nível específico no caso *U. cordatus*, de acordo com Rodrigues & Hebling (1989), até o nível de gênero para *Uca* e de família para os demais Brachyura, através de chaves para identificação de larvas de Brachyura (Pohle *et al.*, 1999). O zooplâncton foi identificado e quantificado ao nível de grandes grupos com base em Boltovskoy (1981) e Todd & Laverack (1999).

### Coletas no interior da Baía de Paranaguá

As coletas foram realizadas no dia 22 de janeiro de 2005, na Baía de Paranaguá, em frente à Ilha do Mel (Figura 33). Os pontos foram amostrados seqüencialmente, a partir do número 1, próximo à ponta oeste da ilha, até o número 10, em direção a uma localidade conhecida como Comunidade das Peças.

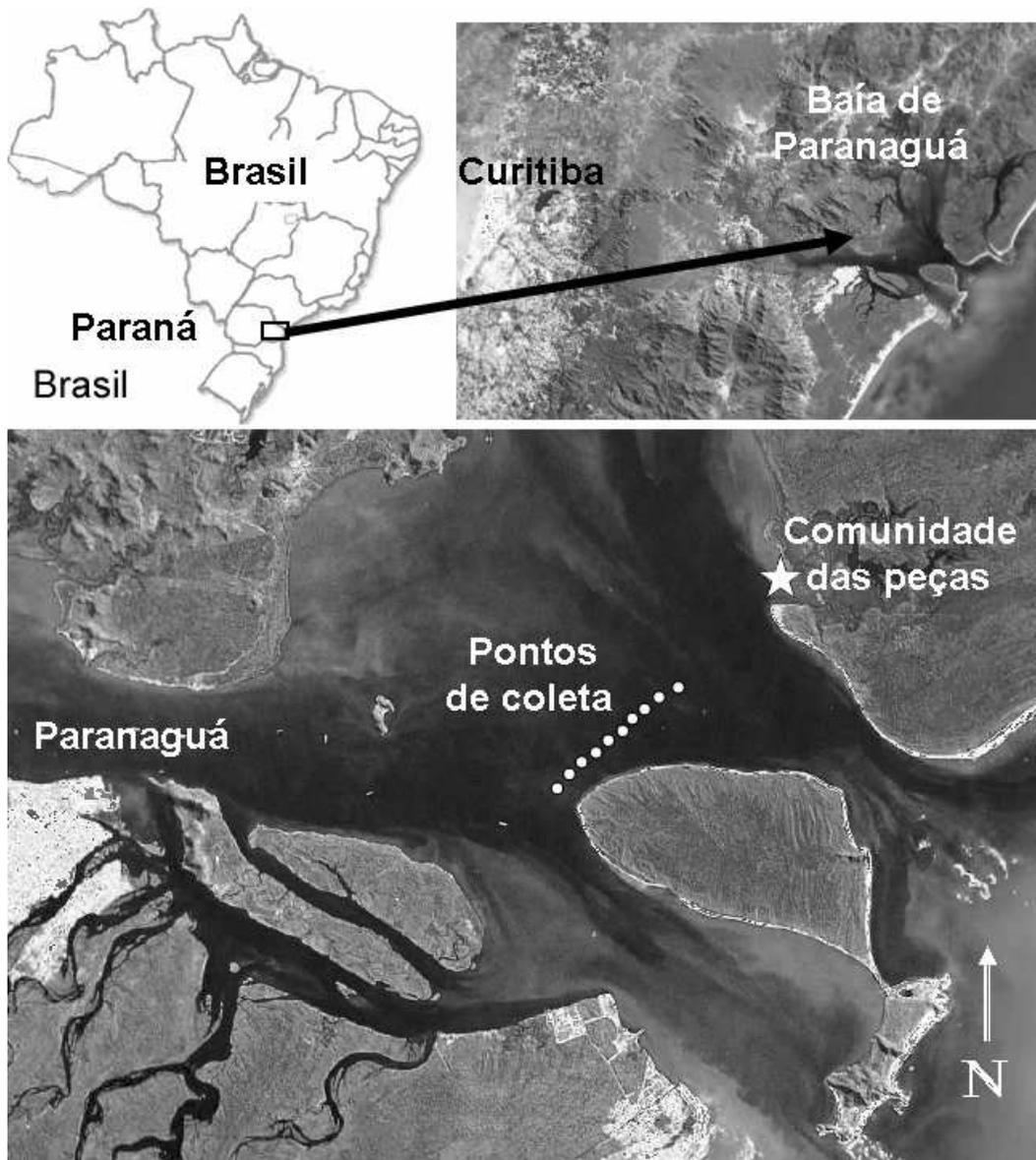


Figura 33. Baía de Paranaguá. Localização dos pontos de coletas.

Foram realizados 10 arrastos de superfície de um minuto cada, iniciando nas coordenadas descritas na Tabela 5.

Tabela 5. Baía de Paranaguá. Coordenadas dos pontos amostrados.

Ponto	Latitude (S)	Longitude (O)
1	25° 30' 02"	48° 23' 40"
2	25° 29' 46"	48° 23' 21"
3	25° 29' 45"	48° 23' 01"
4	25° 29' 30"	48° 23' 01"
5	25° 29' 11"	48° 22' 41"
6	25° 29' 02"	48° 22' 21"
7	25° 28' 53"	48° 22' 06"
8	25° 28' 41"	48° 21' 58"
9	25° 28' 32"	48° 21' 46"
10	25° 28' 32"	48° 21' 46"

As coletas tiveram início às 09:30 na baixa-mar e término às 11:45, durante a maré enchente (Figura 34).

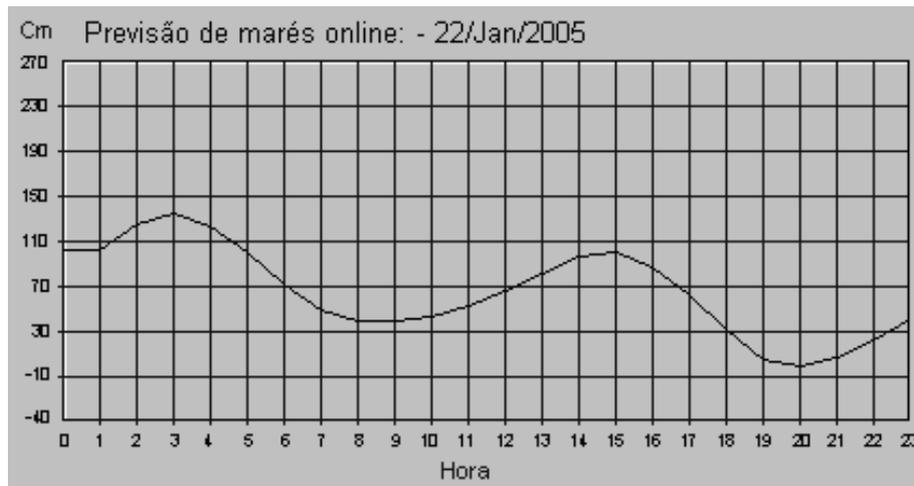


Figura 34. Curva de maré astronômica prevista para o dia 22 de janeiro de 2005. Fonte: <http://www.cem.ufpr.br/mares.htm>

Foi utilizada uma embarcação de madeira com motor monocilíndrico B-18 a diesel, mantida, durante os arrastos, a uma velocidade média de 2 nós. Os arrastos para coleta de plâncton foram feitos com uma rede de 2 m de comprimento, 50 cm de diâmetro de boca e 100 µm de abertura de malha e filtraram cerca de 12.130 litros de água.

Em cada ponto, dados referentes a variáveis da água de superfície, no momento da coleta, foram anotados. Temperatura e teor de oxigênio dissolvido foram mensurados com auxílio de um oxigenômetro (modelo YSI 550A), e salinidade através de um refratômetro (modelo SR1). Com o uso de uma draga de Van Veen, a profundidade e a característica do sedimento do fundo, com relação ao teor de argila e areia, foram estimadas.

A análise do material coletado na baía de Paranaguá seguiu o mesmo procedimento descrito para as coletas realizadas no rio dos Pinheiros, na baía de Guaratuba.

## RESULTADOS

### Coletas na Baía de Guaratuba

Foram capturadas, no total, 112.428 zoeas e 389 megalopas de *U. cordatus* (Tabela 6). A quantidade de larvas capturada na primeira campanha amostral foi maior do que na segunda. A quantidade de zoeas capturadas foi 72,5% menor e o de megalopas foi 79,2% menor no segundo esforço de captura.

Tabela 6. Quantidade de larvas de *U. cordatus* capturadas nas coletas realizadas na baía de Guaratuba.

Larvas capturadas	1ª Amostragem (07 a 12/01/2005)	2ª Amostragem (8 a 12/02/2005)	Total
zoeas	88.253	24.175	112.428
megalopas	332	56	389

As maiores quantidades de zoeas capturadas por amostra na primeira campanha ocorreram no dia 09/01 às 5:00 (34.760 zoeas) e às 12:00h (41.200 zoeas). A coleta das 5:00h ocorreu logo após a preamar e a das 12:00h na baixa-mar (Figura 35-A).

Na segunda campanha, a maior quantidade de zoeas capturadas por amostra (10.920 zoeas) ocorreu no dia 9/02 às 5:00h, no momento da preamar. No dia 8/02 ocorreram dois picos menores de captura de zoeas, às 4:00 e às 6:00h (4.760 e 4.450 zoeas, respectivamente), o primeiro no momento da preamar e o segundo durante a maré vazante (Figura 35-B).

A maior quantidade de megalopas capturas na primeira campanha, em uma dada amostra (135 megalopas) ocorreu no momento da baixa-mar do dia 10/01. Ocorreram também três picos menores e iguais entre si (50 megalopas), um no dia 8/02 às 3:00h, no momento da preamar, outro no dia 11/02 às 4:00h e no dia 12/02 às 4:00h, ambos no momento da maré enchente (Figura 35-C). Na segunda campanha, o pico de captura de megalopas (20 megalopas) ocorreu no dia 9/02 às 3:00h no momento da maré enchente (Figura 35-D).

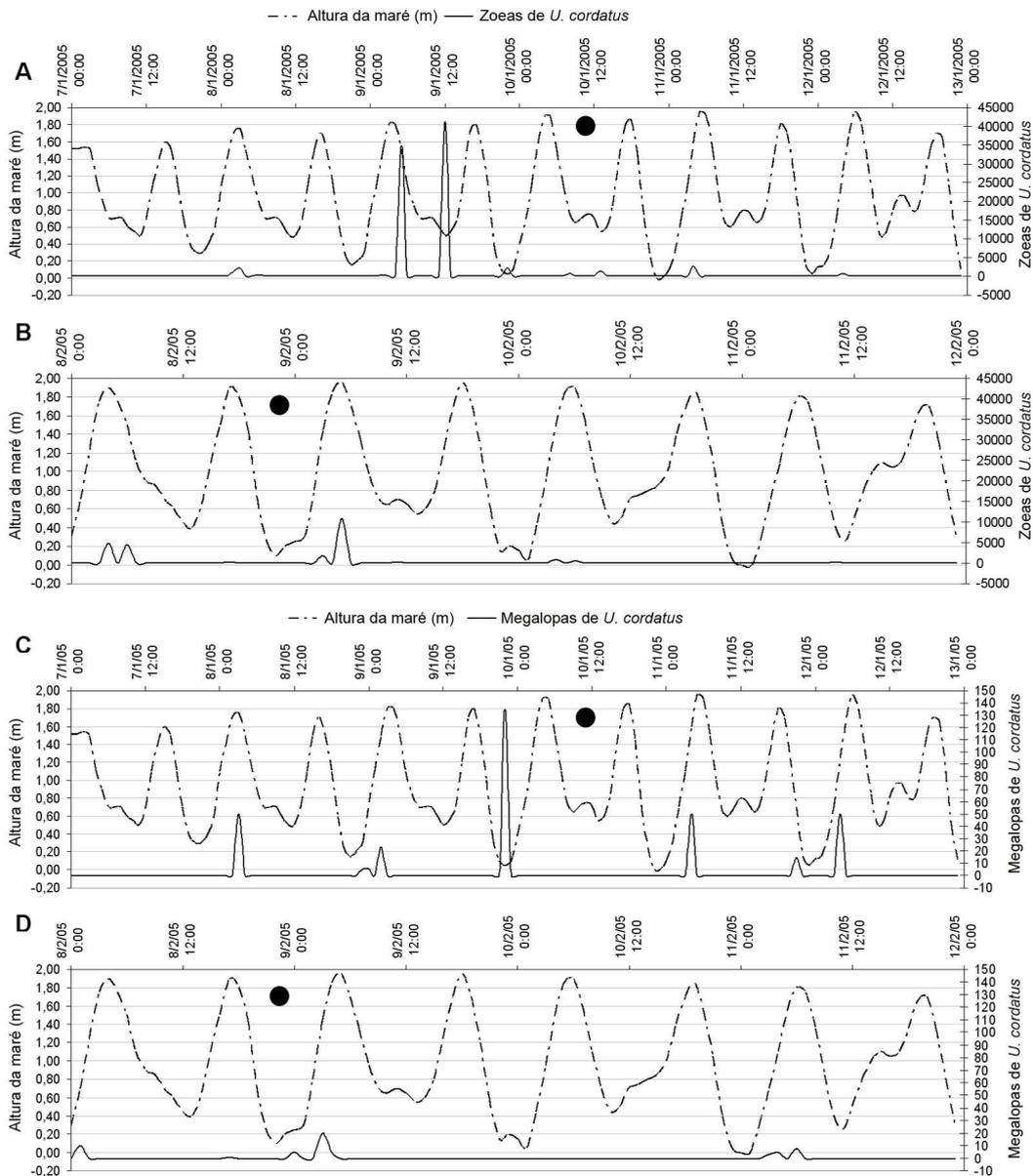


Figura 35. Oscilação da quantidade de zoeas (A e B) e megalopas (C e D) de *U. cordatus* capturadas em relação à altura da maré. Os círculos escuros representam o momento do plenilúnio (lua nova).

No entanto, a simples descrição dos dados obtidos, neste caso, não permite que se vislumbre claramente uma tendência ou padrão, já que é possível observar picos de larvas em quase todos os momentos do ciclo de marés. Porém, agrupando os dados referentes às quantidades de zoeas amostradas em cada momento do ciclo de marés, foi possível constatar a existência de um padrão bem definido (Figura 36), que se repetiu tanto na primeira coleta de janeiro de 2005, quanto na coleta seguinte, de fevereiro do mesmo ano.

Observa-se que a maior parte das zoeas foram coletadas após a maré cheia, atingindo o seu pico máximo no início da vazante.

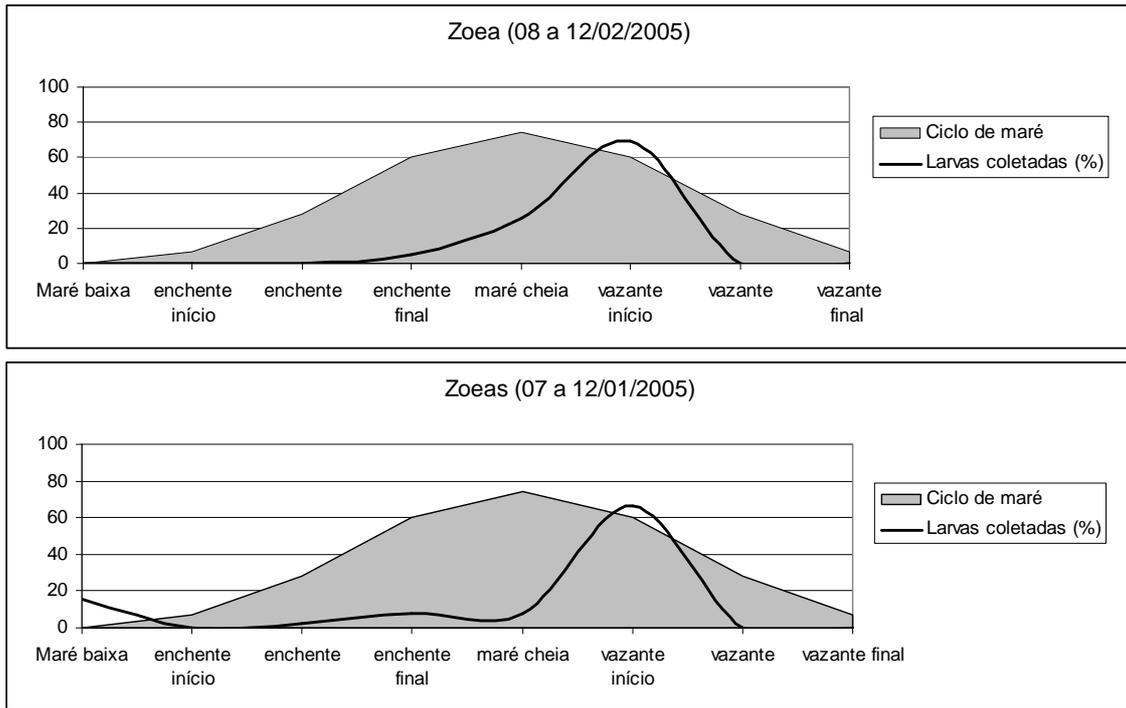


Figura 36. Oscilação do número de zoeas de *U. cordatus* capturadas durante as coletas em cada momento do ciclo de marés.

Embora o número de megalopas capturadas seja bem menor do que o das zoeas, observa-se que seus números aumentam a partir do início das marés enchentes, atingindo seu máximo antes da preamar, com clara tendência ao declínio após este ponto (Figura 37).

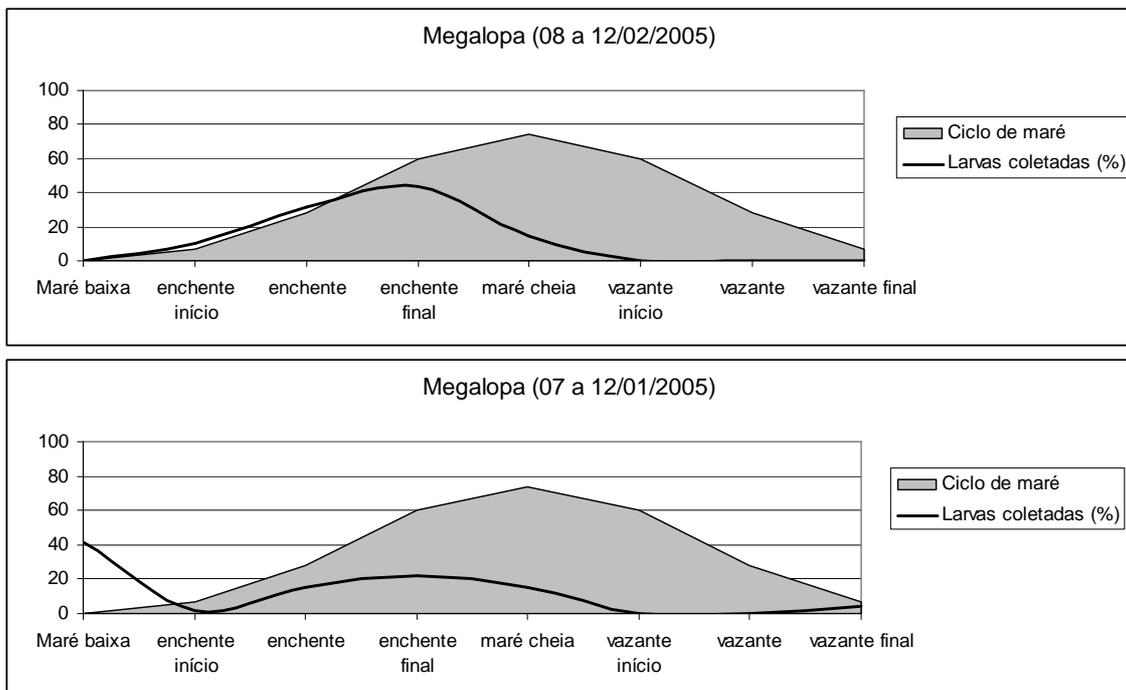


Figura 37. Oscilação do número de megalopas de *U. cordatus* capturadas durante as coletas em cada momento do ciclo de marés.

Nas coletas de janeiro de 2005, tanto para zoea quanto para megalopa foram registrados números muito elevados de larvas no momento da maré baixa. No mês seguinte, as coletas não registraram quantidades significativas de larvas neste mesmo momento no ciclo de maré. Esta elevação da curva sobre a maré-baixa, observada nos gráficos da primeira coleta para zoea e megalopa foi causada por uma única amostra, cujos dados fugiram completamente do padrão observado na segunda coleta ou mesmo do que poderia ser esperado, baseado na literatura. Como o processamento das amostras envolve diversas subamostragens, muito provavelmente represente apenas um simples artefato de coleta ou erro no processamento.

### Coletas no interior da Baía de Paranaguá

O primeiro ponto amostral no interior da baía de Paranaguá era próximo ao canal da galheta e o último próximo ao canal sueste. A profundidade estimada diminuiu do ponto 1 em direção ao meio do transecto e depois voltou a aumentar (Tabela 7).

Tabela 7. Baía de Paranaguá. Características abióticas dos pontos amostrados.

Ponto	Profundidade aproximada	Sedimento do fundo	Temperatura (superfície)	Oxigênio dissolvido (superfície)	Salinidade (superfície)
1	14 m	Lodoso	25,9	4,46	19
2	10 m	Lodoso	26,0	4,78	21
3	7 m	Lodoso/arenoso	26,3	5,03	20
4	5 m	arenoso	26,0	4,65	21
5	7 m	arenoso	26,2	4,38	20
6	9 m	arenoso	26,0	4,35	20
7	6 m	arenoso	25,9	4,09	22
8	11 m	arenoso	26,0	4,49	22
9	14 m	Lodoso/arenoso	25,8	4,65	23
10	13 m	Lodoso/arenoso	26,0	4,96	22

Em todos os pontos amostrais, o número de copépodos foi muito grande, totalizando 95% dos componentes do plâncton. Por este motivo, nas comparações feitas entre as quantidades de indivíduos coletados no zooplâncton, os copépodos foram deliberadamente excluídos.

Dentre as larvas de decapoda, o grande grupo Brachyura, que inclui zoeas, megalopas, bem como juvenis, esteve presente em 4% do montante. Todos os outros grupos juntos representaram cerca de 1% do total de organismos planctônicos capturados (Figura 38).

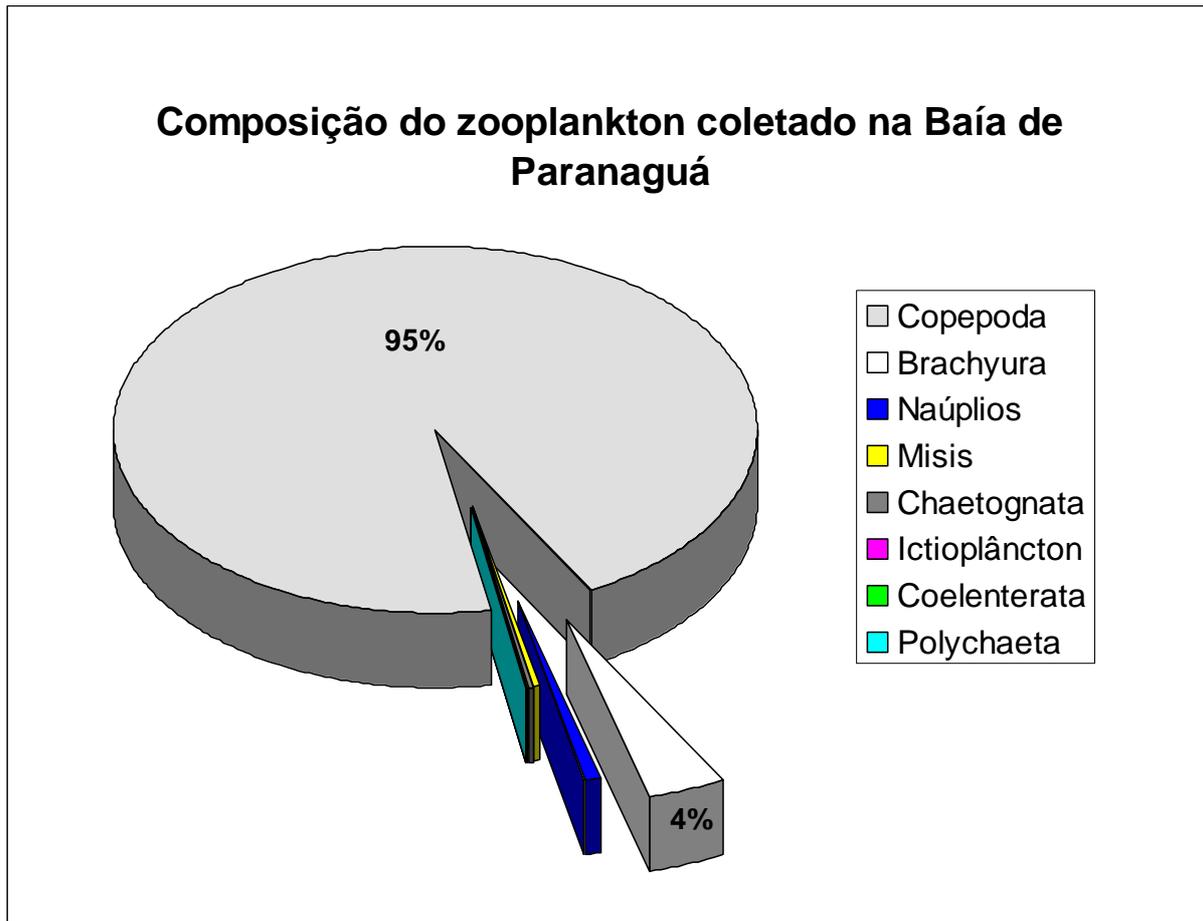


Figura 38. Contribuição das larvas de Brachyura na composição do zooplâncton marinho na área amostrada.

A maior quantidade de larvas e juvenis da infraordem Brachyura foi coletada no ponto 8 (Figura 39).

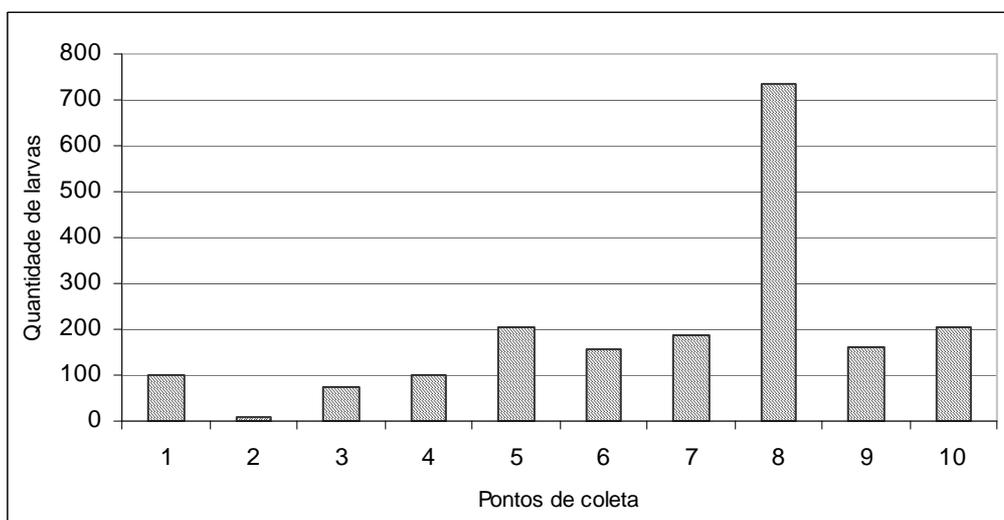


Figura 39. Variação da prevalência de larvas de Brachyura, capturadas em cada um dos pontos de coleta.

Dentre os integrantes dos Brachyura, as larvas zoea perfizeram 97% do total. As famílias de Brachyura cujas zoeas apresentavam carapaças globosas e morfologia externa geral suficientemente semelhantes para serem confundidas seriam Majidae, Pinnotheridae, Belidae, Grapsidae, Parthenopidae, Cryptochiridae, Gecarcinidae Xanthidae, Atelecyclidae Calappidae e Portunidae. As demais famílias dificilmente seriam confundidas com zoeas de *U. cordatus* por um pesquisador com alguma experiência.

A primeira característica utilizada com diferencial para identificação é a “presença ou ausência de espinho lateral na carapaça”. Por ser bastante freqüente em zoeas de Brachyura, mas ausentes em todos os estágios larvais de *U. cordatus* (Rodrigues & Hebling, 1989), a eliminação de larvas com esta característica reduz substancialmente o número de espécies que precisarão ser analisadas mais detalhadamente.

A tabela 9 apresenta as espécies de cada família que não possuem espinhos laterais e, portanto foram separadas para mais análises. As demais famílias apresentam apenas espécies com alguma forma identificável de espinho lateral na carapaça. Estas foram contabilizadas e retiradas da amostra.

Tabela 8. Chave utilizada no experimento para diferenciar zoeas de *U. cordatus* das zoeas de outras espécies (\*)

<b>Etapa</b>	<b>Descrição das características</b>	<b>Passo seguinte</b>
1a	Ausência de espinho lateral	2
1b	Presença de espinho lateral	Outra espécie
2a	zoeas com espinho dorsal menor que comprimento total da carapaça	3
2b	zoeas com espinho dorsal maior que o comprimento total da carapaça	Outra espécie
3a	Ausência de processos acutiformes nas margens laterais do telso	4
3b	Presença de processos acutiformes nas margens laterais do telso	Outra espécie
4a	Exopodito da antena pouco desenvolvido, medindo menos que a metade do comprimento do propodito.	5
4b	Exopodito da antena bem desenvolvido, medindo mais que a metade do comprimento do propodito.	Outra espécie
5a	Exopodito da antena com duas cerdas subdistais	<i>U. cordatus</i>
5a	Exopodito da antena com três cerdas subdistais	<i>Uca spp.</i>

(\*) Adaptado de Pohle *et al.* (1999)

A característica seguinte, “presença de espinho dorsal maior ou menor que o comprimento total da carapaça”, elimina as espécies das famílias Pinnotheridae, Xanthidae e Belliidae do rol de espécies que terão que ser mais cuidadosamente analisadas. Enquanto que as zoeas de *Zaops ostreum* não apresentam esta característica, as espécies das demais famílias apresentam zoeas com espinhos dorsais maiores que o comprimento total da carapaça. A terceira característica, ausência de processos acutiformes nas margens laterais do telso, elimina a família Majidae, que possui esta característica.

A separação das duas últimas famílias foi realizada com base no tamanho do exopodito da antena e, para tanto, houve necessidade de dissecação ao microscópio. De acordo com Pohle *et al.* (1999), a família Grapsidae se caracteriza por apresentar o exopodito da antena pouco desenvolvido, medindo menos que a metade do comprimento do propodito, enquanto em Ocypodidae, este detalhe anatômico é geralmente mais desenvolvido, atingindo mais da metade do comprimento do protopodito.

Por fim, as zoeas de *U. cordatus* foram separadas das zoeas de *Uca* spp. com base no número de setas presentes no exopodito da antena, isto é, duas setas são observadas nas primeiras e três, nas últimas.

Tabela 9. Zoeas de brachyura do atlântico sul que não possuem espinho lateral na carapaça (Pohle *et al.*, 1999).

Famílias	Majidae	Pinnotheridae	Xanthidae	Belliidae	Grapsidae	Ocypodidae
	<i>Epialtus brasiliensis</i>	<i>Zaops ostreum</i>	<i>Panopeus bermudensis</i>	<i>Coriustoides</i> spp.	<i>Aratus pisonii</i>	<i>Uca</i> spp.
	<i>Mithrax</i> spp.			<i>Acanthocyclus gayi</i>	<i>Cyclograpsus integer</i>	<i>Ucides cordatus</i>
	<i>Pitho lhrminieri</i>				<i>Geograpsus lividus</i>	
	<i>Libidoclaea granaria</i>				<i>Armases angustipes</i>	
Espécies	<i>Taliepus dentatus</i>				<i>Planes cyaneus</i>	
	<i>Anasimus latus</i>				<i>Grapsus grapsus</i>	
					<i>Metasesarma rubripes</i>	
					<i>Sesarma rectum</i>	
					<i>Pachygrapsus gracilis</i>	

Através do uso combinado desta chave e comparações com larvas de *U. cordatus* cultivadas em laboratório, foi possível observar que a maior parte das larvas de caranguejos braquiúros (87,97%) apresentava espinhos laterais e, portanto, pertenciam a outras espécies e famílias. Por outro lado, 74,45% das larvas desprovidas de espinhos laterais (8,96% do total das larvas de Brachyura) pertenciam à espécie *U. cordatus* (Figura 40).

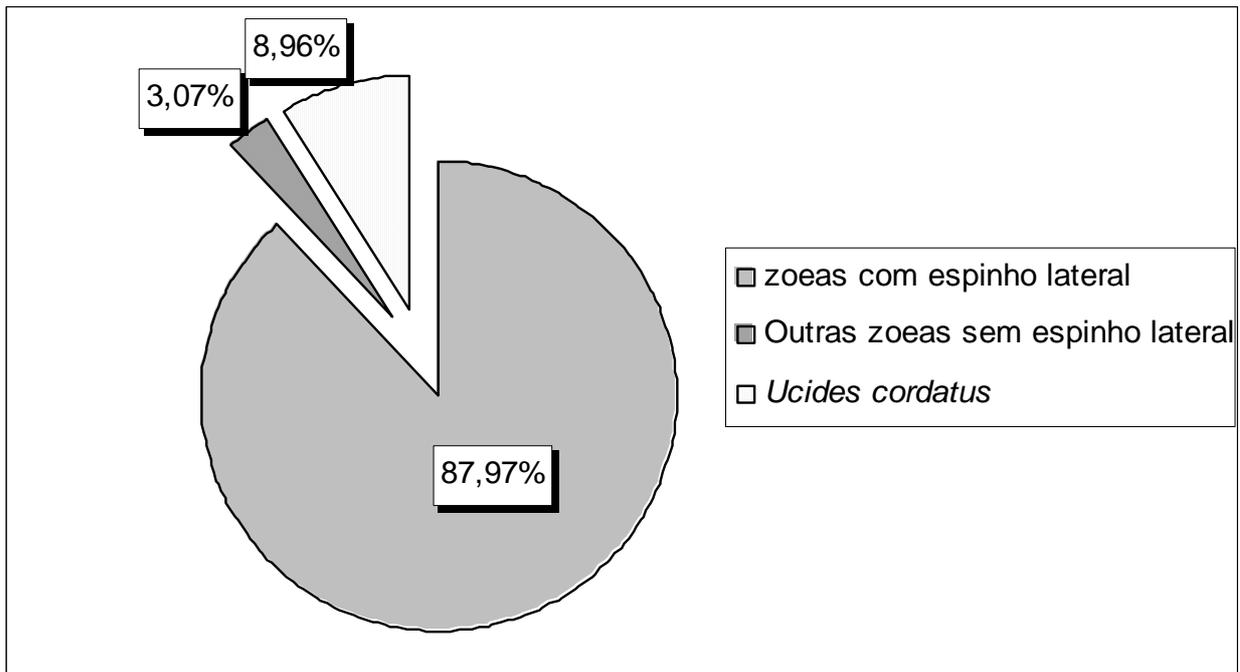


Figura 40. Contribuição das zoeas de *U. cordatus* no total de larvas de Brachyura das amostras coletadas na Baía de Paranaguá.

Após a identificação das larvas como pertencente à espécie *U. cordatus*, elas tiveram os estágios de desenvolvimento reconhecidos e quantificados (Figura 42). Para isso, foram observados caracteres como número de cerdas no maxilípede, presença e forma dos apêndices abdominais, conforme a chave descrita na Tabela 10, que constitui uma adaptação do método proposto por Rodrigues & Hebbling (1989).

Tabela 10. Chave utilizada no experimento para identificar estágios larvais de zoeas de *U. cordatus* (\*)

<b>Etapa</b>	<b>Descrição das características</b>	<b>Passo</b>
1a	Apêndices abdominais ausentes	2
1b	Apêndices abdominais presentes, mesmo que rudimentares	3
2a	Maxilípedes com exopodito apresentando quatro cerdas distais	zoea 1
2b	Maxilípedes com exopodito apresentando seis cerdas distais	zoea 2
2c	Maxilípedes com exopodito apresentando oito cerdas distais	zoea 3
3a	Abdômen com pleópodos nos quatro segmentos proximais	zoea 4
3b	Abdômen com pleópodos nos cinco segmentos	4
4a	Pleópodos pouco diferenciados, primeiro par de maxilípedes com exopodito apresentando 10 cerdas e segundo par, 11 cerdas.	zoea 5
4b	Pleópodos birremes com extremidade distal lanceolada. Primeiro par de maxilípedes com exopodito apresentando 11 cerdas e o segundo par, 12 cerdas.	zoea 6

(\*) Adaptada de Rodrigues & Hebbling (1989).

De maneira geral, do ponto 1 ao ponto 5, foram encontrados no máximo os três primeiros estágios, ou seja, zoea I, zoea II e zoea III. No ponto seis, além de zoea I e II,

foram coletadas duas larvas, uma zoea V e outra zoea VI. No ponto sete aparecem as zoeas IV, V e VI, representados por 3, 4 e 1 indivíduos, respectivamente. A zoea III novamente não apareceu. No ponto 8, os estágios de I a V estão presentes, sem zoea VI. No ponto 9, apenas os três primeiros estágios são encontrados enquanto que no ponto 10, a zoea IV se soma aos três primeiros estágios (Figura 41).

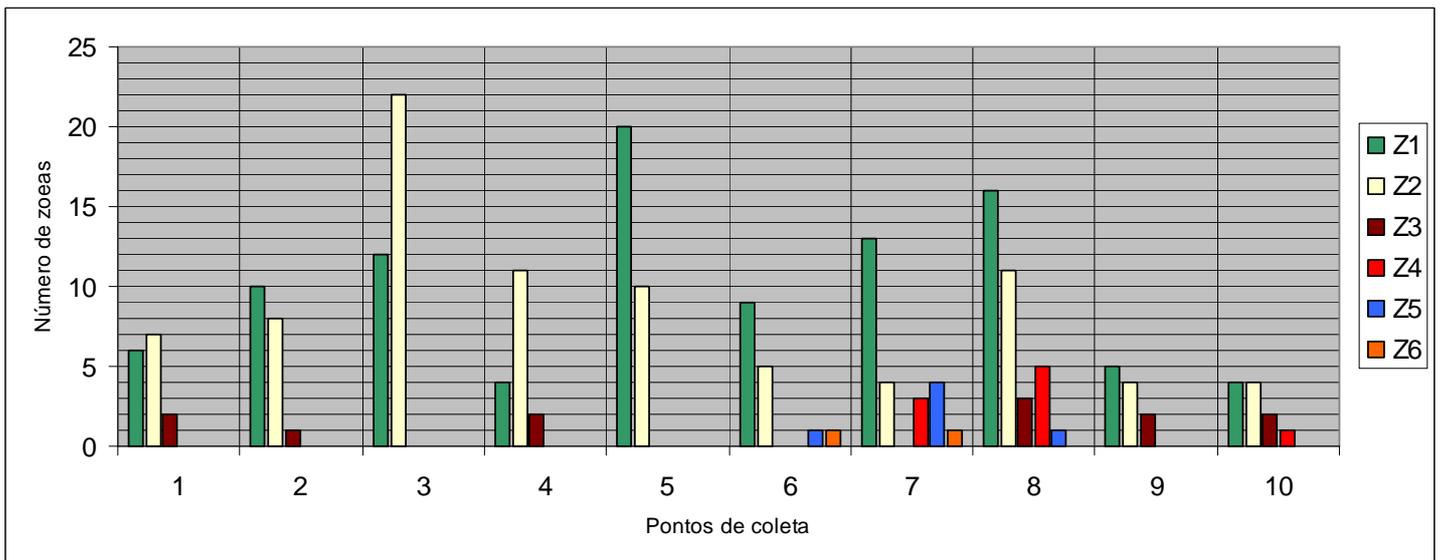


Figura 41. Número absoluto de indivíduos de cada estágio larval de *U. cordatus* encontrado nos pontos amostrais.

## DISCUSSÃO

A eclosão larval da maioria dos decápodes ocorre durante as marés altas de sizígias, de maneira sincronizada com o ciclo lunar, é amplamente relatada em bibliografia (Christy, 1978; Morgan, 1995; Christy, 2003). Alguns autores citam ainda que os maiores picos ocorrem durante a noite, quando as pressões de predação por peixes planctófagos são amenizadas (Morgan, 1990; Morgan, 1995; Morgan & Christy, 1995). Por outro lado, o retorno das megalopas para as imediações dos habitats parentais ocorre em pulsos, seguindo o fluxo das marés (Christy & Morgan, 1998).

Fernandes *et al.* (2002) estudaram a dinâmica de larvas de Decapoda em um ponto na entrada da Baía de Guanabara e observaram que o ciclo de dispersão e recrutamento de larvas de Ocypodidae é semelhante a outras famílias, tais como Grapsidae, Portunidae e Luciferidae, nos quais as larvas passam pela entrada da baía em direção à costa, durante o período noturno. Durante o período reprodutivo de *U. cordatus*, as eclosões também ocorrem mais freqüentemente associadas às marés vazantes de sizígia (Goes *et al.*, 2000), quando as forças das correntes marinhas maximizam a dispersão das larvas.

Diele (2000), em arrastos de superfície utilizando redes de plâncton, na gamboa de Furo Grande, no Estado do Pará, registrou a saída de uma quantidade média de 230 mil zoea I por metro cúbico, enquanto se deslocavam em direção à saída do estuário. Cerca de 28 dias mais tarde, por ocasião da lua cheia do mês seguinte, em um novo esforço de captura, a autora coletou o número médio de 128 megalopas por metro cúbico, retornando à partir de regiões mais externas.

No presente experimento, coletou-se praticamente a metade da quantidade zoea I reportada por Diele (op. cit.), ou seja, 112.428 mil larvas por metro cúbico enquanto que a quantidade de megalopas foi ligeiramente maior que o triplo, ou seja, 389 megalopas por metro cúbico.

Modelos conceituais elaborados para o portunídeo, *Callinectes sapidus*, na baía de Chesapeake, EUA (Sulkin *et al.*, 1980, Sulkin & Heukelem, 1982, Forward *et al.*, 1995, Forward *et al.*, 1997), e para o também portunídeo *Carcinus maenas* na costa portuguesa (Queiroga *et al.*, 1994, 1997 e 2002), estabelecem que larvas destas espécies migram, com as correntes vazantes de sizígia, para fora dos estuários, em direção às regiões costeiras, de alta influência oceânica.

Diele (com. pess.) realizou arrastos seqüenciais, após os eventos de eclosões massivas de *U. cordatus*, a partir do estuário de Caeté, Pará, de tal maneira que foi possível acompanhar as nuvens de larvas emitidas em direção à costa. Segundo a autora, foi possível capturar larvas no estágio de zoea IV distantes mais de 120 km do ponto de eclosão. Suas observações demonstraram que as larvas de *U. cordatus*, assim como a de outros caranguejos estuarinos, apresentam uma estratégia de dispersão larval onde as larvas são exportadas dos estuários, atingindo a região marinha costeira.

No entanto, é importante que se note que as características do estuário estudado por Diele são bastante diferentes daquelas encontradas em estuários paranaenses. A amplitude de maré do estuário de Caeté alcança alturas superiores a 5 metros, enquanto seu litoral entrecortado faz parte de um extenso cinturão de manguezais de cerca de 6.800Km (Kjerve & Lacerda, 1993). Já nos manguezais paranaenses, as amplitudes de maré são relativamente pequenas. Em muitos casos, mesmo durante as sizígias, as marés não atingem mais do que 1,5 metro de altura e logo iniciam o movimento vazante. Somente após o nível das marés atingir mais de 70 cm, a água finalmente alcança o talude dos manguezais onde a maior parte das tocas são encontradas, permitindo a emissão das larvas por parte das fêmeas ovígeras (Lana *et al.* 2001).

Santarosa-Freire (1998) foi a primeira autora a propor em seu trabalho a hipótese de que o *U. cordatus* apresentaria uma estratégia de retenção das larvas no interior da baía, próximo aos habitats parentais. A autora lançou a hipótese baseada em algumas características peculiares da Baía de Paranaguá. Existem, de acordo com Knoppers *et al.*

(1987), áreas no interior da baía de Paranaguá que apresentam uma complexa dinâmica de fluxo de correntes e, por isso, poderiam favorecer a retenção das larvas. Estas áreas apresentam, em média, salinidades relativamente mais elevadas, em comparação com o interior da baía (Lana *et al.* 2001) e, desta forma, representariam um ambiente onde o desenvolvimento larval seria possível.

No entanto, ao testar esta hipótese, através de coletas em diversos pontos da baía de Paranaguá, a autora não capturou nenhum dos outros seis estágios descritos para a espécie (Rodrigues & Hebling, 1986), afora zoea I. Este resultado a levou concluir que a maior parte das larvas naturalmente liberadas após as eclosões, ou seriam emitidas pelas correntes para as regiões costeiras, ou morreriam em seus estágios iniciais, principalmente em função das baixas salinidades observadas nessa época.

No presente experimento, foram realizados dez arrastos de superfície, no dia 22 de janeiro de 2005, 13 dias após a última lua nova. Para a escolha da data, foi levado em consideração o momento lunar e o tempo necessário para atingir cada estágio do desenvolvimento larval, baseado no dados dos cultivos em larga escala e nos experimentos controlados (vide capítulo IV, da presente tese).

Assim, era plausível esperar que as larvas liberadas por ocasião do último evento lunar se encontrassem predominantemente no estágio de zoea III e IV. Como a data das coletas coincidiu com o início das eclosões para o segundo ciclo lunar do mês de janeiro, e como já havia ocorrido pelo menos dois eventos anteriores, a captura de todos os estágios naquele momento era, ao menos cronologicamente, possível.

Através dos arrastos foram coletadas grandes quantidades de zoea I de *U. cordatus*, o que não seria incomum, uma vez que os mesmos foram realizados logo após um evento de eclosão em massa. Porém, também foram capturadas quantidades significativas de estágios mais avançados, como zoea III e IV, que poderiam ser resultantes dos eventos do ciclo lunar anterior, assim como zoea V e zoea VI, e até mesmo algumas megalopas. Estas seriam provenientes de eventos de eclosão ainda mais antigos.

Existe a possibilidade de que estas larvas possam ser provenientes de regiões costeiras e sua presença no interior da baía se deva a uma combinação de ventos e correntes marinhas. Mas também é possível que estes dados denotem uma plasticidade na estratégia de dispersão larval do *U. cordatus*, em relação às condições hidrológicas locais.

De acordo com Bilton, *et al.* (2002), diferentes condições hidrológicas entre diferentes estuários podem desencadear adaptações comportamentais nas larvas que aumentam sua sobrevivência e suas chances de recrutamento. Mesmo espécies com estratégias de dispersão baseada em exportação, podem apresentar diferentes graus de retenção nas porções internas da plataforma continental, e até mesmo próximas à foz dos estuários.

Longe de se apresentarem como prova definitiva de que as larvas de *U. cordatus* utilizam a retenção como parte de sua estratégia de dispersão larval, os dados sugerem a possibilidade da existência de plasticidade no comportamento da espécie, adaptada às características das dinâmicas hídricas de cada diferente habitat.

Experimentos de arrastos realizados em séries temporais mais longas assim como em uma grade amostral mais ampla deveriam ser realizados, desde que melhor sincronizados com os eventos de eclosão da espécie, com o desenvolvimento larval e com os ciclos de maré.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGER, K., E. SPIVAK, C. BAS, D. ISMAEL, & T. LUPPI. Hatching rhythms and dispersion of decapod crustacean larvae in a brackish coastal lagoon in Argentina. *Helgol. Meeresunters.* V. 48: 445-466. 1994
- BILTON, D. T., PAULA, J., BISHOP, J. D. D. Dispersal, genetic differentiation and speciation in estuarine organisms. *Estuarine, coastal and shelf science*, v. 55, pp.937–952. 2002.
- BOLTOVSKOY, D. Atlas del zooplankton del Atlantico sudoccidental y metodos de trabajo con el zooplankton marino. Publicación especial del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero. Mar del Plata, pp. 964. 1981.
- BOYLAN, J. M., WENNER, E. L. Settlement of brachyuran megalopae in a South Carolina, USA, estuary. *Marine ecology progress series*, v. 97(3), pp. 237-246. 1993.
- CHRISTY, J. H. Adaptive significance of reproductive cycles in the fiddler crab *Uca pugilator*. A hypothesis. *Science*, v. 199, n. 4327, pp. 453-455. 1978.
- CHRISTY, J. H. & MORGAN, G. Estuarine immigrations by crab post-larvae: Mechanisms, reliability and adaptive significance. *Marine ecology progress series*, v. 57, pp. 77-82. 1998.
- CHRISTY, J. H. Sincronía reproductiva y de dispersión larval en cangrejos intermareales: la hipótesis anti-depredador. *Revista Chilena de Historia Natural*. v. 76, p. 177-185. 2003.
- DIELE, K. Life history and population structure of the exploited mangrove crab *U. cordatus* (L.) (Decapoda: Brachyura) in the Caeté estuary, North Brazil. Doctor's thesis. Zentrum für Marine Tropenökologie, Universität Bremen, Bremen, Germany. 103 pp. 2000.
- DIELE, K. & SIMITH, D. J. B. Salinity tolerance of northern Brazilian mangrove crab larvae, *Ucides cordatus* (Ocypodidae): Necessity for larval export? *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 68, pp. 600-608. 2006.
- DIELE, K. Comunicação pessoal.
- FERNANDES, L. D. A., BONECKER, S. L. C., VALENTIN, J. L. Dynamic of decapod crustacean larvae on the entrance of Guanabara bay. *Brazilian archives of biology and technology*, v. 45(4), 2002.

- FERNANDEZ, M., ARMSTRONG, D., IRIBARNE, O. First cohort of young-of-the-year dungeness crab, *Cancer magister*, reduces abundance of subsequent cohorts in intertidal shell habitat. *Canadian journal of fisheries and aquatic science*, v. 50, pp. 2100-2105. 1993.
- FORWARD, R. B. Jr., SWANSON, J., TANKERSLEY, R. A. & WELCH, J. M. Endogenous swimming rhythms of blue crab *Callinectes sapidus*, megalopae: Effects of offshore and estuarine cues. *Marine Biology*, v. 127, pp 621-628. 1997.
- FORWARD, R. B. Jr., TANKERSLEY, R. A., DeVRIES, M. C., RITTSCHOF, D. Sensory physiology and behaviour of the blue crab, *Callinectes sapidus*, postlarvae during horizontal transport. *Marine and freshwater behaviour and physiology*, v. 26, pp. 233-248. 1995.
- FRANSOZO, A. COSTA, C. R., MANTELATTO, F. L. M., PINHEIRO, M. A. A., SANTOS, S. Composition and abundance of shrimp species (Penaeidea and Caridea) in Fortaleza Bay, Ubatuba, São Paulo, Brazil. *Modern approaches to the study of crustacea*, pp. 117-123. 2002.
- GOES, P., F. D. F. SAMPAIO, T. M. S. CARMO, G. S. TÔSO, M. S. LEAL. Comportamento e período reprodutivos do caranguejo do mangue. In: SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIROS: CONSERVAÇÃO. Vol V. Vitória, ES Vol II. Pp. 335-345. 2000.
- KJERVE, B. & L. D. LACERDA. Management and status of the mangroves in Brazil. In: Conservation and Sustainable utilization of mangrove forests in Latin America and Africa regions. L.D. Lacerda Ed. Part 1: Latin America. 254-272 pp. 1993.
- KNOPERS, B. S., BRANDINI, F. P., THAMM, C. A. Ecological studies in the Bay of Paranaguá. II. Some physical and chemical characteristics. *Nerítica*, v. 2, pp. 1-36. 1987.
- LANA, P. C., MARONE, E., LOPES, R. M., MACHADO, E. C. The subtropical Estuarine Complex of Paranaguá Bay, Brazil. *Coastal marine ecosystems of Latin America, Ecological studies*, v. 144, pp. 121-145. 2001.
- LITTLE, K. T., EPIFANIO, C. E. Mechanisms for the reinvasion of an estuary by two species of brachyuran megalopae. *Marine ecology progress series*, v. 58, pp. 235-242. 1991.
- McCONAUGHGA, J. R. Export and reinvasion of larvae as regulators of estuarine decapod populations. *American fisheries society symposium*, v. 3, pp. 90-103. 1988.
- MORGAN, S. G. Impact of planktivorous fishes on dispersal, hatching and morphology of estuarine crab larvae. *Ecology*. v. 71, p. 1639-1652. 1990.
- MORGAN, S. G. The timing of larval release. p. 157-191 in: *Ecology of marine invertebrate larvae*. McEdward, L. Boca Raton, Florida CRC Press. 1995.
- MORGAN, S. G., CHRISTY, J. H. Adaptive significance of the timing of larval release by crabs. *The american naturalist*, v. 145(3), pp. 457-479. 1995.
- MORGAN, S. G., CHRISTY, J. H. Plasticity, constraint, and optimality in reproductive timing. *Ecology*, v. 75(8), pp. 2185-2203. 1994.

- O'CONNOR, N. J. Settlement and recruitment of the fiddler crabs *Uca pugnax* and *U. pugilator* in a North Carolina, USA, salt marsh. Marine ecology progress series, v. 93, pp. 227-234. 1993.
- PINHEIRO, M. A. A., FRANSOZO, A. Reproductive dynamics of the speckled swimming crab *Aranaeus cribrarius* (Lamarck, 1818) (Brachyura, Portunidae), on the north coast of São Paulo State, Brazil. Journal of crustacean biology, EUA, v. 22(2), pp. 416-428. 2002.
- POHLE, G. MANTELATTO, F. L. M. NERGREIROS-FRANSOZO, M. L. , A FRANSOZO. South Atlantic Zooplankton. V. Boltovskoy Ed. Bachuys Publishers. Leiden, The Netherlands. Pp. 1281-1351. 1999.
- QUEIROGA, H., COSTLOW, J. D. Jr., MOREIRA, M. H. Larval abundance patterns of *Carcinus maenas* (Decapoda, Brachyura) in Canal de Mira (Ria de Aveiro, Portugal). Marine ecology progress series, v. 111, pp. 63-72. 1994.
- QUEIROGA, H., COSTLOW, J. D. Jr., MOREIRA, M. H. Vertical migration of the crab *Carcinus Maenas* first zoea in a estuary: Implications for tidal stream transport Marine ecology progress series, v. 149, pp. 121-132. 1997.
- QUEIROGA, H., MOKNESS, P. O., MEIRELLES, S. Vertical migration behaviour in the larvae of the shore crab, *Carcinus maenas* (L.) from a microtidal system (Gullmarsfjord, Sweden), Marine ecology progress series, v. 237, pp. 195-207. 2002.
- RODRIGUES, M.D. & HEBLING, N.J. *Ucides cordatus cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda). Complete larval development under laboratory conditions and its systematic position. Revista Brasileira de Zoologia, v. 6(1), pp. 147-166. 1989.
- SANTAROSA-FREIRE, A. Dispersão larval do caranguejo do mangue *Ucides cordatus* em manguezais da Baía de Paranaguá, Paraná. Tese de Doutorado. Doutorado em Oceanografia (Oceanografia Biológica) da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1998.
- SILVA, U. A. Cultivos Experimentais de Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763). Tese de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba – Paraná. 89 pp. 2002.
- SULKIN, S. D., VAN HEUKELEM, W. Larval recruitment in the crab *Callinectes sapidus* (Rathbun): An amendment to the concept of larval retention on estuaries. Estuarine comparsions ( V. S. Kennedy, ed.), pp. 459-475. Academic Press, New York. 1982.
- SULKIN, S. D., VAN HEUKELEM, W., KELLY, P., VAN HEUKELEM, L. The Behaviour basis of larval recruitment in the crab *Callinectes sapidus* (Rathbun): a laboratory investigation of ontogenic changes in geotaxis and barokinesis. Biological bulletin, v. 159, pp. 402-417. 1980.
- TODD, C. D. & M .S. LAVERACK. Coastal Marine zooplankton. Cambridge University Press. New York. 106 p. 1999.

WEHRTMANN, I. S., DITTEL, A. L. Utilization of floating mangrove leaves as a transport mechanism of estuarine organisms, with emphasis on decapod crustacea. Marine ecology progress series, v. 60(1-2), pp. 67-73. 1990.

## Capítulo VI - Influência do tempo de imersão de megalopas sobre as taxas de assentamento e de sobrevivência de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) em laboratório

### RESUMO

Para estudar a influência do tempo de imersão sobre as taxas de assentamento e sobrevivência de megalopas de *Ucides cordatus*, cultivadas em laboratório, dois experimentos foram realizados. O primeiro estimou o período mínimo em que a megalopa liberada na coluna d'água deve permanecer em descanso na coluna d'água, antes que possa tolerar a exposição ao ar causada pela maré vazante. Diferentes tempos de exposição das larvas foram testados, em experimentos realizados em bandejas plásticas preenchidas com sedimento. Os resultados revelaram que a megalopa é sensível ao ressecamento nos primeiros momentos após seu contato com o sedimento. À medida que mais tempo de descanso é dado antes da completa drenagem do sedimento, menor será o efeito da exposição das larvas assentadas ao ar. Assim, o momento da liberação da megalopa no manguezal deve ser escolhido prevendo-se um tempo de imersão inicial de pelo menos 4 horas, antes que a maré vazante exponha completamente o sedimento repovoado ao ar. O segundo experimento testou o efeito de diferentes períodos diários de imersão. O experimento foi realizado em quatro aquários, subdivididos em quatro compartimentos. Em cada um deles foram colocadas diferentes quantidades de sedimento de manguezal, formando quatro patamares seqüenciais, semelhantes aos degraus de uma escada. Após preencher os aquários com água marinha, cada compartimento recebeu 30 megalopas de *U. cordatus*, produzidas em laboratório. Diariamente, foram realizadas simulações dos ciclos de maré com oscilação do nível de água e cada patamar foi submetido a diferentes períodos diários de imersão (1420, 140, 80 e 20 minutos). Após 30 dias, o sedimento foi triado para contagem de tocas e dos juvenis sobreviventes. A melhor taxa de sobrevivência, entre os tratamentos, foi observada nos compartimentos sujeitos à taxa de imersão de 80 minutos por dia, com uma tendência de redução à medida que os tempos diários de imersão se tornavam mais longos, apesar das diferenças não serem significativas ( $p \geq 0,05$ ). Taxas de sobrevivência e quantidades de tocas escavadas significativamente menores foram observadas no tratamento onde o sedimento permaneceu submerso por tempo menor.

Palavras-chave: repovoamento, tocas, sedimento, megalopa, zoea.

## ABSTRACT

To study the influence of immersion periods in the survivorship of *U. cordatus* megalopae produced in laboratory, two experiments were carried out. The first experiment determined a minimum resting period that released megalopae require before the receding tides exposure the sediment to the air. In plastic trays filled with mangrove sediment, different resting times after the release of the larvae and before the complete draining of the sediment were tested. The results showed that megalopa is sensible to the dehydration in their first moments over the sediment. Only after scooping their burrows, the draining of the sediment by the tide movement becomes less deleterious to its survival. Therefore, the chosen moment for releasing the cultivated megalopae must allow at least 4 hours of resting time, for the larvae in the water column, before the receding tide to expose the surface of the sediment to the air. The second experiment was realized in 4 aquariums, subdivided in different compartments. In each one, different amounts of mangrove sediment were deposited, forming four sequential platforms, resembling steps of stairs. After filling the aquariums with disinfected and filtered sea water, each compartment received 30 megalopae of *U. cordatus*. Every day, simulations of the tide cycles would provide oscillation level of water and each platform was submitted to different daily periods of submersion (1420, 140, 80 and 20 minutes). After 30 days, the number of burrows in the sediment and the survivor juveniles were screened. The best survival rate, between the treatments, was observed in the compartment of 80 minutes per day, with a trend of reduction as the immersion times becomes longer, although the differences were not considered statistically significant. The survival rates and the amounts of excavated burrows were significantly lower in the treatment where the sediment remained submerged for shortest periods of time.

Key words: stock enhancement, burrows, sediment, megalopa, zoea.

## INTRODUÇÃO

A tecnologia para o repovoamento das populações do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus*, vem sendo desenvolvida pelo Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), da Universidade Federal do Paraná. O objetivo é poder recuperar os estoques de caranguejo em áreas ambientalmente alteradas, através da liberação de larvas ou juvenis produzidos em laboratório.

A primeira etapa do processo de produção em larga escala de larvas em laboratório encontra-se relativamente avançada. Porém, as estratégias mais adequadas para a liberação das larvas ou juvenis no manguezal ainda precisam ser estabelecidas. Atualmente, as liberações são realizadas quando a larva atinge o estágio de megalopa.

Vários autores, trabalhando com outras espécies de Brachyura, defendem que a liberação deva ser realizada somente a partir da quarta ecdise da fase juvenil (Ariyama, 2000; Secor *et al.*, 2002). Em siris da família Portunidae, a partir desse momento – e em alguns casos, não antes da sétima ecdise – os juvenis passam a se enterrar quando são ameaçados por predadores. Ao levar em consideração este detalhe, os pesquisadores que trabalham com a liberação de juvenis desta família começaram a obter significativos aumentos dos níveis de sobrevivência dos recrutas liberados (Morgan, 1995).

No ambiente natural, megalopas e juvenis do caranguejo-uçá também estão sujeitos à predação por peixes (Costa, 2006) e, possivelmente, por outros animais da fauna estuarina. Assim, uma das possíveis estratégias para se reduzir as perdas de larvas liberadas no ambiente seria limitando o acesso de predadores a elas - por exemplo, através do uso de cercados telados. Contudo, a delimitação de áreas para a liberação das megalopas ou juvenis no manguezal pressupõe um conhecimento prévio sobre as zonas mais adequadas para o assentamento.

A variação do nível da água determinada pelas marés nos manguezais faz com que as zonas mais próximas ao leito da baía e de seus rios permaneçam mais tempo submersas que os horizontes mais altos, criando habitats física e quimicamente distintos, o que influencia a distribuição espacial de várias espécies, dentre elas *U. cordatus* (Costa, 1972; Diele, 2000; Alves & Nishida, 2004; Almeida, 2005; Schmidt, 2006).

O presente estudo teve por objetivo estabelecer o efeito entre diferentes tempos de imersão e as taxas de colonização, sobrevivência e metamorfose de larvas do caranguejo-uçá produzidas em laboratório. Os resultados obtidos deverão ser utilizados para determinação dos melhores locais para a liberação de megalopas no manguezal, durante projetos de repovoamento.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Experimento 1. Taxa de colonização em diferentes tempos de imersão inicial no sedimento**

O sedimento utilizado no experimento foi coletado de um manguezal da baía de Guaratuba-PR e peneirado em de malha de nylon de 1 mm de abertura para excluir eventuais predadores ou competidores. Depois de peneirado, foi distribuído em 20 bandejas plásticas de 25 x 40 x 5 cm, até uma altura de 3 cm, com desnível de cerca de 10 graus em direção ao dreno. As bandejas foram preenchidas com água marinha, filtrada em filtro de celulose de 0,5 µm, desinfetada com hipoclorito de sódio na concentração de 10 ppm e neutralizada com tiosulfato de sódio, para eliminação do cloro residual livre.

Cada bandeja recebeu 50 megalopas. Após a liberação, as larvas foram deixadas imersas sobre o sedimento inundado para realizarem o assentamento. Os tratamentos experimentais consistiram nos diferentes períodos de imersão a que as larvas foram sujeitas antes da completa drenagem das bandejas. No primeiro tratamento, a drenagem começou imediatamente após a transferência das larvas para as bandejas. No tratamento seguinte, foi dado um prazo de 30 minutos antes do início da drenagem das mesmas. Além destes, mais dois tratamentos, com 2 e com 4 horas de intervalo entre a transferência das larvas e drenagem das bandejas, foram testados. Cada tratamento contou com 5 réplicas. Após este período inicial de imersão, diariamente era realizada uma simulação de maré, de cerca de uma hora, no momento da troca d'água. As bandejas eram preenchidas com água marinha (temperatura de 25 ° C ± 1° C e 25 de salinidade) até cobrir todo o sedimento. Após um tempo de descanso de 1 hora, as bandejas eram lenta e completamente drenadas.

O experimento durou cinco dias. Após este período todo o conteúdo das bandejas foi triado e tanto o número de tocas quanto o de larvas vivas e mortas foram contabilizados.

### **Experimento 2. Taxa de sobrevivência e de colonização de megalopas em diferentes períodos diários de imersão.**

Quatro aquários, com dimensões de 60 x 40 x 20 cm foram subdivididos em quatro compartimentos, de 15 X 40 cm, através de telas de nylon de 300 µm de abertura de malha, para impedir que as larvas pudessem se deslocar de um extrato a outro. As subdivisões receberam crescentes quantidades de sedimento de manguezal, formando patamares seqüenciais, como degraus de uma escada, com diferença de 10 cm entre os degraus. Como a profundidade das tocas dos estágios iniciais de megalopa não ultrapassa 2,0 cm de profundidade, este desnível foi suficiente para que a água de um nível não atingisse o fundo das tocas dos juvenis do patamar localizado imediatamente acima.

Tanto o sedimento de mangue quanto a água marinha, utilizados no experimento, passaram pelo mesmo tratamento adotado no experimento anterior.

Após a montagem dos aquários foram colocadas, em cada uma das suas subdivisões, 30 megalopas de *U. cordatus* produzidas em laboratório. Após imersão por quatro horas, o nível da água foi rebaixado, através da saída existente na parte mais baixa do aquário (Figura 42).

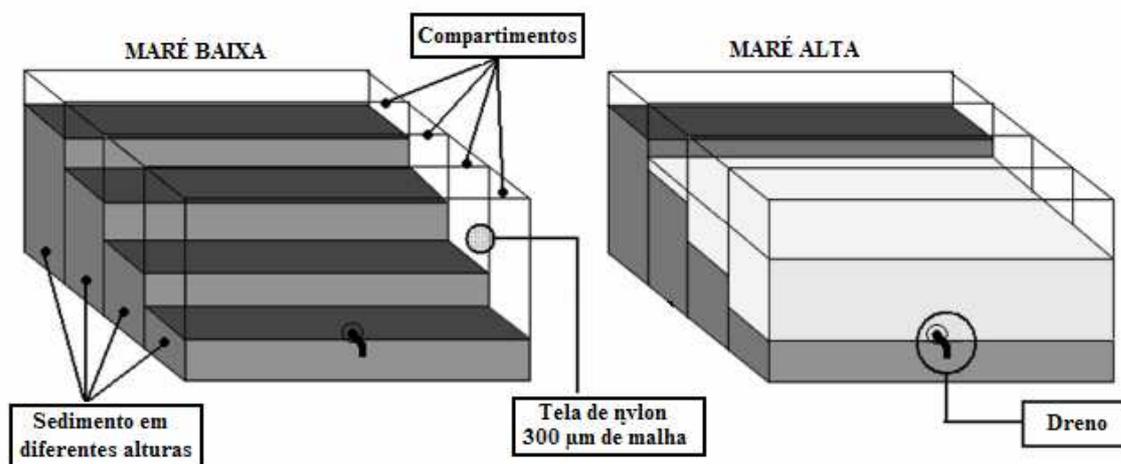


Figura 42. Esquema ilustrativo dos aquários e seus compartimentos durante a simulação de maré realizada no segundo experimento.

A partir do segundo dia do experimento, cada aquário passou a ser submetido a dois ciclos de variação do nível d'água, um no período da manhã e outro no período da tarde, simulando os ciclos de maré. Cada subdivisão foi exposta a diferentes tempos de imersão em água salgada, seguindo o esquema descrito na Tabela 11. Durante as simulações de maré, era também realizada a renovação parcial da água.

Tabela 11. Regime de simulação de marés nos diferentes níveis de sedimento.

	Tempo de imersão por dia (minutos)	Tempo de imersão por período (minutos)
1º nível	1420	710
2º nível	140	70
3º nível	80	40
4º nível	20	10

O experimento teve duração de 30 dias e ao final deste período foram realizadas a contagem do número de tocas escavadas e a triagem e contagem de megalopas e juvenis vivos em cada uma das subdivisões dos aquários.

Após análise da distribuição dos dados através de teste de Shapiro-Wilk, os dados relativos às taxas de sobrevivência e ao número de tocas foram avaliados por meio de ANOVA e as médias comparadas por meio do teste *a posteriori* de Fisher LSD.

## RESULTADOS

### Experimento 1. Taxa de colonização em diferentes tempos de imersão inicial no sedimento

Não foram observadas diferenças significativas nas taxas de sobrevivência entre os tratamentos que utilizaram diferentes períodos de descanso antes da drenagem das bandejas. No entanto, o número de tocas entre os tratamentos variou significativamente, demonstrando uma clara tendência a uma quantidade maior de tocas quanto maior for o tempo dado às larvas para que assentassem antes que a água das bandejas fosse completamente drenada (Figura 43).

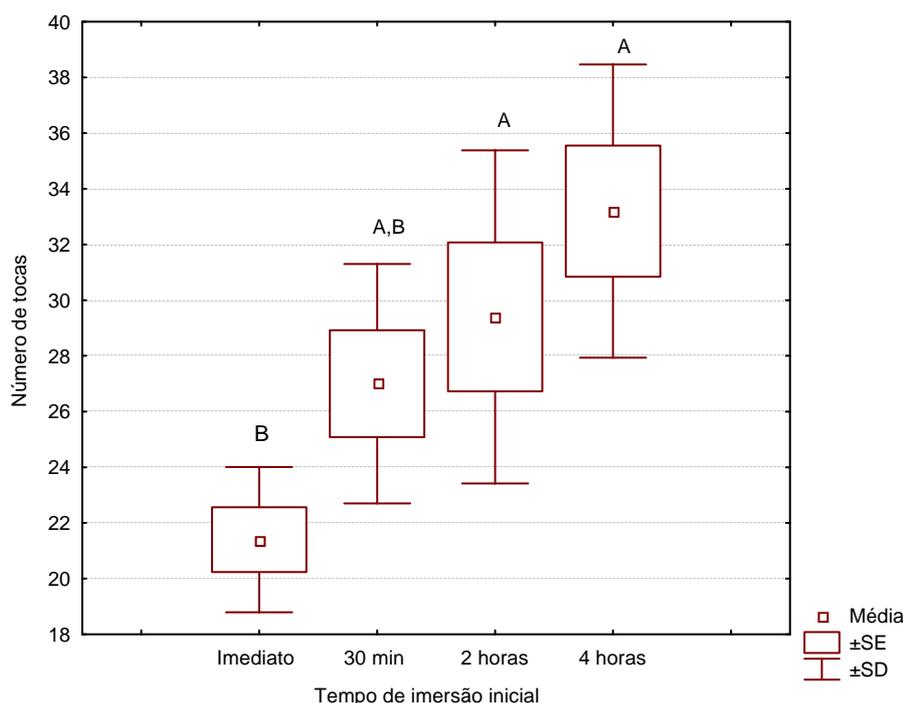


Figura 43. Número de tocas escavadas no sedimento de bandejas submetidas a diferentes tempos de imersão logo após a liberação das larvas nas bandejas experimentais (ANOVA  $p < 0,05$ ).

O teste *a posteriori* de Fisher LSD apontou que o número de tocas escavadas no tratamento em que as bandejas foram drenadas imediatamente foi significativamente menor do que nas bandejas em que a água foi drenada apenas duas e quatro horas após a transferência das megalopas.

## Experimento 2. Taxa de sobrevivência e de colonização em diferentes períodos diários de imersão.

A análise das taxas de sobrevivência obtidas no experimento demonstrou que o período diário de imersão do sedimento do mangue por água salgada influencia na mortalidade das larvas. As larvas do tratamento em que o sedimento permaneceu imerso durante o menor tempo, isto é, 20 minutos por dia, apresentaram uma taxa de sobrevivência significativamente menor do que as dos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ).

O ápice das taxas de sobrevivência larval coincidiu com o período de 80 minutos diários de imersão, podendo ser observada uma tendência à redução das taxas de sobrevivência em direção aos períodos de maior tempo de imersão, ainda que as diferenças testadas não tenham sido consideradas significativas (Figura 44).

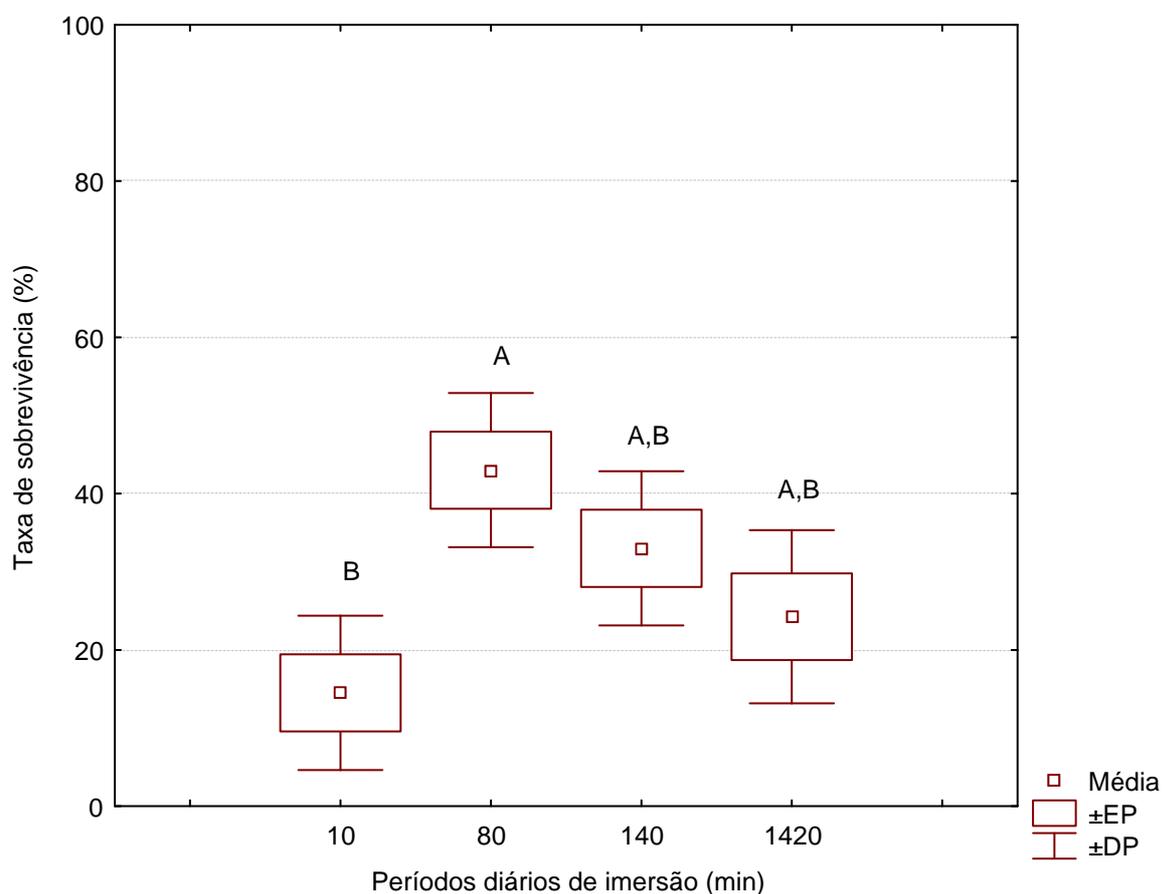


Figura 44. Taxas de sobrevivência de megalopas e de juvenis de *U. cordatus* assentados em sedimento de manguezal submetidos a diferentes regimes diários de imersão. As barras verticais demonstram o desvio padrão.

Já na contagem do número de tocas escavadas, aconteceu uma inversão nos resultados dos períodos extremos de imersão. Enquanto o maior e o segundo maior número de tocas escavadas também foram observados nos tratamentos de 80 e 140 minutos,

respectivamente, destafeita o resultado estatisticamente menor ( $P < 0,05$ ) foi observado no tratamento que utilizou o maior tempo de imersão (1420 minutos diários). Entre os demais não houve diferença significativa (Tabela 12).

Tabela 12. Número de tocas escavadas por megalopas de *U. cordatus* em sedimento de manguezal submetido a diferentes regimes diários de imersão. As letras indicam os grupos homogêneos obtidos através de teste de Fisher LSD.

Tempo de imersão por dia (minutos)	Número Médio de tocas escavadas
1420	10,8 <sup>b</sup>
140	29,2 <sup>a</sup>
80	41,4 <sup>a</sup>
20	30,4 <sup>a</sup>

## DISCUSSÃO

O conhecimento sobre o regime de imersão pelas marés na área escolhida para a liberação é essencial para o sucesso do repovoamento. Vários autores discutem a altura do terreno em relação à linha d'água, ocupado por *U. cordatus* em manguezais. A existência de uma zonação, em que os animais menores colonizam áreas mais altas e, portanto, menos alagadas, parece ser consenso entre os pesquisadores (Costa, 1972; Diele, 2000; Alves & Nishida, 2004; Almeida, 2005; Schmidt, 2006).

Existem diferentes hipóteses para justificar este padrão de zonação. Schmidt (2006) propõe que a presença de uma maior quantidade de juvenis nas áreas com menor tempo de imersão, particularmente nos limites inferiores dos apicuns<sup>5</sup>, seja um indício de que o recrutamento de *U. cordatus* ocorra neste habitat.

Diele (2000) defende que a presença de juvenis em áreas mais altas do manguezal não significa que estes são os locais escolhidos pelas megalopas como primeiro ponto de assentamento. De acordo com a autora, as megalopas colonizam a mesma região do mesolitoral onde se encontram os adultos. À medida que crescem, no entanto, inicia-se a competição por melhores áreas no sedimento, e somente então os juvenis são deslocados para regiões mais altas e menos produtivas.

Os resultados do presente trabalho corroboram com a segunda assertiva e indicam que uma das variáveis ambientais mais importantes seria a taxa de imersão da área.

Atualmente as liberações são realizadas alguns dias após a larva atingir o estágio de megalopa. Aproveitando a característica da megalopa do *U. cordatus*, que após 3 dias da

---

5 Apicum: zona de sucessão do manguezal para outras comunidades vegetais, resultado da deposição de areias finas por ocasião da preamar.

metamorfose, já apresentam geotropismo positivo e a capacidade de cavar tocas no sedimento (Souza, 2006), as larvas neste estágio são embaladas e transportadas para áreas de manguezal. A liberação ocorre na maré enchente noturna, com as larvas liberadas próximo à vegetação.

Com o objetivo de aumentar as taxas de sobrevivência após a soltura, uma das alternativas no desenvolvimento da tecnologia de repovoamento, que deverão ser estudadas em um futuro próximo, é a liberação das megalopas em cercados instalados no manguezal. Para isso, as exigências das larvas em termos das características fundamentais do local em que os cercados serão instalados deverão ser conhecidas.

Esta exigência determinará a distância em que as estruturas deverão ser instaladas em relação ao nível d'água. No primeiro experimento do presente estudo, que utilizou diferentes períodos de imersão iniciais, o maior número de tocas observado nas bandejas com maiores períodos de imersão demonstrou que, logo após o assentamento, este fator é crítico para a sobrevivência larval. Estes resultados demonstram que a megalopa é sensível ao ressecamento nos primeiros momentos após seu contato com o sedimento. À medida que um maior tempo de imersão é permitido às larvas antes da completa drenagem do sedimento, menor será o efeito da exposição ao ar.

Assim, o momento da liberação da megalopa no manguezal deve ser escolhido prevendo-se um tempo de imersão inicial de pelo menos 4 horas antes que a maré vazante exponha o sedimento repovoado ao ar.

O segundo experimento do presente estudo foi realizado com a liberação de megalopas. Como não foram adicionadas outras espécies de caranguejo neste experimento e a densidade populacional em todas as subdivisões foi a mesma no início do experimento, o efeito observado pode ser isolado de outras variáveis e foi resultado das diferenças entre as taxas de imersão de cada compartimento.

Os resultados obtidos sugerem que os locais selecionados deverão estar dentro da faixa do meso-litoral e propiciar às larvas um período diário de imersão entre 80 e 140 minutos.

Segundo Nascimento (1993), *U. cordatus* procura áreas menos alagadas para realizar a ecdise. Os resultados do segundo experimento corroboram parcialmente com esta assertiva. De fato, observou-se uma tendência de redução nas taxas de sobrevivência e menores quantidades de tocas escavadas nos segmentos do aquário que passaram a maior parte do tempo inundados. Porém, o segmento que passou a maior parte do tempo exposto ao ar apresentou taxas de sobrevivência, significativamente menores. Isso indica que períodos de imersão abaixo da faixa ideal, entre 80 e 140 minutos, tendem a ser mais deletérios do que aqueles acima.

No estado do Paraná, durante as marés de quadratura, as amplitudes características desta região fazem com que a água dificilmente alcance os limites superiores do mesolitoral. Se liberadas em cercados instalados nas faixas mais altas do mesolitoral, durante as chamadas “marés mortas”, as larvas recém liberadas poderão ficar expostas no terreno seco por períodos demasiadamente longos, afetando sua sobrevivência.

Independentemente do local escolhido para instalação dos cercados, estes devem propiciar níveis de imersão adequados para esta fase da vida do caranguejo-uçá.

Com base nas informações obtidas através do presente estudo, fica claro que a distância entre a margem e o ponto de instalação deverá levar em conta a dinâmica hídrica à qual o local está sujeito bem como o momento ciclo lunar.

### **CONCLUSÕES**

As megalopas de *U. cordatus* precisam de um período mínimo de 4 horas sobre o sedimento inundado antes que a maré vazante drene completamente o sedimento da área de liberação.

Regiões do meso litoral com períodos diários de imersão entre 80 e 140 minutos são preferíveis àquelas com maior ou menor tempo de imersão.

Regiões demasiadamente altas do manguezal, que apresentem períodos de imersão demasiadamente curtos, tendem a ser menos adequadas ao assentamento das megalopas de *U. cordatus* do que áreas mais baixas com períodos de imersão mais longos.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALMEIDA, R. Ecologia de manguezais: Dinâmica da serapilheira e funcionamento do ecossistema, Ilha do Cardoso, Cananéia, São Paulo, Brasil. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 183pp. 2005.
- ALVES, R. R. N. & NISHIDA, A. K. Population structure of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda; Brachyura) in the estuary of the Mamanguape river, Northeast Brazil. *Tropical oceanography*, v. 32(1), pp. 26 – 37. 2004.
- ARIYAMA, H. Studies on ecology and stock enhancement of swimming crab *Portunus trituberculatus* in Osaka Bay. *Bulletin of the Osaka Prefecture Fisheries Experimental Station*, v. 12, pp. 1 - 90. 2000.
- COSTA, P. V. Predação de larvas de caranguejo (Brachyura) por peixes no Rio dos Pinheiros – Guaratuba-PR. Curitiba. Dissertação de mestrado. Curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. 2006.

- COSTA, R. S. Fisiologia do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763)(Crustacea, Decapoda) do nordeste brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, 121pp. 1972.
- DIELE, K. Life history and population structure of the exploited mangrove crab *U. cordatus* (L.) (Decapoda: Brachyura) in the Caeté estuary, North Brazil. Doctor's thesis. Zentrum für Marine Tropenökologie, Universität Bremen, Bremen, Germany. 103 pp. 2000.
- MORGAN, S. G. The timing of larval release. p. 157-191 in: Ecology of marine invertebrate larvae. McEdward, L. Boca Raton, Florida CRC Press. 1995.
- NASCIMENTO, S. A. Biologia do Caranguejo-Uçá (*Ucides cordatus*). ADEMA, 48pp. 1993.
- SCHMIDT, A. J. Estudo da dinâmica populacional do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus cordatus* (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA-DECAPODA-BRACHYURA), e dos efeitos de uma mortalidade em massa desta espécie em manguezais do Sul da Bahia. Dissertação de mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, pp. 199. 2006.
- SECOR, D. H., HINES, A. H., PLACE, A. R. Japanese hatchery-based stock enhancement: lessons for the Chesapeake Bay blue crab. Maryland Sea Grant publication, N.1, 62pP. 2002.
- SOUZA, R. V. Canibalismo e assentamento de formas jovens de caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L.) (Crustácea, Brachyura, Ocypodidae), em condições de laboratório. Curitiba, Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, pp. 39. 2006.

## Capítulo VII - Taxas de colonização e de sobrevivência de megalopas de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea Brachyura Ocypodidae) em condições experimentais

### RESUMO

Um estudo, composto por três experimentos distintos, direcionado à investigação de aspectos do processo de assentamento e de colonização de megalopas de *Ucides cordatus* produzidas em laboratório foi realizado. No primeiro experimento, as concentrações de areia e argila, adequadas ao assentamento da megalopa foram estudadas. Em um tanque de 3 m x 2 m, com 60 cm profundidade, contendo cerca de 25 mil megalopas de *U. cordatus*, foram instaladas 18 bandejas plásticas de 30 x 40 x 10 cm. Sedimento de manguezal fino (lodo), misturado a proporções crescentes de argila (0, 20, 40, 60, 80 e 100%) foram colocados nas bandejas. Cada tratamento foi testado com 3 réplicas. A variação dos resultados em termos de taxas de sobrevivência não foi significativa, porém, o número de tocas no sedimento que continha 100 % de areia foi significativamente menor que aquele que continha 80% de lodo e somente 20% de areia. O segundo experimento estimou as taxas de sucesso no assentamento e de sobrevivência de megalopas liberadas diretamente sobre o sedimento inundado em condições ideais. Três tanques (1 m x 2 m x 80 cm) com substrato inclinado a 10 ° foram inundados com água marinha, na salinidade de 25. Foram liberadas 300 megalopas em cada tanque provenientes de cultivo. Duas vezes ao dia, a água dos tanques foi trocada e náuplios de artêmia, na concentração de 5 náuplios por ml, foram adicionados. O experimento foi mantido por 10 dias. A maior parte das megalopas cavou suas tocas no primeiro terço do sedimento. Em média, para cada 300 larvas liberadas foram encontradas 283 tocas. Porém, após a triagem final do sedimento, o número médio de larvas recuperadas foi de 209,3 megalopas, ou seja, 69,77% de sobrevivência. O último experimento testou as taxas de sucesso no assentamento e de sobrevivência de megalopas liberadas diretamente sobre o sedimento inundado em condições próximas às naturais. Foram instaladas quatro caixas de mil litros de capacidade dentro de uma área de manguezal. As caixas eram dotadas de quatro aberturas de 20 x 40 cm em seus flancos, protegidas por telas de 500 µm, que permitia a entrada da água marinha no momento da preamar. Exatamente 2.000 larvas produzidas em laboratório foram liberadas na primeira caixa e 1.000 na segunda e terceira caixas, no momento que a água do rio inundava completamente todas as caixas. A quarta caixa foi mantida como controle e não recebeu qualquer megalopa. O experimento foi mantido por 3 meses, sem suprimento de alimento além do natural. Ao fim do período, todo sedimento das caixas foi triado e os caranguejos, de todas as espécies fixados e identificados em laboratório. Na primeira caixa foram encontrados 441 juvenis de *U. cordatus* (22,05% de sobrevivência), na segunda, 270 (27,00% de sobrevivência) e na terceira, 99 (9,9% de sobrevivência). Na quarta, não houve registro de *U. cordatus*, adultos ou juvenis. O experimento demonstrou que larvas de *U. cordatus* cultivadas em laboratório, excluindo-se predadores e competidores, são capazes de sobreviver e de se alimentar em condições naturais.

Palavras chave: retenção larval, repovoamento, ciclo de marés, zoea, megalopa.

## ABSTRACT

A study composed of 3 distinct experiments was performed aiming the estimation of the survival rates of releasing megalopae directly over the sediment, in optimal conditions of predator and competitor exclusion, in the laboratory and in the field. In the first experiment, plastic trays containing fine mangrove sediment with increasing ratios of sand (0, 20, 40, 60, 80 and 100%) had been offered to the megalopae. The results, in terms of number of burrows excavated, demonstrated a trend of increasing acceptance from treatment zero (100% of sand) to 80 (20% of sand) and declining in direction to treatment 100 (0 % of sand). Statistically, only treatment 80 (20% of sand) was significantly different than treatment zero (100% of sand). The second experiment tested the rate of settling success of megalopae in optimal laboratory conditions. Exactly 300 megalopae were released in each of 3 fiber glass tanks (1 m x 2 m x 80 cm) filled with mangrove sediment and flooded with sea water, at 25 of salinity and 25 ° C ( $\pm 1$  ° C). Twice a day, the water of the tanks was changed, simulating the tide cycles. *Artemia nauplii*, at concentration of 0.5 ind. for ml, were added at this time. The experiment was kept for 10 days. Most of megalopae dug burrows in the submerged portion of the sediment. In average, for each 300 released larvae, 283 burrows were found. However, at end of the experiment, 209.3 larvae, in average, were recouped (survival rate of 69.77%). In the last experiment, 4 plastic boxes, with 1,000 liters of capacity, were installed inside of a protected mangrove area. The boxes had 4 large openings (20x 40 cm) in their flanks covered with a 500  $\mu$ m screen net. 2,000 megalopae were released in the first box and 1,000 in the second and third, during the high tide, when the water of the river entered the boxes. The last box did not receive any larvae and was maintained as a controlled treatment. The boxes were covered with a large net to prevent the entrance of birds. The experiment was kept by 3 months without artificial feeding. At end of the experiment, the sediment of all boxes was screened and crabs of all the species were collected and identified in laboratory. The first box presented 441 juveniles of *U. cordatus* (22.05% of survival). The second box, 270 juveniles of *U. cordatus* (27.00% of survival) were found and in the third, 99 juveniles of *U. cordatus* (9.9% of survival). In fourth box, only 32 crabs of other species were found. The experiment demonstrated that the release of megalopae of *U. Cordatus* directly in mangrove areas is viable, in conditions of predator and competitor exclusion.

Key words: larval retention, stock enhancement, tide cycles, megalopa, zoea.

## INTRODUÇÃO

A maioria das espécies de caranguejos estuarinos, incluindo o caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L. 1763), tem a dispersão larval como um dos pilares de sua estratégia de colonização de novos ambientes (Santarosa-Freire, 1998). Após a eclosão, as larvas zoea são transportadas pelas marés vazantes de sizígia para longe dos habitats parentais, atingindo as áreas externas aos estuários. Estas zoeas se desenvolvem até o estágio de megalopa em águas costeiras, quando iniciam o recrutamento, provendo a re-invasão dos estuários. No caso do caranguejo-uçá, as zoeas permanecem longe dos manguezais por três a quatro semanas, retornando como megalopa durante as marés enchentes de lua cheia e nova (Diele, 2000).

A megalopa é um estágio intermediário, que apresenta adaptações tanto para a vida planctônica, quanto bentônica. Nesta fase, as larvas possuem graus avançados de visão, olfato e outros sentidos que as capacitam fugir da predação, encontrar as pistas ambientais que a levarão de volta aos habitats paternos e, por fim, encontrarem o local mais adequado para a colonização (Epifanio *et al.*, 1984; Secor *et al.*, 2002; Diaz *et al.* 2003).

Para fins de repovoamento de áreas alteradas, a liberação de megalopas traz vantagens logísticas em relação à liberação de juvenis. A megalopa, última forma larval do ciclo ontogênico do *U. cordatus*, geralmente começa a aparecer nos tanques do laboratório de larvicultura a partir 15º dia e até o 27º dia, após a eclosão das larvas, a maioria já sofreu a última ecdise para este estágio. Por esses motivos, a liberação de megalopas significa maior economia de recursos, comparando-se com um cultivo levado a termo até os estágios mais avançados de juvenil (Silva, 2002)

A principal desvantagem da liberação de megalopas no ambiente ao invés de juvenis seria uma taxa de sobrevivência teoricamente menor, justificada pelo hábito parcialmente planctônico, o que aumentaria o número de predadores em potencial (O' Connor & Gregg, 1998).

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a viabilidade técnica de liberação de megalopas como opção estratégica para os esforços de repovoamento de *U. cordatus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção das megalopas

Todas as larvas utilizadas nos experimentos do presente estudo foram geradas a partir de fêmeas ovígeras de caranguejo-uçá coletadas nos manguezais do município de Antonina, Paraná, Brasil (25º 25' 08" S e 48º 42' 33" W). As fêmeas coletadas foram trazidas até o Laboratório de Produção de Organismos Aquáticos (LAPOA), do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), da Universidade Federal do Paraná (UFPR),

localizado em Curitiba. As fêmeas foram mantidas em tanques plásticos de 1.000 litros, totalmente imersas em água marinha, em condições ambientais controladas (temperatura de  $25^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e salinidade de 25) até a eclosão das larvas, que ocorreu sem qualquer estímulo artificial.

As larvas utilizadas no experimento foram cultivadas nos tanques de larvicultura massiva do laboratório (de 2 m de largura, 3 m de comprimento e 0,80 m de altura), até que atingissem o estágio desejado para cada teste. Durante a larvicultura, as larvas receberam alimentação específica para cada estágio de desenvolvimento, conforme a rotina do referido laboratório: microalgas do gênero *Tetraselmis* e rotíferos *Brachionus plicatilis* para os primeiros estágios e, a partir de zoea V, com acréscimo de náuplios de *Artemia* sp. Maiores detalhes sobre essa metodologia no Prefácio da presente tese.

O sedimento utilizado nos experimentos I e II foi coletado em uma gamboa artificial, dentro dos manguezais do município de Guaratuba, Paraná, Brasil ( $25^{\circ} 49' 51'' \text{S}$  e  $48^{\circ} 34' 43'' \text{W}$ ). O sedimento deste local, bastante fino, era completamente desprovido de vegetação ou raízes. Em laboratório, o sedimento foi peneirado em tela de 1 mm de abertura de malha para a retirada de pedras ou organismos vivos, e seco ao sol, até que atingisse uma consistência que possibilitasse a sua moldagem.

### **Experimento 1. Taxas de colonização de megalopas de *U. cordatus* em substratos com diferentes proporções de areia e argila.**

No primeiro experimento, as concentrações de areia e argila, adequadas ao assentamento da megalopa foram estudadas. Em um tanque de 2 m de largura, 3 m de comprimento e 60 cm de altura, suprido com água salobra na salinidade de 25, cerca de 25 mil megalopas foram transferidas. Foi instalada uma estrutura de madeira para suportar 18 bandejas plásticas, com dimensões de 30 cm de largura, 45 cm de comprimento e 8 cm de altura.

Uma amostra do sedimento, após o processamento, foi analisada com relação à granulometria. O sedimento foi designado como argiloso pela escala de Wentworth, com mais de 90 % do material passando por peneiras com malhas de nylon de 50  $\mu\text{m}$ . Já a areia foi obtida da praia de Caieiras, na desembocadura da Baía de Guaratuba. Trata-se de uma praia arenosa, aberta, com areia fina bem selecionada. A areia foi peneirada com malha entre 250 e 125  $\mu\text{m}$  de forma a ser granulometricamente classificada como areia fina, pela mesma escala. Cada uma das bandejas recebeu sedimento composto de argila e areia em diferentes proporções (Tabela 13).

Tabela 13. Diferentes percentagens de areia e de argila utilizado nas unidades experimentais .

Tratamento	Teor de areia	Teor de Argila
Zero	100%	0%
20	80%	20%
40	60%	40%
60	40%	60%
80	20%	80%
100	0%	100%

Para cada tratamento, foram utilizadas três bandejas dispostas ao acaso, de tal maneira que cada bandeja tivesse a mesma chance de receber megalopas, independentemente de sua posição relativa no tanque em que fosse instalada (Figura 45). A intensidade de colonização nas bandejas foi estimada pelo número de tocas cavadas no substrato pelas referidas megalopas.

Foi realizado um experimento piloto com a duração de 5 dias. Neste experimento apenas a abundância relativa foi comparada, em relação à quantificação do número de tocas escavadas nas bandejas. Três dias mais tarde, o experimento foi montado novamente, nas mesmas condições do primeiro. Este experimento, chamado de “principal”, teve sua duração estendida para 10 dias, tendo sido realizadas duas contagens de tocas, uma no 5º e outra no 10º dia. Ao final do experimento, todo o sedimento foi triado à procura de larvas sobreviventes permitindo a comparação entre a abundância relativa e a taxa de sobrevivência final.



Figura 45. Bandejas com diferentes teores de areia e de argila (esquerda) e estruturas de madeira instaladas no tanque de cultivo experimental para sustentação das bandejas (direita).

## Experimento 2. Estimativa das taxas de assentamento e sobrevivência de megalopas em condições de laboratório.

O segundo experimento estimou as taxas de sucesso no assentamento e de sobrevivência de megalopas liberadas diretamente sobre o sedimento inundado em condições próximas ao ideal. Três tanques de fibra de vidro, com 1 m de largura, 2 m de comprimento e 80 cm de altura, foram preenchidos com 10 cm de sedimento contendo 80% de argila e 20% de areia. O sedimento foi distribuído no fundo do tanque de tal maneira que 10 % da superfície do tanque ficasse sem sedimento. Entre esta área e o platô sedimentar foi esculpido um talude. A seguir, a superfície do substrato foi completamente alisada, eliminando protuberâncias e depressões.

Os tanques foram inclinados até um ângulo próximo a 30°. Cada um deles foi preenchido com água marinha na salinidade de 25. O sedimento foi dividido visualmente em três partes iguais. A água foi adicionada nos tanques de tal forma que seu nível máximo atingisse 2/3 da superfície do sedimento. O restante, na porção mais alta do platô sedimentar, permanecia permanentemente fora d'água. A parte mantida emersa foi designada de terço superior, a parte submersa na maior parte do tempo, de terço inferior e a intermediária de terço médio (Figura 46).

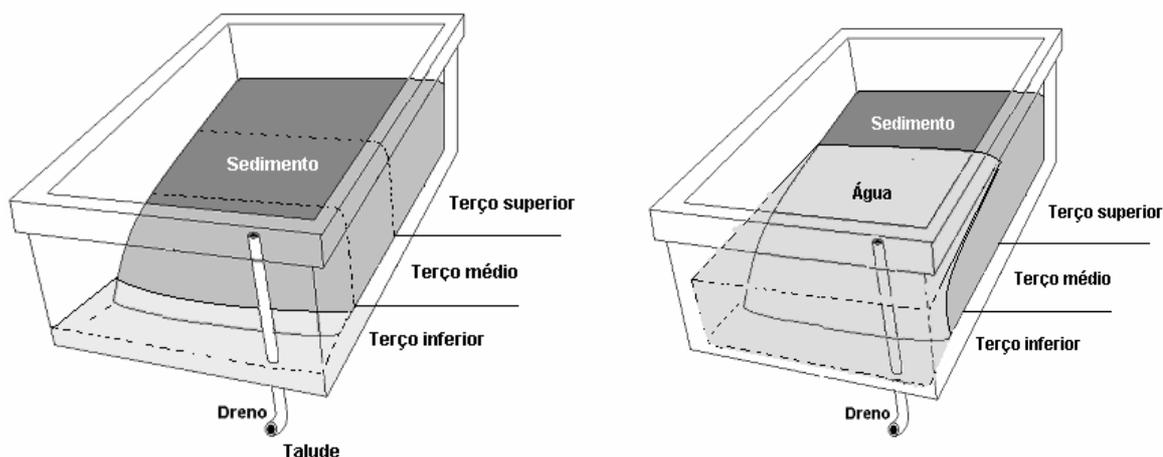


Figura 46. Tanques utilizados no experimento de sobrevivência em condições ideais. Simulação do ciclo de marés. À esquerda, baixa-mar e a direita, preamar.

Em seguida, três lotes de 300 megalopas de *U. cordatus*, foram retirados ao acaso de um tanque de cultivo em larga escala. Cada um desses lotes foi transferido para um dos respectivos tanques experimentais. Após a liberação das larvas, o nível de água nos tanques foi mantido por 4 horas e posteriormente drenado.

Depois de 24 horas, a água dos tanques passou a ser trocada duas vezes ao dia, simulando o movimento de maré do tipo semidiurno, característico do litoral do Paraná. Durante a simulação da maré alta, o nível máximo da água atingia no máximo o limite entre

o terço médio e o superior. A simulação de maré consistia em manter o nível da água acima do sedimento por uma hora e antes da drenagem dos tanques. O esgotamento da água era feito lentamente, através de um dreno localizado na porção exposta do fundo (Figura 47). A água não era esgotada completamente. Cerca de vinte litros de água eram mantidos na parte mais baixa de cada tanque. Junto ao dreno foi instalada uma pedra porosa a partir de onde era feita a aeração contínua da água.

A alimentação acontecia no momento do enchimento dos tanques. Náuplios de artêmia, recém eclodidos, eram adicionados na parte baixa do tanque e em seguida, o nível da água era elevado de tal maneira que a densidade final de náuplios atingia 0,5 náuplios por ml.



Figura 47. Tanque experimental no momento da simulação de maré (esquerda) e liberação das megalopas na coluna d'água (direita).

### **Experimento 3. Taxas de colonização e de sobrevivência de megalopas em experimentos de campo**

O último experimento testou as taxas de sucesso no assentamento e de sobrevivência de megalopas liberadas diretamente sobre o sedimento inundado em condições mais próximas às naturais.

Quatro tanques plásticos cilíndricos, com 1.000 l de capacidade cada um, foram adaptados para o experimento. Quatro aberturas, de 20 cm de largura por 40 cm de altura foram feitas em cada um de seus quadrantes, as quais foram cobertas com tela de nylon com 350  $\mu$ m de abertura de malha (Figura 48).

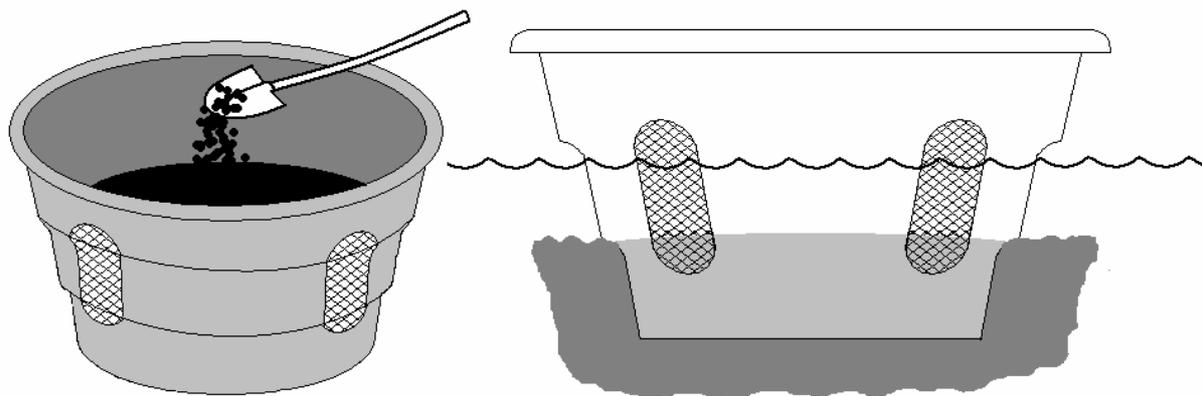


Figura 48. Tanques experimentais utilizados no experimento realizado no manguezal (esquerda). À direita, sua instalação sobre o solo do manguezal (direita).

As caixas foram levadas até a área de ao lado do Centro de Operações Costeiras (COC), localizado no município de Guaratuba (ver Prefácio). No local, foram feitas cavidades no solo, com cerca de 30 cm de profundidade, cujo diâmetro permitia a acomodação das referidas caixas, de tal maneira que o nível do solo ficasse perfeitamente alinhado com a borda inferior das aberturas laterais. O sedimento retirado da cavidade foi peneirado com auxílio de peneiras de calfinagem, de 1 mm de abertura de malha, e espalhado sobre uma laje para secar ao sol por três dias. Após isso, todo o material foi recolhido e depositado novamente dentro das caixas.

Quatro mil megalopas foram retiradas dos tanques de cultivo em larga escala do Laboratório de Pesquisa de Organismos Aquáticos (LAPOA/GIA/UFPR), embaladas e transportadas até a área experimental do C.O.C..

As megalopas foram liberadas na coluna d'água dos tanques experimentais no momento em que o interior das caixas encontrava-se submerso pela subida da maré. Na primeira caixa foram depositadas 2.000 megalopas, enquanto na segunda e terceira caixa, apenas 1.000 megalopas cada uma. A quarta caixa não recebeu qualquer larva e foi utilizada como controle. As caixas foram cobertas com tela plástica para evitar a interferência de pássaros.

Após 3 meses da liberação das megalopas nas unidades experimentais, no dia 26 de junho de 2004, foi realizada a triagem do material existente em cada caixa.

O sedimento foi retirado das caixas e colocado em uma pequena betoneira. O material foi triado cuidadosamente, uma vez que os juvenis ainda eram muito pequenos e frágeis. O sedimento misturado com água doce se liquefazia facilitando o trabalho de peneiramento. Foram usadas duas peneiras, para separar o material sólido do líquido. A

primeira peneira, de malha mais grossa, separou os galhos e pedras, que eventualmente poderiam obstruir a saída da caixa de filtragem. A segunda peneira reteve efetivamente os juvenis de caranguejo existentes nas unidades experimentais.

Os indivíduos capturados foram separados e acondicionados em potes plásticos numerados, contendo formalina à 4%. Os potes com as amostras foram transportados para o laboratório do GIA/UFPR em Curitiba, onde foram identificados, medidos e contados.

## RESULTADOS

### Experimento 1. Taxas de colonização de megalopas de *U. cordatus* em substratos com diferentes proporções de areia e argila.

O experimento piloto, quando analisado através da contagem do número de tocas, 5 dias após sua instalação, revelou que, numericamente, o maior número de tocas foi observado na bandeja do tratamento em que o sedimento era composto por 80% de argila (Figura 49). Foi observada uma tendência de declínio em relação aos demais tratamentos. Os dados foram transformados para aumentar a homogeneidade e aumentar a confiabilidade dos testes estatísticos. Logaritimizados, os dados foram tratados por ANOVA. O teste *a posteriori* de Fisher revelou três grupos homogêneos distintos: o tratamento zero, com o pior resultado, o tratamento 20, com resultados intermediários, e os demais, semelhantes entre si, mas diferentes dos dois primeiros.

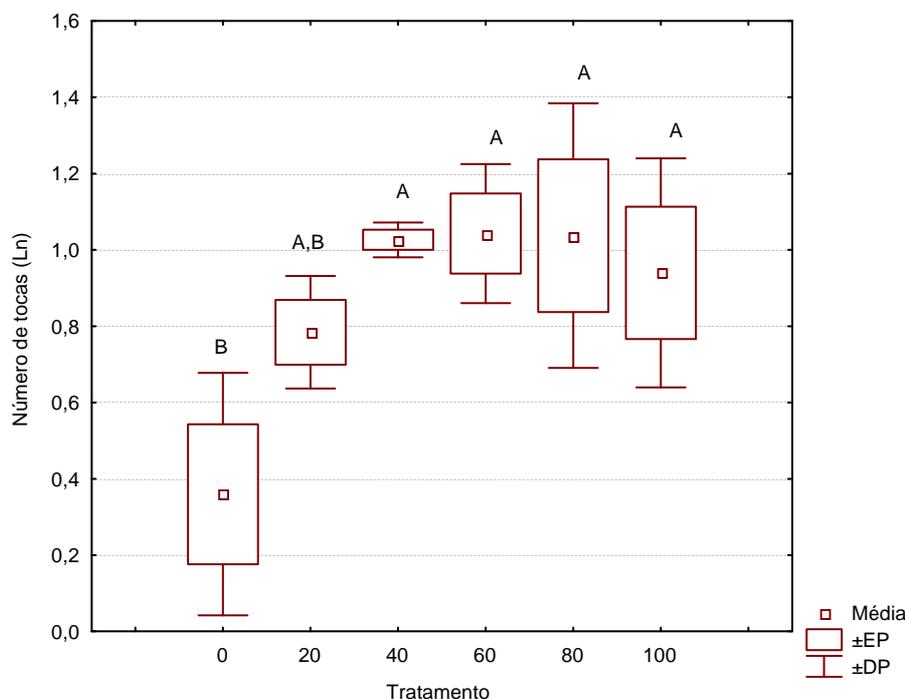


Figura 49. Número de tocas cavadas pelas megalopas de *U. cordatus* em substratos com diferentes teores de argila após 5 dias do início do experimento piloto (Tratamento 0 = 0% de argila; tratamento 100 = 100 % de argila). As linhas horizontais denotam o desvio padrão.

Da mesma maneira que o experimento piloto, o experimento principal foi analisado com relação a abundância relativa, através da contagem de tocas, também após 5 dias do seu início. Porém, os resultados apresentaram excessiva variabilidade entre as repetições, mesmo após a transformação para logaritmo neperiano. A ANOVA não paramétrica de Kruskal-Wallis revelou que as diferenças entre os resultados obtidos pelos tratamentos, tanto para o número de tocas quanto para as taxas de sobrevivência, não eram significativas ( $P \geq 0,05$ ).

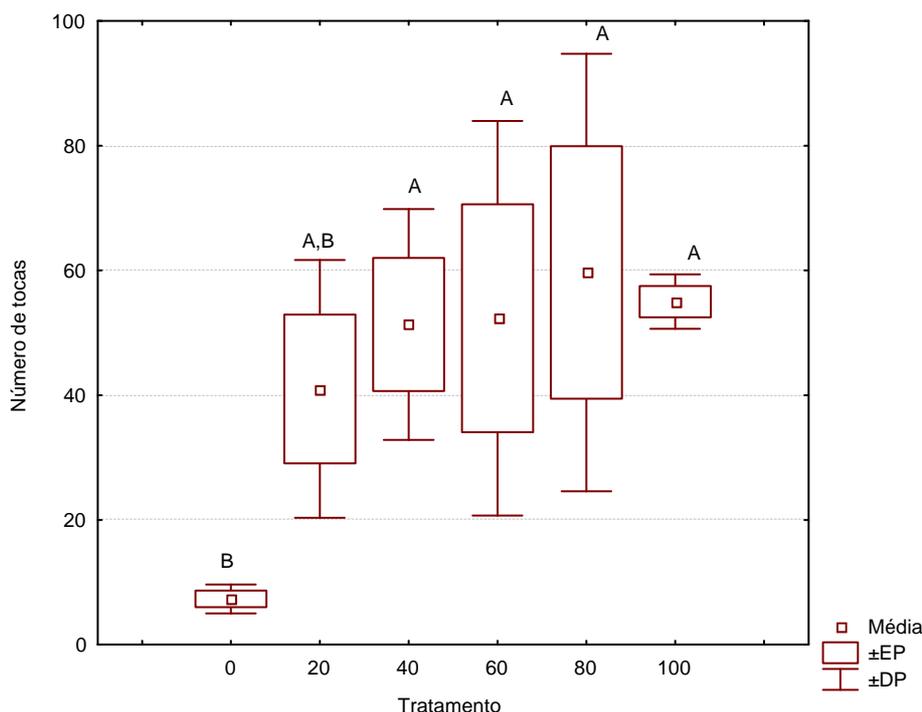


Figura 50. Número de tocas cavadas pelas megalopas de *U. cordatus* em substratos com diferentes teores de areia após 10 dias do início do segundo experimento da série (Tratamento 0 = 0% de argila; tratamento 100 = 100 % de argila). As linhas horizontais denotam o desvio padrão.

Quando o experimento principal foi analisado 10 dias depois do seu início, os resultados foram bastante similares aos observados no experimento piloto, para o mesmo período (Figura 50). Os dados acerca do número de tocas quando analisados pelo teste de Shapiro-Wilk, mostraram distribuição normal, portanto foram tratados por ANOVA e as diferenças foram consideradas significativas ( $P < 0,05$ ). O teste *a posteriori* de Fisher LSD revelou que o número de tocas quantificado no tratamento zero (100 % de areia) foi significativamente igual ao tratamento 20 e este estatisticamente igual aos demais. As diferenças entre o tratamento com relação as taxas de sobrevivência final, quando tratadas por ANOVA, não se revelaram significativas ( $P \geq 0,05$ ).

## **Experimento 2. Estimativa das taxas de assentamento e sobrevivência de megalopas em condições ideais de laboratório.**

As megalopas transferidas para os tanques se distribuíram uniformemente na coluna d'água. Após cerca de uma hora, a maioria das larvas havia se deslocado para o fundo do tanque, explorando o sedimento.

As megalopas passaram a cavar o sedimento e em menos de três horas, algumas tocas já eram visíveis. Algumas delas conseguiram romper a tensão superficial existente na interface entre a água e o ar para caminhar sobre o sedimento do terço superior. No dia seguinte, já foi possível observar uma grande quantidade de tocas, tanto sobre o sedimento emerso quanto sobre o submerso. A maior parte das megalopas foi capaz de cavar tocas em menos de três dias, refugiando-se nelas.

Cerca de 95% das tocas escavadas no terço superior, se concentrou no sedimento subjacente às laterais da unidade experimental. As tocas cavadas abaixo do nível mínimo que a água atingia durante a simulação da maré baixa se distribuíram mais uniformemente, por toda a extensão da linha do talude (Figura 51).



Figura 51. *U. cordatus*. À esquerda, megalopas sobre o sedimento drenado. À direita, tocas escavadas nas unidades experimentais.

Após 48 horas da liberação das megalopas, as tocas cavadas foram contadas pela primeira vez, resultando em 105 tocas no primeiro tanque, 196 no segundo e 113, no terceiro. A segunda contagem ocorreu após 72 horas do início do experimento, quando houve um incremento no número de tocas, com 177 tocas no primeiro tanque, 254 no segundo e 233 no terceiro. Quando não havia mais megalopas dispersas na coluna d'água, o que aconteceu dez dias após as liberações das larvas nos tanques, o experimento foi considerado encerrado. Neste dia, foram registradas 276, 300 e 273 tocas cavadas no primeiro, no segundo e no terceiro tanque, respectivamente (Figura 52).

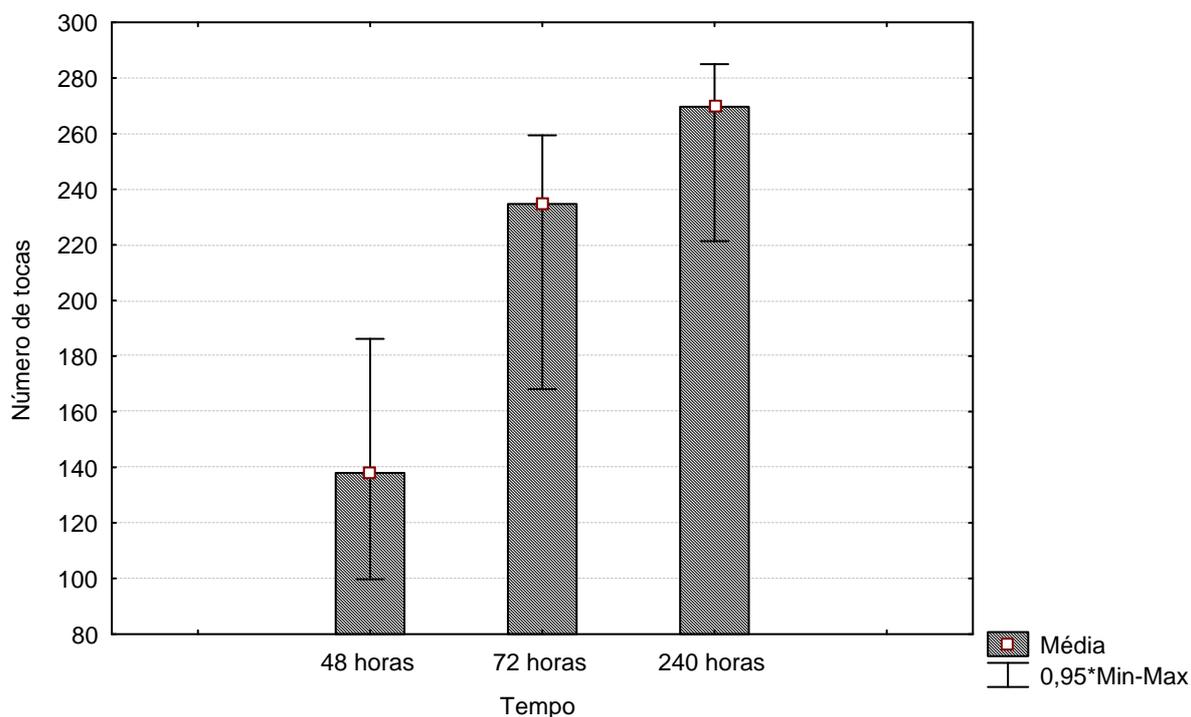


Figura 52. Incremento do número médio de tocas nos tanques experimentais em três momentos após a liberação de 300 megalopas de *U. cordatus*.

Ao final do experimento, o sedimento das caixas foi triado à procura de larvas. Todo o material existente dentro da caixa foi diluído em água doce e peneirado. Foram encontradas 189 megalopas na primeira caixa, 220 megalopas e 4 juvenis, na segunda, e 213 megalopas e 2 juvenis na terceira caixa. Em média, o número de megalopas recolhidas foi 26,03 % inferior ao número de tocas contabilizadas (Tabela 14).

Tabela 14. Resultados obtidos 10 dias após a liberação de 300 megalopas de *U. cordatus* em caixas experimentais mantidas em condições controladas.

	1 caixa	2 caixa	3 caixa
<b>Número de tocas</b>	276	300	273
<b>Megalopas</b>	189	220	213
<b>Juvenis</b>	0	4	2
<b>Total</b>	189	224	215
<b>Taxa de sobrevivência (%)</b>	68,47	74,66	78,75

Em geral, as megalopas permaneceram abrigadas em suas tocas após a escavação da mesma. No entanto, foi observado nos primeiros 4 dias do experimento que durante as trocas diárias de água, no momento em que o nível se elevava, uma parte das megalopas abandonava as tocas para a coluna d'água. Quando os tanques começavam a ser drenados novamente, estas megalopas voltaram a cavar novas tocas no sedimento úmido.

### **Experimento 3. Taxa de colonização e sobrevivência de megalopas de *U. cordatus* em experimentos a campo**

Os caranguejos triados nas caixas experimentais mantidas no manguezal encontravam-se em boas condições, não tendo sido observadas lesões em decorrência do método de peneiramento do material sedimentar. Na caixa 1, em que foram liberadas 2.000 megalopas, observou-se uma taxa de sobrevivência de 22,02%. Nas caixas 2 e 3, as taxas de sobrevivência observadas foram de 27 e 9,9%, respectivamente (Tabela 15).

Tabela 15. Espécies de caranguejo encontradas nas caixas experimentais instaladas dentro do manguezal, 180 dias após a liberação de megalopas, cultivadas em laboratório, diretamente sobre sedimento inundado.

<b>Unidade experimental</b>	<i>U. cordatus</i>	<i>Uca thayeri</i>	<i>Uca rapax</i>	<i>Eurytium limosum</i>	<i>Cyrtograpsus affinis</i>
Caixa 1	441	13	3	1	
Caixa 2	270	30	2	0	0
Caixa 3	99	9	2	1	1
Caixa 4	0	31	1	0	*1

\* Fêmea ovígera

## **DISCUSSÃO**

As tocas são utilizadas como refúgio por uma série de organismos aquáticos (Lavalli & Barshaw 1986, Barshaw & Lavalli 1988). Muitos autores discorrem sobre a importância do

refúgio para a sobrevivência dos recrutas (Olmí & Lipcius, 1991; Heck & Hambrook, 1991; Fernandez *et al.*, 1993; Dittel *et al.*, 1996; Moksnes *et al.*, 1997). Na ausência de refúgios, são observadas altas taxas de mortalidade das megalopas e de juvenis de *Callinectes sapidus* por predação por peixes, camarões e até mesmo co-específicos de coortes mais antigas (Olmí & Lipcius 1991, Moksnes *et al.*, 1997).

De acordo com Secor *et al.* (2002), nos seus anos iniciais, os programas de repovoamento de siri *Portunus trituberculatus* (Rathbun, 1902), no Japão, eram baseados na liberação de larvas produzidas em laboratório assim que atingiam o estágio de megalopa. Porém, mesmo após anos de liberações controladas, as recapturas indicavam uma sobrevivência média de apenas 0,7%. Estudos posteriores demonstraram que, após a sua liberação, as megalopas de *P. trituberculatus* migravam para as marismas, onde sofriam a última muda da fase larval. No entanto, este juvenil ainda permanecia na coluna d'água ou sobre o sedimento, o que reduzia significativamente a sobrevivência dos lotes liberados devido à predação por peixes. Após esta constatação, um segundo estágio de cultivo passou a ser realizado, em estruturas de cultivo instaladas próximas ao ambiente onde os animais seriam definitivamente liberados. As megalopas eram cultivadas até atingirem o estágio "C<sub>4</sub>", ou seja, na quarta ecdise após a metamorfose, já que somente após este estágio, o juvenil passa a apresentar o comportamento de se enterrar, quando confrontado com o predador. Com essa modificação na estratégia de liberação, foi possível obter taxas de sobrevivência de até 61% (Secor, *op. cit.*).

O *P. trituberculatus* pertence à Portunidae, popularmente conhecidos como siris natantes, pela sua capacidade de se manter na coluna d'água. Por outro lado, o *Ucides cordatus*, pertencente a família Ocypodidae, não se caracteriza pelo comportamento natante após a metamorfose para o estágio juvenil. Os experimentos do presente estudo demonstraram que as megalopas de *U. cordatus* cultivadas em laboratório, após uma existência planctônica, migram para os habitats parentais bentônicos, onde sofrem a última muda da fase larval, adquirindo definitivamente o hábito bentônico. Esta característica também é observada para outras espécies de caranguejo, como *Uca pugilator* e *U. Pugnax* (Christy, 1989); *Chasmagnatus granulata* (Gebauer *et al.*, 1998); *Panopeus herbstii* (Weber & Epifanio 1998, O'Connor & Judge 1997 e Dittel *et al.* 1982).

Alves & Nishida (2002) e Almeida (2005) afirmam que, dentre os diversos horizontes no manguezal, os caranguejos menores, por sofrerem uma maior frequência de mudas, têm preferência por áreas arenosas e mais altas. O presente experimento, no entanto, demonstrou que sedimentos demasiadamente arenosos não são adequados para o assentamento das megalopas.

Tanto no experimento piloto, quanto no experimento principal, quanto foram testadas diferentes concentrações de areia e argila no sedimento, ficou demonstrado que a megalopa

é capaz de cavar mais tocas em sedimentos com uma quantidade de lodo maior que de areia. Esta observação foi mais clara nos primeiros 5 dias da liberação da megalopa na água. Após 10 dias esta diferença deixou de ser significativa. Isso indica que a textura do sedimento é muito importante nos primeiros dias de assentamento. O substrato adequado deve ser macio o suficiente para que as megalopas possam cavar suas tocas, mas estruturalmente coeso, para que as paredes da toca não colapsem sobre as larvas. Assim, é plausível supor que as megalopas de *U. cordatus* inicialmente colonizam áreas de manguezal a partir do sedimento das zonas do mesolitoral.

A sobrevivência das megalopas liberadas em uma determinada área depende, entre outros fatores, da rapidez com que elas deixam a coluna d'água e cavam suas tocas no sedimento. Souza (2006) estimou o tempo necessário para que as megalopas de *U. cordatus* deixem a coluna d'água e assentem no sedimento para cavar suas tocas. Segundo seus resultados de 3 a 10 dias após a metamorfose do estágio de zoea para a megalopa, as larvas passam a procurar ativamente o sedimento para cavarem suas tocas.

O segundo experimento, realizado com a liberação de megalopas na coluna d'água, em condições controladas, confirmou a habilidade da megalopa cultivada em laboratório de migrar para o sedimento de manguezal e que essa colonização é relativamente rápida. No presente experimento, foi observado que, imediatamente após a liberação, algumas larvas já cavavam tocas em busca de refúgio.

Segundo Silva (2002), as megalopas, imediatamente após a metamorfose, apresentam uma coloração translúcida e ainda se comportam fisiologicamente como zoeas, isto é, não toleram variações de salinidade que ultrapassem a faixa de 20 a 30. Após um período de 3 a 6 dias, as megalopas mudam de coloração, se tornando mais escuras, e de comportamento, tolerando variações extremas de salinidade e sendo atraídas pelo sedimento. Em seu trabalho, o autor chamou estas duas fases distintas do estágio de megalopa de “megalopa *i*” (inicial) e a segunda “megalopa *f*” (final). Diaz *et al.* (2003) explicam que estas duas fases representam momentos distintos da ontogenia da larva, e no trabalho chamam a primeira de “megalopa *i*” (intermuda) e “megalopa *p*” (pré-muda). Assim, pode-se concluir que se as larvas forem liberadas no período de megalopa *p*, que ocorre 3 a 10 dias após a metamorfose, será possível obter as melhores taxas de colonização e o menor tempo de exposição aos predadores na coluna d'água.

Em um dos tanques foram observadas 300 tocas para 300 megalopas liberadas. Foi observado que, nos primeiros dias após a colonização, muitas megalopas saíam das suas tocas e voltavam a coluna d'água, quando o nível da água era elevado. Quando a água dos tanques era drenada, as larvas respondiam a este estímulo, cavando novas tocas para se refugiarem do ressecamento. Este comportamento, somado à mortalidade natural, fez com que o número de tocas contabilizadas fosse maior do que o número de larvas.

Portanto, a contagem de tocas representa uma medida de abundância relativa, já que a quantidade real de larvas sobreviventes, em todos os experimentos do mesmo tipo, foi menor do que a das tocas. Em média foram contabilizadas 2 larvas para cada 3 tocas. Mesmo assim, 10 dias após a liberação inicial, foi possível obter uma taxa de sobrevivência de 73,97%.

No 3º experimento foram obtidas taxas de sobrevivência que variaram de 9 a 27%, o que demonstra que as megalopas de *U. cordatus*, cultivadas em laboratório são capazes de resistir às variáveis típicas dos habitats naturais e sobreviver a partir de alimentos encontrados naturalmente. No entanto, há que se ressaltar que estes resultados foram alcançados através da exclusão de dois importantes fatores de regulação populacional: a predação e a competição. Como programas de repovoamento incluem a estratégia de liberação de megalopas diretamente no ambiente, estes dois fatores devem ser mais bem analisados, de forma a permitir uma avaliação mais criteriosa da taxa de sucesso dos referidos programas.

### **CONCLUSÕES**

Quando liberadas em ambientes onde há substrato composto por sedimento de manguezal, as megalopas de *U. cordatus* cultivadas em laboratório começam imediatamente a explorar o sedimento. Em algumas horas passam a cavar suas tocas, reduzindo, sobremaneira, a sua exposição à eventual predação por peixes. Entre 60 e 85% das megalopas assumem definitivamente o hábito bentônico 72 horas após a exposição ao substrato do manguezal.

Os resultados indicam que as megalopas de *U. Cordatus*, cultivadas em laboratório, apresentam condições anatômicas e fisiológicas suficientes para que sejam liberadas diretamente no ambiente natural, indicando que os objetivos dos projetos de repovoamento possam ser atingidos.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALMEIDA, R. Ecologia de manguezais: Dinâmica da serapilheira e funcionamento do ecossistema, Ilha do Cardoso, Cananéia, São Paulo, Brasil. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 183pp. 2005.
- ALVES, R. R. N. & NISHIDA, A. K. Population structure of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda; Brachyura) in the estuary of the Mamanguape river, Northeast Brazil. *Tropical oceanography*, v. 32(1), pp. 26 – 37. 2004.
- BARSHAW, D. E., LAVALLI, K. L. Predation upon postlarval lobsters, *Homarus americanus*, by cunners, *Tauogolabrus adspersus*, and mud crabs, *Neopanope sayi*, on three different

substrates: eelgrass, mud, and rocks. Marine ecology progress series, v. 48, pp. 119-123. 1988.

CHRISTY, J. H. Rapid development of megalopae of the fiddler crab *Uca pugilator* reared over sediment: implications for models of larval recruitment. Marine ecology progress series v. 57, pp. 259-266. 1989.

DIAZ, H., ORIHUELA, A., FOWARD, B. R. Jr., RITTSCHOF, L. Orientation of juvenile blue crabs, *Callinectes sapidus* (Rathbun), to currents, chemicals, and visual cues. Journal of crustacean biology, v. 23(1), pp. 15-22. 2003.

DIELE, K. Life history and population structure of the exploited mangrove crab *U. cordatus* (L.) (Decapoda: Brachyura) in the Caeté estuary, North Brazil. Doctor's thesis. Zentrum für Marine Tropenökologie, Universität Bremen, Bremen, Germany. 103 pp. 2000.

DITTEL, A., EPIFANIO, C. E., NATUNEWICZ, C. Predation on mud crab megalopae, *Panopeus herbstii* (H. Milne Edwards): Effect of habitat complexity, predator species and postlarval densities. Journal of experimental in marine biology and ecology, v. 199, pp. 191-202. 1996.

DITTEL, R. A. I. & EPIFANIO, C. E. Seasonal abundance and vertical distribution of crab larvae in Delaware Bay. Estuaries, v. 5, pp. 197-202. 1982.

EPIFANIO, C. E., VALENTI, C. C., PEMBROKE, A. E. Dispersal and recruitment of the blue crab larvae in the Delaware Bay. Estuarine and coastal shelf science, v. 18, pp. 1-12. 1984.

FERNANDEZ, M., ARMSTRONG, D., IRIBARNE, O. First cohort of young-of-the-year dungeness crab, *Cancer magister*, reduces abundance of subsequent cohorts in intertidal shell habitat. Canadian journal of fisheries and aquatic science, v. 50, pp. 2100-2105. 1993.

GEBAUER, P., WALKER I., ANGER, K. Effects of substratum and conspecific adults on the metamorphosis of *Chasmagnathus granulata* (Dana). Journal of experimental marine biology and ecology, v. 223, pp. 185-198. 1998.

HECK, K. L. Jr., HAMBROOK, J. A. Intraspecific interactions and risk of predation for *Dyspanopeus sayi* (Decapoda: Xanthidae) living on polychaete (*Filograna implexa*: Serpulidae) colonies. Marine ecology progress series, v. 12, pp. 243-250. 1991.

LAVALLI, K. L, BARSHAW, D. E. Burrows protect postlarval lobsters *Homarus americanus* from predation by the non-burrowing cunner, *Tautogolabrus adspersus*, but not from the burrowing mud crab *Neopanope texani*. Marine ecology progress series, v. 32, pp.13-16. 1986.

MOKSNES, P. O., LIPCIUS, R. N., PIHL, L., VAN MONTFRANS, J. Cannibal-prey dynamics in juveniles and postlarvae of the blue crab. Journal of experimental in marine biology and ecology, v. 215, pp. 157-187. 1997.

O' CONNOR, N. J. & A. S. GREGG. Influence of potential habitat cues on duration of the megalopal stage of the fiddler crab *Uca pugnax*. JOURNAL OF CRUSTACEAN BIOLOGY, 18 (4): 700-709. 1998.

O'CONNOR, N. J., JUDGE, M.L. Flexibility in timing of molting of fiddler crab megalopae: evidence from in situ manipulation of cues. Marine ecology progress series, v. 146, pp. 55-60. 1997.

OLMI, E. J., LIPCIUS, R. N. Predation on post-larvae of the blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun) by sand shrimp *Crangon septemspinosa*, and grass shrimp *Palaemonetes pugio* holthius. Journal of experimental in marine biology and ecology, v. 151, pp. 169-183. 1991.

SANTAROSA-FREIRE, A. Dispersão larval do caranguejo do mangue *Ucides cordatus* em manguezais da Baía de Paranaguá, Paraná. Tese de Doutorado. Doutorado em Oceanografia (Oceanografia Biológica) da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1998.

SECOR, D. H., HINES, A. H., PLACE, A. R. Japanese hatchery-based stock enhancement: lessons for the Chesapeake Bay blue crab. Maryland Sea Grant publication, N.1, 62pP. 2002.

SILVA, U. A. Cultivos Experimentais de Caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763). Tese de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba – Paraná. 89 pp. 2002.

SOUZA, R. V. Canibalismo e assentamento de formas jovens de caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L.) (Crustácea, Brachyura, Ocypodidae), em condições de laboratório. Curitiba, Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, pp. 39. 2006.

WEBER, J. C., EPIFANIO, C. E. Response of mud crab (*Panopeus herbstii*) megalopae to cues from adult habitat. Marine biology, v. 126, pp. 655-661. 1998.

## Capítulo VIII - Relações inter e intra-específicas e suas influências no recrutamento de megalopas de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (CRUSTACEA, BRACHYURA, OCYPODIDAE) em condições experimentais

### RESUMO

Uma série de experimentos foi realizada em laboratório e no campo, com o objetivo de estimar a influência das relações intra e interespecíficas sobre as taxas de sobrevivência das megalopas de *Ucides cordatus*. No experimento 1, o sedimento argiloso foi previamente adicionado em 15 bandejas plásticas. As bandejas foram preenchidas com água marinha (salinidade de 25 e temperatura de  $25 \pm 1$  °C) e megalopas, cultivadas em laboratório foram transferidas nas densidades de 10, 50 e 100 indivíduos por bandeja. Após 5 dias as bandejas foram triadas. Foi registrada uma maior percentagem de tocas escavadas nas bandejas do tratamento 10, porém, não houve diferença significativa entre as taxas de sobrevivência obtidas nos diferentes tratamentos. No segundo experimento, 10 aquários de vidro, com sedimento de manguezal ao fundo, foram instalados em uma sala climatizada. Em metade dos aquários, 50 juvenis de *Uca* spp., com largura de carapaça entre 1 e 2 mm, foram previamente liberados em cada unidade. Após o enchimento de todos os aquários com água a 25 de salinidade e temperatura de 25°C ( $\pm 1$  °C), 50 megalopas de *U. cordatus* foram transferidas para cada aquário. A água dos aquários era trocada diariamente, em um procedimento que simulava o ciclo de marés. Durante a mudança de água, os animais eram alimentados com náuplios de artêmia recém eclodidos (0,5 náuplios por ml). Após 30 dias, os aquários foram esgotados e triados. Nos aquários com *Uca* spp, a taxa de sobrevivência dos juvenis de *U. cordatus* foi significativamente inferior. No terceiro experimento, 20 caixas plásticas de 100 litros cada, com aberturas laterais cobertas por tela de 300  $\mu$ m e fundo coberto com sedimento, foram instaladas no interior do manguezal. Em metade das caixas foram liberados 50 juvenis de diferentes espécies de caranguejo, com largura de carapaça entre 1 e 2 mm, coletados no próprio local. Durante a maré cheia noturna, com as caixas inundadas, 100 megalopas de *U. cordatus* foram liberadas em cada unidade. As caixas foram seladas e mantidas por 3 meses, ao final do qual, o sedimento presente nas unidades experimentais foi triado e todos os caranguejos encontrados foram identificados e contabilizados. As taxas de sobrevivência, na presença de outras espécies de caranguejo, foram significativamente menores que nas unidades experimentais onde foram liberadas apenas larvas de *U. cordatus*. Constatou-se que, dentre as espécies de caranguejo encontradas nas unidades experimentais, as do gênero *Uca* se correlacionaram de forma significativamente negativa com as taxas de sobrevivência de *U. cordatus*. O experimento demonstrou que a sobrevivência de megalopas de *U. cordatus* liberadas durante o processo de repovoamento pode ser afetada pela presença de outras espécies de caranguejo existentes no ambiente. Assim sendo, no futuro, novas estratégias, como a liberação de megalopas em cercados e até o cultivo de juvenis terão que ser desenvolvidas.

Palavras chave: Competição, repovoamento, caranguejo-uçá, *Uca*, zoea, megalopa.

## ABSTRACT

A series of experiments was carried through in the laboratory and field, with the objective of estimating the effect of intra and inter-specific competition on the survival rates of *Ucides cordatus* megalopae, cultivated in laboratory. In the first experiment, megalopae were released in 30 x 40 x 10 cm plastic trays with mangrove sediment at different densities: 10, 50 and 100 individuals per tray. After 5 days, the trays were screened. The greater percentage of burrows were excavated in the trays with treatment of 10 megalopae, however, the survival rates did not significantly differed among the treatments. The second experiment, the survival rates of megalopas of *U. cordatus* when in the presence of juveniles of the fiddler crab *Uca* were estimated. In an acclimatized room, 50 juveniles of *Uca* spp, with a carapace width between 1 and 2 mm, were released in half of 10 glass aquariums, filled with mangrove sediment. Other 5 aquariums set by side did not receive *Uca* juveniles. After flooding all aquariums with sea water at 25 of salinity and 25°C ( $\pm 1^\circ$  C) of temperature, 50 megalopae, cultivated in laboratory, were set free in each unit. Every day, the water of the aquariums was changed in a movement that simulated the cycle of tides. *artemia nauplii*, at densities of 0,5 ind. per ml, were released in all units. After 30 days, all aquariums were screened. In the aquariums with *Uca* spp, the survival rate of *U. cordatus* juveniles was significantly lower than the control treatment. In the last experiment of the series, survival rates of megalopae when in the presence of juveniles of other species were estimated in field experiments. 20 plastic boxes, with 100 liters of capacity, provided with large lateral openings, covered by screen of 300  $\mu$ m, were installed over the sediment in a protected mangrove area. 50 juveniles of different species of crab, with a carapace width between 1 and 2 mm, collected from the surroundings, were placed inside half of the boxes. During the nocturnal full tide, with all the boxes flooded, 100 megalopae of *U. cordatus*, produced in the laboratory, were set free in each unit. The boxes had been closed with a fine net covering to prevent the entrance of more crabs. The set up was kept for 3 months, at the end of which, the sediment of the boxes were screened and all the crabs collected. The survival rates, in the presence of other species of crab, were significantly lower when compared to the boxes where only *U. cordatus* larvae were released. Of all species of crabs, released in the treatment units, the genus *Uca* showed significant correlation with low survival rates observed for *U. cordatus*. The average of carapace width of *U. cordatus* juveniles in the treatment units was also significantly lower than the observed in the control units. The survival of megalopae of *U. cordatus* released during stock restoration programs could be negative affected by the presence of other species of crab present the sediment. Therefore, in order to enhance the chances of survival of the restocked *U. cordatus*, new strategy ranging from a small fenced areas or a second period cultivation, allowing the release of older and more competition tolerant stages, may be developed in the future.

Key words: Competition, stock restoration, enhancement, mangrove crab, *Uca*, zoea, megalopa.

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de uma tecnologia para repovoamento do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), vem sendo acompanhado com muito interesse pela comunidade científica, notadamente após o advento da Doença do Caranguejo Letárgico (DCL). Esta enfermidade vem dizimando populações inteiras de caranguejo-uçá nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil (Boeger *et al.* 2005; Schmidt, 2006) e, juntando-se aos outros fatores como a excessiva exploração e a destruição dos manguezais, ameaçam a estabilidade das populações desta espécie.

O litoral do Paraná tem sido, desde 2002, alvo de um programa institucional de repovoamento de *U. cordatus* patrocinado pelo Governo do Estado do Paraná. O projeto está centrado no contínuo desenvolvimento de uma tecnologia apropriada de repovoamento desta espécie, realizada através de liberações controladas de megalopas nos manguezais.

No entanto, a simples liberação de larvas diretamente no ambiente é considerada uma medida demasiadamente simplista para atingir o objetivo de recuperar populações de caranguejo em declínio, em função da grande complexidade das relações existentes entre as espécies e o ambiente em que vivem.

Uma série de características do ciclo de vida de invertebrados aquáticos tem implicações na estruturação das populações adultas. O entendimento das estratégias de acasalamento (Christy 1978), de liberação de larvas (Morgan 1990; Morgan & Christy 1994; Anger *et al.* 2004) e de recrutamento (Keough & Downes 1982; Roughgarden *et al.* 1988) são fundamentais para a manutenção dessas populações.

Ainda se sabe muito pouco a respeito da pressão que a predação e a competição inter e intra-específica exercem sobre formas imaturas de caranguejos. Porém, de uma maneira geral, a predação, mais que a competição, é considerada por diversos autores como a principal causa de mortalidades de larvas de invertebrados marinhos no momento da dispersão e, posteriormente, de recrutamento das mesmas (Thorson, 1950; Young & Chian, 1987; Olafsson *et al.*, 1994; Lindquist & Hay, 1996; Hunt & Scheibling, 1997).

No entanto, de acordo com Secor *et al.* (2002), a competição e até a predação por outros crustáceos foram os motivos que limitaram o sucesso dos trabalhos de repovoamento de caranguejos braquiúros, como *Callinectes sapidus* e *Portunus trituberculatus*. Estudos comprovaram que, enquanto as liberações foram realizadas com formas imaturas demasiadamente jovens, como a megalopa, a eficiência destes esforços foi muito baixa, pois a elevada pressão de predação reduzia as chances de sobrevivência dos recrutas (Ariyama, 2000).

Na etapa atual da tecnologia de repovoamento do caranguejo-uçá, as larvas são cultivadas desde a eclosão até atingirem o estágio de megalopa, que é o momento em que naturalmente ocorre o recrutamento para os habitats bentônicos.

A análise da efetividade dessas liberações é dificultada pelo fato de que a espécie é longeva e apresenta um ritmo de crescimento lento, demorando cerca de 7 anos para atingir o tamanho comercial de 6 cm de largura da carapaça (Ostrensky *et al.* 1995; Diele, 2000).

O presente estudo teve como objetivo quantificar as taxas de sobrevivência de megalopas de *U. cordatus* durante a fase de recrutamento, em condições experimentais de laboratório e de campo, e relacionar essas informações com os esforços de repovoamento.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Obtenção das megalopas**

Para a realização das larviculturas, fêmeas ovígeras de caranguejo-uçá foram coletadas nos manguezais do município de Guaratuba (25°52'S, 48°39'W), nos dias que antecederam às luas cheia e nova, e transportadas até o Laboratório de Pesquisas com Organismos Aquáticos (LAPOA). No laboratório, as fêmeas foram desinfetadas com solução de formol a 30 ppm por 15 minutos e transferidas para tanques de eclosão.

Após a eclosão, as larvas foram atraídas, com o uso de uma fonte luminosa, coletadas e transferidas para os tanques de larvicultura, preenchidos com água marinha na salinidade de 25 e temperatura de 25 ±1 ° C. Durante o cultivo, diferentes alimentos foram utilizados para cada estágio. Inicialmente, para o estágio de zoea I, foram fornecidas algas microscópicas móveis (*Tetraselmis gracilis*, 50 mil células por ml). A partir de zoea II, o rotífero *Brachionus plicatilis* (6 rotíferos por ml) foi adicionado à dieta e, a partir de zoea V, náuplios de artêmia (0,5 náuplios por ml). O cultivo larval teve a duração de cerca de 26 dias, desde a eclosão até o último estágio, megalopa. Neste momento, as larvas estavam aptas a serem utilizadas nos experimentos (para maior detalhamento do método padrão de larvicultura ver prefácio).

### **Experimento 1. Taxa de colonização de megalopas mantidas em diferentes densidades**

Bandejas plásticas retangulares (30 cm de largura, 40 cm de comprimento e 10 cm de altura) foram preparadas para receber as larvas. Em cada uma delas foi adicionado sedimento, com composição granulométrica ajustada para obtenção da melhor taxa de colonização, isto é, 80 % de lodo e 20% de areia (ver capítulo VII, da presente tese). O sedimento foi distribuído uniformemente nas bandejas, de forma a cobrir todo o fundo, até uma altura de cinco centímetros.

As bandejas foram preenchidas com água marinha, na salinidade de 25 e em temperatura em torno de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{ C}$ . Cada bandeja era dotada de um sistema de drenagem que permitia o esgotamento total da água nela contida, de forma a simular o ciclo de marés.

As bandejas foram dispostas lado a lado sobre um estrado de madeira, afastado da luz solar direta, no interior do LAPOA. As megalopas foram contadas e liberadas nas bandejas na quantidade de 10, 50 e 100 larvas por bandeja, ou o equivalente a 83,3, 416,7 e 833,3 larvas/m<sup>2</sup>. Cada tratamento contou com 5 réplicas, totalizando 15 unidades experimentais.

O experimento foi realizado durante 5 dias. Após este período, o número de tocas presente em cada unidade experimental foi anotado. Em seguida, o sedimento foi peneirado para análise de sobrevivência das megalopas. Os dados relativos ao número de megalopas vivas, mortas e o número de tocas contabilizadas foram tratados estatisticamente através de ANOVA. Foi utilizado o teste “a *posteriori*” de Bonferroni quando as diferenças entre os dados se revelaram significativas.

### **Experimento 2. Taxa de sobrevivência de megalopas de *U. cordatus* na presença de juvenis de *Uca* spp.**

Foram instalados 10 aquários (60 cm de comprimento, 40 cm de largura e 20 cm de altura), providos com um sistema de drenagem individual de água, tendo sedimento de manguezal, com composição granulométrica ajustada (80% lodo e 20% areia), como substrato. A água marinha na salinidade de 25 e temperatura constante de  $25 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{ C}$ , era distribuída através de um sistema de abastecimento também individual (Figura 53).

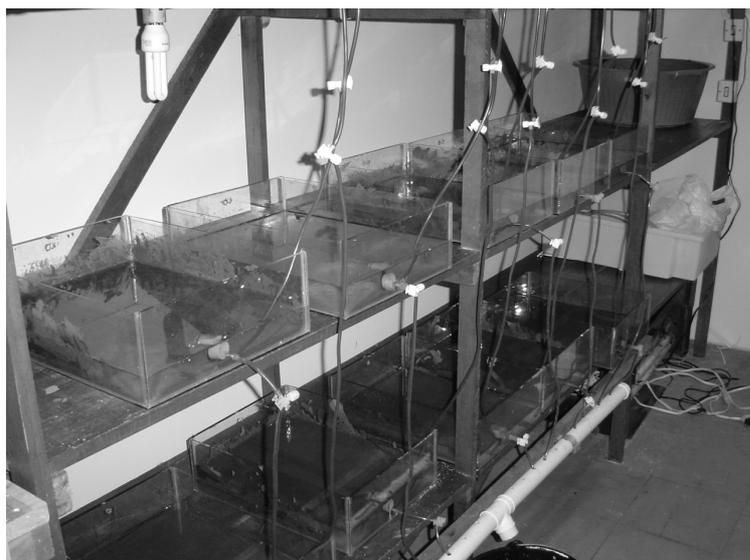


Figura 53. Estrutura experimental montada para a realização dos experimentos. À direita, detalhes do aquário e da simulação de maré: (a) maré cheia, (B) maré baixa.

Caranguejos de várias espécies e tamanhos foram coletados no manguezal existente no entorno do Centro de Operações Costeiras (C.O.C. - Instituto Ecoplan), em Guaratuba, PR (ver prefácio para maior detalhamento do local de experimentação em campo). A seguir, foram transportados até o LAPOA, onde indivíduos do gênero *Uca* (vulgarmente conhecidos como "chama-marés"), com largura de carapaça de 1 a 2mm, foram selecionados. Estes caranguejos foram distribuídos em cinco aquários, ainda sem água, para que cavassem suas tocas e se estabelecessem no sedimento. Estes aquários foram considerados como "tratamento", ao passo que os que não foram colonizados por *Uca*, como "controle".

Em seguida, os aquários foram preenchidos com água marinha. Megalopas de *U. cordatus* produzidas em larga escala no LAPOA (vide prefácio para detalhes sobre a metodologia empregada), foram retiradas dos tanques de cultivo, contadas e distribuídas, na quantidade de 50 indivíduos em cada aquário. Quatro horas mais tarde, todos os aquários foram completamente drenados. A partir deste ponto, todas as bandejas passaram a ser submetidas a duas trocas diárias de água, simulando-se o ciclo de marés semidiurnas, características do litoral paranaense.

Após 30 dias de experimento, os aquários foram completamente drenados e o sedimento passou por triagem. Todos os caranguejos encontrados foram fixados e posteriormente identificados.

### **Experimento 3. Taxa de sobrevivência de megalopas obtidas em simulação a campo**

Foram instaladas unidades experimentais no Centro de Operações Costeiras (C.O.C. - Instituto Ecoplan), localizado na comunidade do Cabaraquara, Município de Guaratuba, PR (25°49'51,78"S, 48°34'43,99"W) (Para maiores detalhes do local do experimento ver prefácio) (Figura 54).

As unidades foram construídas à partir de caixas-d'água plásticas de 100 litros, nas quais foram feitas aberturas laterais teladas que permitiam a entrada e saída d'água durante o ciclo de marés, mas que impediam a saída das larvas. O fundo das caixas foi preenchido com sedimento de manguezal peneirado e a relação de lodo e areia ajustada para 80% : 20% (ver capítulo VII da presente tese), até a altura de 10 cm.



Figura 54. Cercados experimentais instalados na área de manguezal do Centro de Operações Costeiras (C.O.C. - Instituto Ecoplan).

Da mesma maneira como foi descrito para o Experimento 2, uma amostra de juvenis de caranguejos de várias espécies foi coletada no manguezal adjacente à área experimental. Em laboratório, foram selecionados aqueles caranguejos que possuíam entre 1 a 2mm de largura de carapaça. Cinquenta caranguejos foram distribuídos em cada uma das 10 caixas consideradas como tratamento. Os juvenis foram liberados nas caixas ainda sem água, permitido que eles cavassem suas tocas e se estabelecessem no sedimento. Por uma questão logística, naquele momento não foi realizada nenhuma tentativa de identificação das espécies que compunham o grupo que seria utilizado nas caixas tratamento. Optou-se por realizar a identificação dos remanescentes das caixas ao final do experimento.

No dia seguinte, 2.000 mil megalopas foram retiradas dos tanques de cultivo do LAPOA, em Curitiba, e acondicionadas em sacos plásticos com 100 larvas cada. Cada saco recebeu 10 litros de água retirada do tanque de cultivo e, após a transferência das larvas, foram preenchidos com cerca de 5 litros de oxigênio puro. Os sacos contendo as megalopas foram transportados até o manguezal e as larvas de cada saco liberadas nas respectivas unidades experimentais, poucos minutos antes da inundação do sedimento pela subida da maré. Em seguida, as unidades experimentais foram lacradas com tampa telada e mantidas no local por um período de 90 dias.

Após esse período, foram realizados os trabalhos de retirada das unidades experimentais do manguezal e de triagem do sedimento. Essa, por sua vez, foi realizada com auxílio de uma pequena betoneira e de peneiras. Foram usadas duas peneiras, comumente empregadas na construção civil, para separar o material sólido do líquido. A primeira peneira, de malha mais grossa, separou os galhos e pedras, que eventualmente poderiam obstruir a saída da caixa de filtragem. A segunda peneira efetivamente reteve os caranguejos adultos e juvenis (Figura 55).



Figura 55. Etapas da triagem utilizando a peneira fina para retenção dos caranguejos: dissolução dos agregados de sedimento na betoneira (esquerda) e eliminação do sedimento fino (direita).

Cada unidade experimental foi triada individualmente. Foram recolhidos todos os caranguejos encontrados durante a triagem, pertencentes ou não à espécie cultivada. Este material biológico foi transportado para o LAPOA, em Curitiba, onde os caranguejos foram identificados, medidos e contados.

## RESULTADOS

### Experimento 1. Taxa de colonização de megalopas mantidas em diferentes densidades

O número absoluto de tocas cavadas pelas megalopas de *U. cordatus* teve relação direta com o número de larvas liberadas em cada bandeja. Nas bandejas do tratamento 10 (10 megalopas por bandeja), foram observadas 8,2 tocas, em média. Naquelas de 50, 33,2 tocas e nas de 100, 46,4 tocas (Figura 56). Porém, o número de tocas nas bandejas de menor densidade (tratamento 10) foi proporcionalmente maior do que naquelas de maior densidade (tratamento 100) ( $p < 0,05$ ).

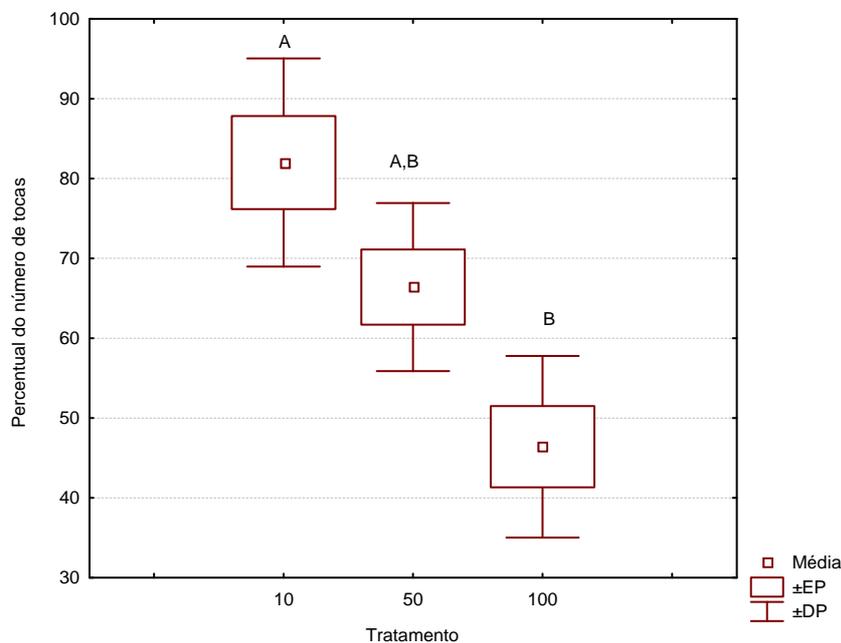


Figura 56. Percentual de tocas de megalopa contabilizadas em relação à quantidade de larvas liberadas nos três tratamentos (diferentes números de larvas por bandeja). As letras representam grupos homogêneos agrupados através de teste *a posteriori* de Bonferroni.

Neste experimento, foi realizada a contagem tanto do número de larvas vivas quanto de mortas, para evitar erros eventualmente causados pelo próprio processo de triagem. As diferenças entre os números relativos de megalopas vivas ou mortas, entre os tratamentos, no entanto, não foi significativa (Figura 57). No entanto, devido possivelmente a rápida decomposição a que estão sujeitas, não foram encontradas muitas megalopas mortas durante as triagens.

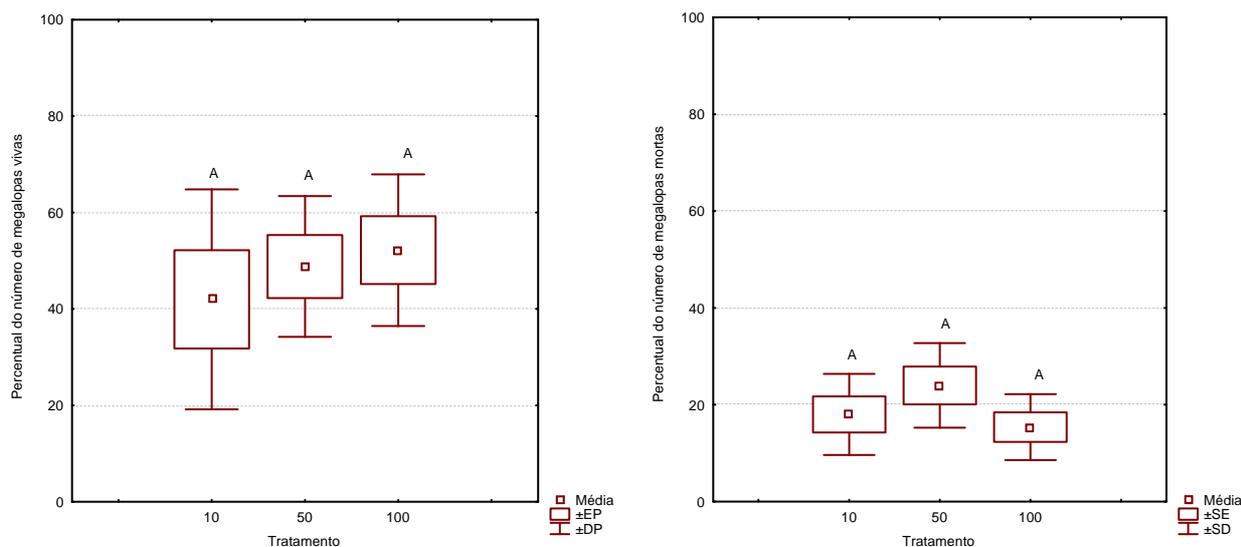


Figura 57. Percentual do número de megalopas vivas e mortas encontradas após a triagem final do experimento, em relação à quantidade de larvas liberadas em cada tratamento.

### Experimento 2. Taxa de sobrevivência de megalopas de *U. cordatus* na presença de juvenis de chama-marés *Uca* spp.

A maioria das tocas presentes nos aquários, tanto no grupo tratamento (onde foram adicionados os caranguejos do gênero *Uca*), quanto no grupo controle (apenas megalopas de *U. cordatus* foram liberadas), foram cavadas em menos de 3 dias.

Observou-se em todos os tratamentos que a cada elevação do nível da água, durante o manejo diário, uma quantidade de megalopas deixava o sedimento e voltava à coluna d'água. Após 10 dias, apenas uma pequena quantidade de megalopas (2 a 5 indivíduos por aquário, em média) ainda era visível fora das tocas.

Ao final do experimento, a triagem do sedimento revelou que nos aquários dos tratamentos onde foram liberadas megalopas sem a presença de outras espécies, em média 5 das 50 larvas liberadas sobreviveram. Já no tratamento onde indivíduos do gênero *Uca* foram previamente acondicionados foi observada uma taxa de sobrevivência média de 2,4% (Figura 58). Para comparar os dados referentes aos dois tratamentos, foi utilizado o teste "U" de Mann-Whitney, após a confirmação, através do teste de Shapiro-Wilk, de que os dados não se adequavam a uma curva normal. A diferença foi considerada significativa ( $p < 0,05$ ).

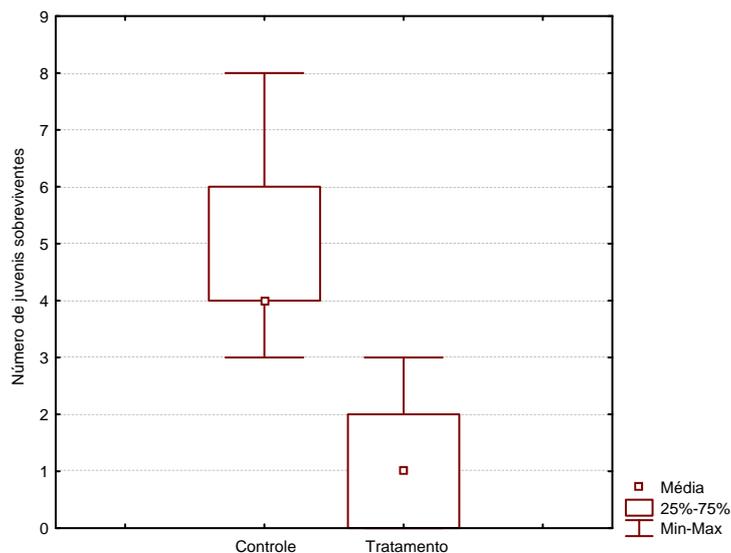


Figura 58. Número de juvenis de *U. cordatus* sobreviventes nos aquários sem (Controle) e com (Tratamento) a presença de *Uca* spp. após 30 dias de colonização pelas megalopas. Teste de Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ).

### Experimento 3. Taxa de sobrevivência de megalopas na presença de outras espécies obtidas em simulação a campo.

Uma expressiva quantidade de juvenis de *U. cordatus* foi capturada durante as triagens na maioria das unidades experimentais (Figura 59). Os caranguejos triados encontravam-se em boas condições, não tendo sido nem mesmo observadas lesões em decorrência do método de triagem.



Figura 59. Coleta de caranguejos recolhidos do sedimento das unidades experimentais.

Foram encontradas duas espécies diferentes de caranguejos do gênero *Uca*, *Uca thayeri* e *U. uruguayensis* que, para fins de análise, foram agrupadas como *Uca* spp. Também foi encontrada uma espécie de caranguejo da família Xanthidae, possivelmente, *Eurytium limosum*. Porém, devido à dificuldade de se identificar juvenis, uma vez que não possuem ainda todos os caracteres morfológicos do adulto, o grupo foi considerado como Xanthidae para fins de análise. Por fim, foram encontrados vários indivíduos da espécie do caranguejo arborícola *Aratus pisonii* (Figura 60).

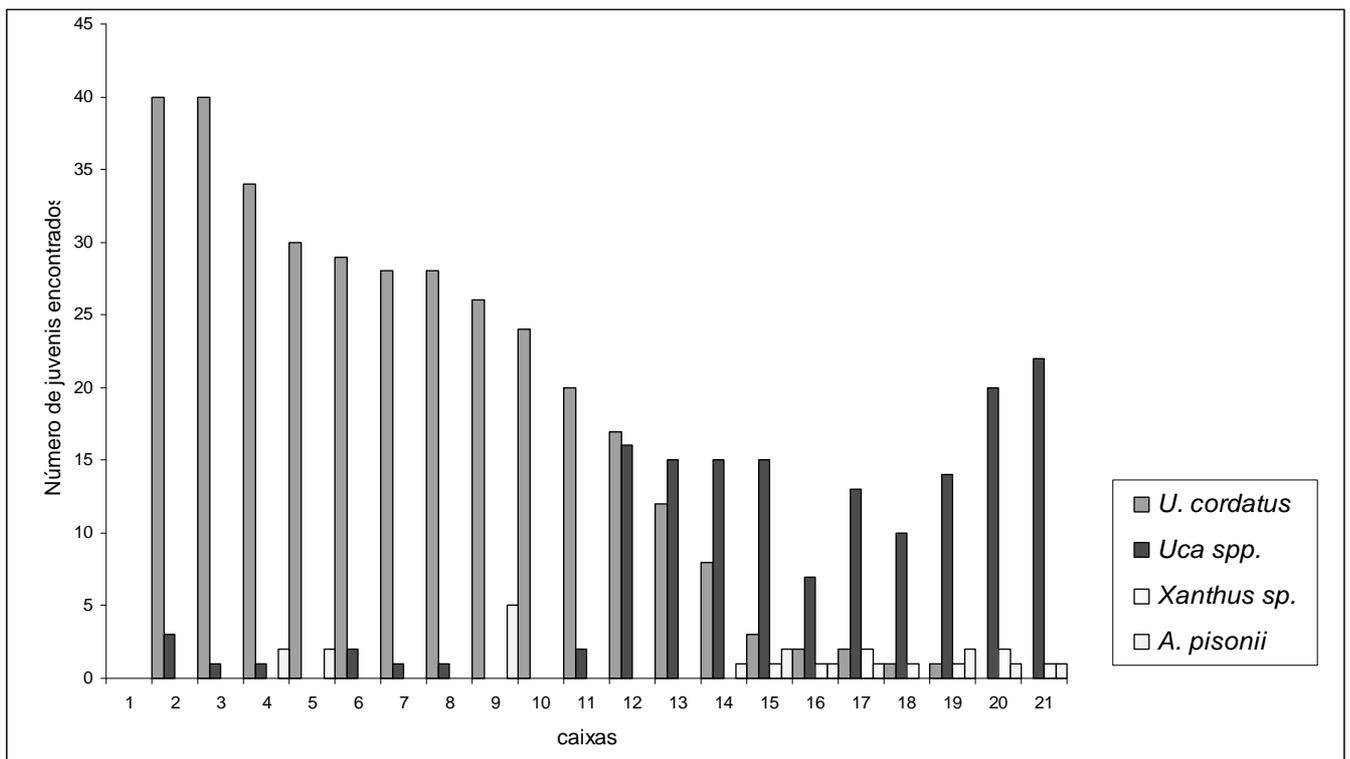


Figura 60. Juvenis de *U. cordatus* encontrados 90 dias após a liberação de 100 megalopas por unidade experimental. Caixas de 1 a 10: grupo controle, onde não foram previamente estocadas outras espécies de caranguejos; caixas de 11 a 21: tratamento, onde foram previamente estocadas outras espécies de caranguejos.

Alguns caranguejos, notadamente do gênero *Uca* e da espécie *Aratus pisonii*, foram encontrados durante as triagens nas caixas controle. Estes indivíduos provavelmente conseguiram penetrar através de imperfeições no vedamento das caixas. Porém, seu número foi pequeno e não há indício de que tenha comprometido os resultados obtidos.

A sobrevivência média, nas caixas sem juvenis de outras espécies de caranguejo foi de 29,9%, enquanto nas caixas com a presença destes, a sobrevivência foi menor ( $P < 0,05$ ), 4,6 %.

A largura média da carapaça dos juvenis de *U. cordatus* presentes no controle (3,3 mm) foi significativamente maior que a largura média da carapaça (2,8 mm) dos juvenis

presentes nas unidades experimentais onde haviam sido estocadas outras espécies de caranguejos (Figura 61).

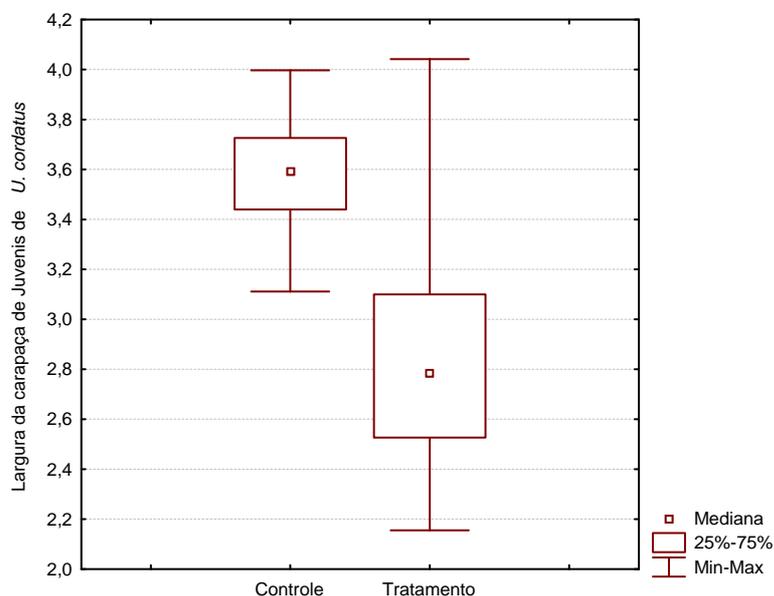


Figura 61. Diferença entre as larguras médias de carapaça de juvenis de *U. cordatus* nas unidades experimentais tratamento e controle. Teste de Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ).

Foi utilizada a correlação para dados ranqueados de Spearman  $r$  para analisar a influência dos grupos como um todo. A análise de correlação de Spearman revelou-se elevada e significativa ( $r = -0,78$ ,  $p < 0,05$ ).

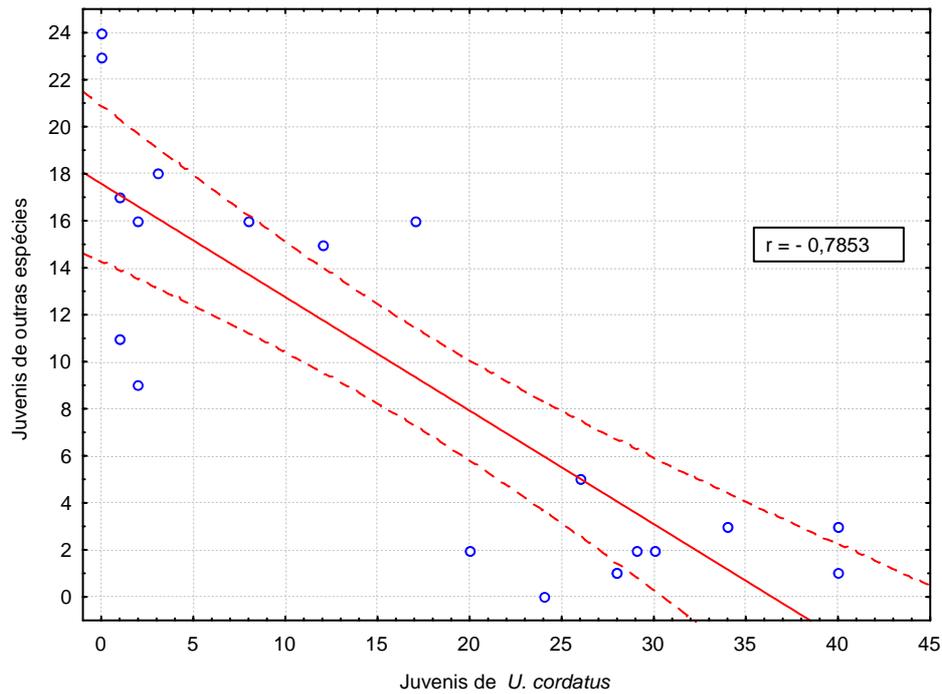


Figura 62. Correlação entre o número de indivíduos de *U. cordatus* e de outras espécies triadas nas caixas experimentais (Spearman  $r = - 0,78$ ). Linhas traçadas representam intervalo de confiança (95%).

Não foi possível isolar os efeitos que cada grupo de indivíduos de outras espécies exerceu sobre a taxa de sobrevivência de juvenis de *U. cordatus*. Tendo em vista os coeficientes de determinação somente com *Uca* spp. e deste somado a todas as demais espécies (*A. Pisonii* e os xantídeos, respectivamente), pode-se notar que 89,18% da variância na análise combinada é resultante somente da influência de *Uca* spp.

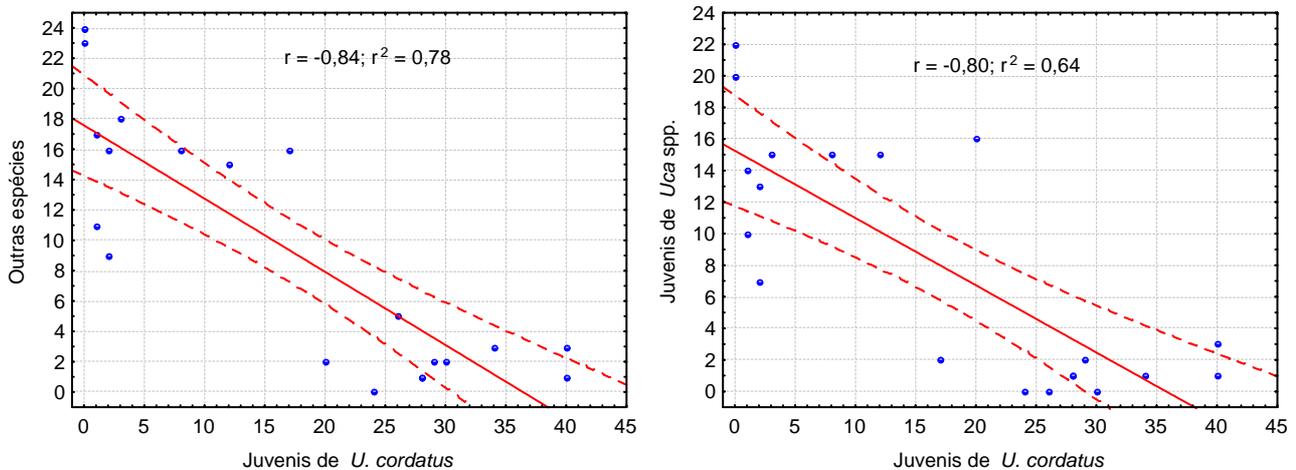


Figura 63. Índice de determinação de Pearson  $r^2$ . A esquerda, o número de Juvenis de todas as espécies comparado com o número de juvenis de *U. cordatus* encontrados no experimento. A direita, o mesmo índice aplicado apenas para o número de juvenis de *Uca* spp. no mesmo experimento.

## DISCUSSÃO

A existência de padrões rítmicos para a eclosão e liberação de larvas planctônicas de crustáceos pode ser considerada como uma das estratégias utilizadas para reduzir a pressão de predação. Estes padrões estão normalmente relacionados aos ciclos naturais, como o lunar e o de fotoperíodo (Forward, 1988; Morgan, 1995). Grande parte dos caranguejos verdadeiros, pertencentes à infraordem Brachyura, apresenta um ciclo lunar de liberação de larvas. Neste tipo de estratégia reprodutiva, as larvas eclodem normalmente durante a noite e em momentos próximos à preamar (Santarosa-Freire, 1998).

Segundo Christy (2003), este padrão reprodutivo seria uma estratégia anti-predação. A eclosão no período noturno dificultaria a identificação visual das larvas por parte dos predadores (Ziegler & Forward, 2005). Além disso, a sincronia das eclosões criaria o chamado "swamp effect" que tem a capacidade de confundir os predadores pela grande quantidade de presas em fuga (Paula, 1989). A sincronização com o momento da preamar maximiza as chances das larvas serem transportadas até as áreas costeiras mais profundas, onde a quantidade de predadores é menor (Forward, 1988; Morgan, 1995).

Após o assentamento da megalopa no substrato, as competições inter e intraespecífica, e até mesmo o canibalismo, passam a contribuir significativamente na regulação e estruturação das populações de caranguejos e siris, como observado em experimentos em campo realizados com *Callinectes sapidus* (Ruiz *et al.*, 1993; Hines & Ruiz, 1995; Smith, 1995), *Cancer magister* (Fernandez *et al.*, 1993; Botsford & Hobbs, 1995; Eggleston & Armstrong, 1995), *Hemigrapsus penicillatus* (Kurihara & Okamoto, 1987), *Chionoecetes opilio* (Lovrich & Sainte-Marie, 1997) e *Carcinus maenas* (Moksnes *et al.*, 1998, Moksnes, 1999). O canibalismo foi considerado, por alguns pesquisadores, como a principal causa das reduzidas taxas de sobrevivência larval observadas naturalmente em várias espécies de caranguejo (Baylon & Failaman, 1999; Aileen *et al.*, 2000).

Segundo Zmora *et al.* (2005), o canibalismo dos juvenis sobre as megalopas tem sido a razão que limita o sucesso dos cultivos realizados em berçários intensivos de uma série de espécies de caranguejos e siris. De uma forma geral, a influência da competição intra-específica na regulação das populações é tida como mais expressiva que a competição por espécies diferentes. Diele (2000) sustenta que o padrão de zonação por tamanho e idade observado nos manguezais do Pará é resultado do deslocamento de indivíduos jovens para áreas mais altas do manguezal devido à competição intraespecífica com adultos. Nordhaus (2003) registrou casos de competição intraespecífica de *U. cordatus* por tocas e alimento.

No entanto, no caso da megalopa desta espécie, o canibalismo não parece ser o fator mais importante de regulação populacional, pois, além da quantidade destas larvas no

plâncton ser relativamente pequena (ver capítulo V, da presente tese), desde muito cedo, elas são capazes de cavar seu próprio refúgio (ver capítulo VII, da presente tese). No experimento 1, que teve duração de apenas 5 dias e, portanto, envolveu apenas o estágio de megalopa, não foram observadas diferenças entre as taxas de sobrevivência ou a mortalidade, na maior densidade testada. Souza (2006), através de ensaios experimentais, também demonstrou que os índices de canibalismo entre megalopas desta espécie são relativamente baixos e observou que a presença de refúgios reduz ainda mais este fenômeno.

Por outro lado, os resultados do experimento 1 também demonstraram um efeito significativo da competição entre as megalopas de *U. cordatus* na procura de um local adequado para cavar suas tocas. As bandejas de menor densidade apresentaram uma abundância relativa significativamente maior de tocas que a observada naquelas de maior densidade, indicando uma possível disputa por espaço. Estes resultados corroboram a observação de Almeida (2005), para quem a distância de deslocamento de *U. cordatus* para forrageio fora das tocas é regulada pela presença de outras tocas. Para fins de repovoamento, no entanto, os números absolutos obtidos no tratamento 100 parecem ser mais vantajosos, já que, para uma mesma área, foram obtidas 46,4 tocas, sendo encontradas mais de 50 megalopas vivas (contra 8,2 tocas e 8 megalopas vivas no tratamento 10).

Diele (2000), trabalhando com megalopas liberadas em cercados, observou que após a metamorfose para o estágio juvenil, os indivíduos desta espécie são raramente vistos sobre o sedimento. Se este é o caso, a competição intra-específica nesta fase da vida do caranguejo-uçá deve se restringir à escolha do melhor ponto no sedimento para o seu assentamento, sendo raros os momentos em que ocorre o encontro entre juvenis desta mesma espécie.

Na região onde os experimentos foram realizados, caranguejos do gênero *Uca* são seguramente os mais abundantes (Masunari, 2006). Por não terem qualquer valor comercial e, por isso, não sofrerem qualquer pressão de captura, sua abundância faz com que estes caranguejos sejam fundamentais na regulação populacional de diversas espécies de braquiúros, incluindo *U. cordatus*. Somente para os adultos da espécie *Uca leptodactyla*, foi estimada uma densidade de até 240 indivíduos/m<sup>2</sup> (Masunari, 2006).

Desta forma, as larvas destas espécies criariam uma proteção ao recrutamento de outras, inclusive do *U. cordatus*, ao confundir os predadores com a sua presença maciça. No entanto, após o seu assentamento, os caranguejos *Uca* passam a competir diretamente por espaço e alimento com juvenis de outras espécies existentes sobre o sedimento. Geralmente, os indivíduos do gênero *Uca* são bastante precoces, atingindo a maturidade em cerca de alguns meses até dois anos (ver Masunari 2005, para revisão). São, também,

bastante ativos sobre o sedimento, onde se alimentam da microfauna bêntica presente na lama.

Os primeiros estágios juvenis de *U. cordatus* apresentam diversas desvantagens competitivas em relação a outros caranguejos do manguezal, notadamente os do gênero *Uca*, durante o período de recrutamento e de colonização inicial do sedimento dos manguezais. Os resultados do Experimento 2 do presente estudo indicaram que a competição interespecífica interfere negativamente na sobrevivência das larvas liberadas como megalopa e reduz a taxa de crescimento dos juvenis. Isto está diretamente relacionado com as características biológicas dos juvenis de *Uca* spp. mencionadas no parágrafo anterior.

Sendo o caranguejo-uçá o maior caranguejo dos manguezais, poucas espécies ameaçam sua existência por predação. Porém, até chegar a um tamanho adulto ele deverá competir, em cada etapa de sua vida, com diversas espécies que também disputam o espaço e o alimento disponível nos manguezais.

Os resultados do Experimento 3 do presente estudo demonstraram os efeitos negativos da presença de caranguejos de outras espécies sobre as megalopas de *U. cordatus*. Entre os três grupos testados, o maior efeito relativo foi provocado pela presença de caranguejos da família Xanthidae. No entanto, devido a sua baixa abundância relativa no experimento, não se pode descartar a possibilidade deste resultado ter sido obtido ao acaso.

O resultado observado para o grupo do *A. pisonii*, cuja presença não influenciou significativamente sobre as taxas de sobrevivência de *U. cordatus*, biologicamente parece fazer mais sentido, uma vez que esta espécie é arborícola, e, portanto, pouco comum sobre o sedimento. Essa espécie, por apresentar hábitos herbívoros, provavelmente compete em um nicho diferente do *U. cordatus*.

Por fim, a abundância de *Uca* spp. nas unidades experimentais reflete sua prevalência no ambiente em questão, de onde foram coletados os caranguejos estocados no tratamento. Além de sua abundância, foram notórios os efeitos negativos provocados pela presença de indivíduos do gênero *Uca* sobre a abundância de *U. cordatus*.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que *U. cordatus*, quando liberado no manguezal na fase de megalopa, mesmo com todas as restrições ambientais e diante da relativa escassez de recursos alimentares, é capaz de atingir taxas de sobrevivência que podem ser consideradas satisfatórias, para os objetivos traçados em programas de repovoamento. Entretanto, apesar da liberação de larvas no estágio de megalopa ser perfeitamente factível, tecnicamente viável e, até mesmo, logisticamente mais desejável (ver capítulo VII, da presente tese), é bastante provável que no futuro a tecnologia de repovoamento de caranguejo-uçá passe a envolver um segundo estágio de cultivo, que permita que a larva sofra a metamorfose para a fase juvenil antes de ser definitivamente

liberada no ambiente. Desta maneira, o juvenil de caranguejo-uçá teria condições mais adequadas de competir com os juvenis e até mesmo adultos de outras espécies que já estiverem presentes no sedimento, aumentando assim sua chance de sobrevivência no ambiente onde foi liberado.

No entanto, ainda não existe tecnologia desenvolvida para a liberação de juvenis de *U. cordatus* na natureza. Os juvenis se refugiam em tocas, de onde raramente saem, o que dificulta sobremaneira a sua coleta, transporte e liberação nas áreas-alvo. Além disso, as áreas requeridas para se promover o assentamento e a metamorfose das megalopas é proporcionalmente muito extensa, impossibilitando a realização dessa etapa do trabalho em laboratório.

Assim sendo, até que o conhecimento científico avance solidamente nesta direção, a liberação de megalopas de *U. cordatus* em áreas protegidas (cercados, por exemplo) ou até mesmo, diretamente na água, em regiões próximas ao talude do manguezal durante a subida das marés de sizígia, podem ser consideradas as formas mais adequadas de liberação, sendo a adoção de tal metodologia tecnicamente justificável.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGER, K., LOYRICH, G., HATJE, S. & J. CALCAGNO. Larval and early juvenile development of *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Decapoda: Anomura: Lithodidae) reared at different temperatures in the laboratory. *Journal of experimental marine biology and ecology*, v. 306, pp. 217- 230. 2004.
- AILEEN, T. S., ZULFIGAR, B. H. Y., FUJII, Y., FUKUDA, T. & M. TERAZAKI. Culture of Japanese blue crab (*Portunus trituberculatus*). JSPS/UCC Report. The Center for International Cooperation, The Ocean Research Institute, Universidade de Tokyo. 2000.
- ALMEIDA, R. Ecologia de manguezais: Dinâmica da serrapilheira e funcionamento do ecossistema, Ilha do Cardoso, Cananéia, São Paulo, Brasil. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 183 Pp. 2005.
- ARIYAMA, H. Studies on ecology and stock enhancement of swimming crab *Portunus trituberculatus* in Osaka Bay. *Bulletin of the Osaka Prefecture Fisheries Experimental Station*, v. 12, pp. 1 - 90. 2000.
- BAYLON, J. C & A. N. FAILAMAN. Larval rearing of mud crab *Scylla serrata* in the Philippines. 1999. Pages 141-146 in: *Mud crab Aquaculture and Biology*. Keenan, C.P.; Blackshaw, A. W. Australia. Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin. Brisbane. ACIAR proceedings no. 78. Watson Ferguson and Company, Australia. 1999.

- BOEGER, W. A.; PIE, M. R.; OSTRENSKY, A.; PATELLA, L. Lethargic crab disease: multidisciplinary evidence supports a mycotic etiology. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Brazil 100. v.2, p.161-167. 2005.
- BOTSFORD, L. W. & R. C. HOBBS. Recent advances in the understanding of cyclic behavior of Dungeness crab (*Cancer magister*) populations. *ICES. Marine Science Symposia*. v. 199, p.157-166. 1995.
- CHRISTY, J. H. Adaptive significance of reproductive cycles in the fiddler crab *Uca pugilator*: A hypothesis. *Science*, v. 199, n. 4327, pp. 453-455. 1978.
- CHRISTY, J. H. Sincronía reproductiva y de dispersión larval en cangrejos intermareales: la hipótesis anti-depredador. *Revista Chilena de Historia Natural*. v. 76, p. 177-185. 2003.
- DIELE, K. Life history and population structure of the exploited mangrove crab *U. cordatus* (L.) (Decapoda: Brachyura) in the Caeté estuary, North Brazil. Doctor's thesis. Zentrum für Marine Tropenökologie, Universität Bremen, Bremen, Germany. 103 pp. 2000.
- EGGLESTON, D. B & D. A. ARMSTRONG. Pre and Post-Settlement Determinants of Estuarine Dungeness Crab Recruitment. *Ecological Monographs* v. 65(2), p.193-216. 1995.
- FERNANDEZ, M., ARMSTRONG, D. & O. IRIBARNE. First cohort of young-of-the-year dungeness crab, *Cancer magister*, reduces abundance of subsequent cohorts in intertidal shell habitat. *Canadian journal of fisheries and aquatic science*, v. 50, pp. 2100-2105. 1993.
- FORWARD, R. B. Jr. Larval release rhythms of decapod crustaceans: an overview. *Bulletin of Marine Science*. v. 41, p. 165-176. 1988.
- HINES, A. H. & G. M. RUIZ. Temporal variation in juvenile blue crab mortality: Nearshore shallows and cannibalism in Chesapeake Bay. *Bulletin of Marine Science*. v. 57, no.3, p.884-901. 1995.
- HUNT, H. L. & R. E. SCHEIBLING. Role of early post-settlement mortality in recruitment of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*. v. 155, p. 269-301. 1997.
- KEOUGH, M. J. & DOWNES, B. J. Recruitment of marine invertebrates: the role of active larval choices and early mortality. *Oecologia*, v. 54(3), pp. 348-352. 1982.
- KURIHARA, Y & K. OKAMOTO. Cannibalism in a grapsid crab, *Hemigrapsus penicillatus*. *Marine Ecology Progress Series*. v. 41, no.2, p.123-127. 1987.
- LINDQUIST, N. & M. E. HAY. Palatability and chemical defense of marine invertebrate larvae *Ecological Monographs*. v. 66, no. 4, p. 431-450. 1996.
- LOVRICH G. A & B. SAINTE-MARIE. Cannibalism in the snow crab, *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius) (Brachyura: Majidae), and its potential importance to recruitment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. v.211, no.2, p.225-245. 1997.
- MASUNARI, S. Distribuição e abundância dos caranguejos *Uca* (Leach) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. *Revista brasileira de zoologia*, Curitiba, v. 23(4), pp. 901-914. 2006.

- MASUNARI, S., DISSENHA, N., FALCÃO, R.C. Crescimento relativo e destreza dos quelípodos de *Uca maracoani* (Latreille) (Crustacea Decapoda Ocypodidae) no Baixio Mirim, Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. Revista no Baixio Mirim, Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia, Curitiba, 22 (4): 974-983. 2005.
- MOKSNES, P. O., PIHL, L. & J. VAN MONTFRANS. Predation on post-larvae and juveniles of the shore crab *Carcinus maenas*: importance of shelter, size and cannibalism. Marine ecology progress series, v. 166, pp.211-225. 1998.
- MOKSNES, P. O. Recruitment regulation in juvenile shore crabs *Carcinus maenas*: Importance of intraspecific interactions in space limited refuge habitats. Sweden. Tese (PhD). Goteborg University. 1999.
- MORGAN, S. G. Impact of planktivorous fishes on dispersal, hatching and morphology of estuarine crab larvae. Ecology. v. 71, p. 1639-1652. 1990.
- MORGAN, S. G. Life and death in the plankton: Larval mortality and adaptation. Ecology of marine invertebrate larvae (McEdward, L. ed.), pp. 279-321. CRC Press, Boca Raton, FL. 1995.
- MORGAN, S. G. The timing of larval release. p. 157-191 in: Ecology of marine invertebrate larvae. McEdward, L. Boca Raton, Florida CRC Press. 1995.
- MORGAN, S. G., CHRISTY, J. H. Plasticity, constraint, and optimality in reproductive timing. Ecology, v. 75(8), pp. 2185-2203. 1994.
- NORDHAUS, I. Feeding ecology of the semi-terrestrial crab *Ucides cordatus cordatus* (Decapoda:Brachyura) in a mangrove forest in northern Brazil. Tese de Doutorado, Universidade de Bremen, Alemanha, 217pp. 2003.
- OLAFSSON, E. B.; PETERSON, C. H.; AMBROSE, W. G. JR. Does recruitment limitation structure populations and communities of macro-invertebrates in marine soft sediments: The relative significance of pre- and post-settlement process. Oceanography and Marine Biology: an annual review. v. 32, p. 65-109. 1994.
- OSTRENSKY, A., U. S. STERNHAIN, E. BRUN, F. X. WEGBECHER & D. PESTANA. Technical and economic feasibility analysis of the culture of the land crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) in Paraná coast, Brazil. Arq. Biol. Technol. V. 38, nº 3, pp 939-947. 1995.
- PAULA, J. Rhythms of larval release of decapod crustaceans in the Mira Estuary. Portugal. Mar.Biol. 100:309-312. 1989.
- ROUGHGARDEN, J., GAINES, S. & H. POSSINGHAM, H. Recruitment dynamics in complex life cycles. Science, v. 241(4872), pp. 1460-1466. 1988.
- RUIZ, G. M.; HINES, A. H.; & M. H. POSEY. Shallow water as a refuge habitat for fish and crustaceans in non-vegetated estuaries: an example from Chesapeake Bay. Marine Ecology Progress Series. v. 99, p.1-16. 1993.

- SANTAROSA-FREIRE, A. Dispersão larval do caranguejo do mangue *Ucides cordatus* em manguezais da Baía de Paranaguá, Paraná. Tese de Doutorado. Doutorado em Oceanografia (Oceanografia Biológica) da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1998.
- SCHMIDT, A. J. Estudo da dinâmica populacional do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus cordatus* (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA-DECAPODA-BRACHYURA), e dos efeitos de uma mortalidade em massa desta espécie em manguezais do Sul da Bahia. Dissertação de mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, pp. 199. 2006.
- SECOR, D. H., HINES, A. H. & A. R. PLACE. Japanese hatchery-based stock enhancement: lessons for the Chesapeake Bay blue crab. Maryland Sea Grant publication, N.1, 62pP. 2002.
- SOUZA, R. V. Canibalismo e assentamento de formas jovens de caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (L.) (Crustácea, Brachyura, Ocypodidae), em condições de laboratório. Curitiba, Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, pp. 39. 2006.
- SMITH, L. D. Effects of limb autotomy and tethering on juvenile blue crab survival from cannibalism Marine ecology progress series. v. 116(1-3), p.65-74. 1995.
- THORSON, G. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. Biological Reviews. v. 25, p. 1-45. 1950.
- YOUNG, C. M. & F. S. CHIAN. Abundance and distribution of pelagic larvae as influenced by predation, behavior and hydrographic factors. p. 385-463 in Reproduction of marine invertebrates. Giese, A. C.; Pearse, J. S.; Pearse, V. B. v. 9. 1987.
- ZIEGLER, T. A & R. B. FORWARD, JR. Larval Release Rhythm of the Mole Crab *Emerita talpoida*. Biological Bulletin. v. 209, p. 194-203. 2005.
- ZMORA, O., FINDIESEN, A., STUBBLEFIELD, J., FRENKEL, V. & Y. ZOHAR. Large-scale juvenile production of the blue crab *Callinectes sapidus*. Aquaculture, V. 244, Pp. 129-139. 2005.

### **O ESTABELECIMENTO DE UMA TECNOLOGIA BÁSICA PARA A LARVICULTURA DO *UCIDES CORDATUS*.**

Os experimentos descritos na presente tese foram escolhidos dentre uma série bastante ampla, que vem sendo realizada desde as primeiras tentativas de cultivo larval do *U. cordatus*, em 2001, no Espírito Santo. Mais do que uma motivação acadêmica, estes experimentos têm tido sempre um cunho prático e assim, vêm sendo desenhados de maneira a responder questões objetivas, que ajudem no desenvolvimento da tecnologia de produção e liberação de larvas da espécie no ambiente.

Os primeiros passos foram na direção do estabelecimento das condicionantes ambientais mais apropriadas para sobrevivência imediata da larva. Através de experimentação, foi possível determinar a melhor salinidade para a água de cultivo, a ser utilizada nos tanques. Ficou claro que a zona de conforto, para as larvas de *U. cordatus*, estava situada entre 25 e 30, e à medida que salinidades menores que 20 eram utilizadas, taxas de sobrevivência proporcionalmente mais baixas eram obtidas.

O regime alimentar para as larvas, nos primeiros anos do desenvolvimento da tecnologia de larvicultura do *U. cordatus*, foi baseado nos dados de larvicultura de camarões marinhos. A microalga do gênero *Tetraselmis* se mostrou bastante adequada, já que tinha um tamanho apropriado para apreensão e, por ser móvel, atraía a atenção da larva. A princípio, nenhuma outra espécie de microalga foi testada cientificamente.

A utilização de náuplios de artêmia teve que sofrer uma série de adaptações e inicialmente causou muitos problemas. A artêmia é um crustáceo Branchyopoda que apresenta o rápido crescimento como estratégia anti-predação. De fato, apenas no estágio de náuplio, a artêmia é adequada à alimentação da larva de *U. cordatus*. Em cerca de oito horas, já como metanáuplio, a artêmia consome completamente suas reservas de vitelo e deixa de ser tão nutritiva para a larva. Em 24 horas, a artêmia já cresceu o suficiente para escapar completamente da predação. A partir deste momento, passa a competir com a larva de caranguejo por espaço e alimento. Quanto mais cresce, maior é o seu efeito deletério sobre o cultivo.

Nos primeiros cultivos, o náuplio de artêmia era introduzido nos tanques como item alimentar a partir de zoea III. Por conta do exposto acima, este protocolo se provou desastroso, com grande mortalidade larval ocorrendo principalmente entre zoea IV e V, quando as artêmias, agora adultas, reduziam a densidade algal a quase zero em menos de 24 horas.

Com a introdução tardia do náuplio de artêmia, para apenas a partir de zoea V, juntamente com suspensão no fornecimento de microalgas, o efeito de competição foi minimizado, já que sem alimento, o ritmo de crescimento da artêmia foi desacelerado. A partir da metamorfose da larva de caranguejo para megalopa, a sobrevivência dos náuplios de artêmia no tanque deixa de ser um problema, já que a megalopa é extremamente raptorial.

Porém, com isso, uma alimentação suplementar entre a fase de zoea II (quando as reservas vitelínicas da larva estão zeradas) até a zoea V (quando a introdução do náuplio de artêmia fornece um alimento mais rico nutricionalmente) foi necessária. A solução foi a administração de rotíferos enriquecidos com uma emulsão comercial conhecida como Selco®. O rotífero, *per se*, não tem grande qualidade nutritiva para a larva de caranguejo. Porém, com seu hábito filtrador, o rotífero ingere e, assim, incorpora partículas nutritivas ou medicamentosas suspensas na água em sua biomassa, transferindo para a larva nutrientes que de outra forma não seriam ingeridos por serem muito pequenos ou pouco atrativos.

## **O DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA DE LARVICULTURA**

No processo de desenvolvimento da tecnologia de cultivo larva do *U. cordatus*, no início do período compreendido pela tese, já era possível produzir grandes quantidades de megalopas e as taxas de sobrevivência giravam em torno de 10%.

Havia a necessidade de se pesquisar alternativas alimentares para o cultivo, testando diferentes protocolos que poderiam ser ainda mais adequados que o utilizado até então. O experimento descrito no capítulo I demonstrou que microalgas da espécie *Chaetoceros muelleri* foram consideradas pelo menos tão adequadas quanto as do gênero *Tetraselmis* até então utilizadas. As microalgas da espécie *Nannochloropsis oculata*, utilizadas com sucesso em cultivos larvais de portunídeos nos países asiáticos, foram menos efetivas para as larvas de *U. cordatus* enquanto que a *Thalassiosira weissflogii*, comumente utilizada em larvicultura de camarões marinhos, apresentou os piores índices.

Experimentos mais recentes, utilizando frascos individuais, confirmaram as observações do experimento do capítulo I e também indicaram as microalgas *C. muelleri* e *T. gracilis* como as mais adequadas para alimentação de larvas de *U. cordatus*.

Mais recentemente, experimentos demonstraram que as taxas de sobrevivência das larvas de caranguejo podem ser significativamente aumentadas com o incremento na densidade de rotíferos. A densidade até então utilizada, cerca de 6 indivíduos por ml foi aumentada para 40 rotíferos por ml, resultando na elevação das taxas de sobrevivência de 10% para até 70%.

Porém, estes resultados foram obtidos em experimentos que utilizaram frascos individuais. Os benefícios deste aumento deverão ser testados em situação de cultivo, isto é, em tanques coletivos de pelo menos 100 litros, com densidades de estocagem de pelo menos 200 larvas por litro. Nesta situação, é possível antever problemas com a qualidade da água dos tanques de cultivo, já que os rotíferos são conhecidos pela alta carga orgânica que produzem.

O formato dos tanques para o cultivo das larvas de *U. cordatus* sempre foi alvo de especulação, uma vez que os tipos mais clássicos em larvicultura de Decapoda, redondos de fundo cônico ou quadrados de fundo abaulado, tipo “Galveston”, pareciam sempre obter piores resultados quando comparados aos tanques de fundo mais plano. A quantidade de aeração foi testada em experimentos anteriores à tese, e demonstraram que, a larva de *U. cordatus*, tanto nos estágios de zoea quanto de megalopa, ressentem-se da excessiva força dos fluxos de água, provocados por aeração.

Os experimentos realizados no capítulo II demonstraram que é natural para a larva desta espécie movimentar-se verticalmente e, portanto, tocar por períodos variáveis de tempo o fundo dos tanques. Os experimentos do capítulo III complementaram estas observações indicando que qualquer tentativa de evitar o contato com o fundo através de fluxos de água era contraproducente, sendo muito mais recomendável a manutenção do fundo dos tanques livres de sedimento ou qualquer outro tipo de substrato. Desta forma, foram respondidas as questões relacionadas ao tipo e formato mais adequado de tanques de cultivo para o *U. cordatus*.

Apesar dos avanços verificados, as taxas de sobrevivência finais continuavam baixas, em torno de 10%. No entanto, percebeu-se que com a introdução dos avanços tecnológicos, as taxas de sobrevivência parciais, isto é, de zoea I a zoea VI aumentaram de maneira significativa. As mortalidades passaram a se concentrar na passagem do último estágio de zoea, ou seja, zoea VI a megalopa.

Comparando as observações dos cultivos larvais de *U. cordatus* com o de outras espécies de caranguejo, e até mesmo de outros decapoda, percebeu-se que esta mortalidade durante a metamorfose para decapodito (no caso do *U. cordatus*, para megalopa) era freqüentemente observada, a que se convencionou chamar de *molt death syndrome* ou “MDS”. Foi realizado um experimento em frascos individuais, em que o objetivo era comparar o desenvolvimento larval sob o efeito de duas dietas distintas: náuplios de artêmia por um lado e combinação de microalgas e rotíferos de outro. O tratamento alimentado com artêmia não sobreviveu além de zoea IV. Já o tratamento alimentado com a combinação de rotíferos e microalgas alcançou o estágio de megalopa. Porém, o experimento acabou fornecendo mais informações que era previsto. A maior parte das larvas que sofreu metamorfose para megalopa não passou pelos seis estágios

conhecidos. Na realidade, estas larvas realizaram a ecdise a partir do estágio de zoea V e não VI. A maior parte das larvas que se transformaram em zoea VI, morreram sem atingir o estágio de megalopa.

Ao se analisar estas larvas que morrerem como zoea VI, foi possível observar que a maioria apresentava-se deformada, com algumas características típicas de megalopa enquanto ainda se encontrava presa ao esqueleto de zoea VI, como se tivesse morrido durante a metamorfose sem lograr completá-la.

Desta forma, ficou evidente que as larvas de *U. cordatus* também sofrem de um distúrbio que ocorre durante a última metamorfose, semelhante a MDS, assim como foi observado durante a larvicultura de outros Decapoda. Assim como foi reportado para os casos de MDS na literatura, o seu aparecimento durante o cultivo larval de *U. cordatus* pode estar relacionado com condições de cultivo inadequadas.

Foi observado, também, que existem diferenças morfológicas entre as larvas do estágio de zoea V que vão sofrer a metamorfose diretamente para megalopa daquelas que ainda passarão por mais um estágio de zoea. Essas duas variantes do estágio de zoea V foram chamadas de zoea V(a), que mudam diretamente para megalopa, e zoea V(b) que ainda passarão por zoea VI. Esta informação possibilitará que a taxa de incidência de MDS, e, portanto da mortalidade final, possa ser prevista, e possivelmente evitada, através de alterações no manejo.

Um experimento de coletas em campo, com arrastos utilizando rede de zooplâncton, demonstrou que mesmo no ambiente é possível encontrar larvas no estágio de zoea VI, indicando que este se trata de um estágio supranumerário e não simplesmente um artefato de laboratório. Em um outro experimento de campo, em que as coletas foram realizadas através de bombeamento em um determinado ponto do estuário, ficou demonstrado que as megalopas retornam durante a maré enchente, sendo este, portanto, o melhor momento para a liberação das larvas produzidas em laboratório.

Estabelecimento das bases para a estratégia de liberação das larvas no ambiente

Com o aperfeiçoamento da tecnologia de larvicultura, o desenvolvimento do processo de repovoamento avançou em direção o próximo questionamento, isto é, a sobrevivência da megalopa após sua liberação no ambiente externo ao laboratório. Até os cultivos realizados em 2003, as megalopas eram liberadas no ambiente, mas sem que os resultados fossem acompanhados. Sabia-se que as megalopas, quando liberadas na água, procuravam o sedimento e cavavam suas tocas em relativamente pouco tempo, em torno de três dias. Porém, as taxas de colonização e sobrevivência a partir da liberação no ambiente não haviam sido, até então, nem ao menos estimadas.

Foram então realizados diversos experimentos em que megalopas de *U. cordatus* eram liberadas em tanques ou aquários com sedimento de manguezal no fundo. O sedimento era depositado de maneira a apresentar uma inclinação de cerca de 20°. Os aquários eram preenchidos com água marinha até que o sedimento estivesse completamente imerso e as larvas eram depositadas no lado mais profundo. Após 4 horas, a água era completamente drenada e as megalopas geralmente cavavam as suas tocas no sedimento úmido. Diariamente, os aquários eram preenchidos com água marinha por uma hora e então completamente drenados, simulando o movimento de maré.

Variações nesse arranjo foram utilizadas para testar diversas situações ambientais como diferentes concentrações de areia e lodo no sedimento, diferentes tempos de imersão inicial e períodos de imersão diária, diferentes densidades de megalopas e até efeitos da competição com juvenis de outras espécies.

Os experimentos demonstraram que a maior parte das megalopas cava tocas sobre o sedimento na primeira hora e até 3 dias após a liberação. Este fato explica porque a predação por peixes não é o fator mais preponderante na sobrevivência das larvas recém estocadas. Demonstraram também que as larvas preferem concentrações de areia no sedimento de menos de 20%, o que indica que o melhor local para seu assentamento está no meso-litoral superior.

Foi observado que as taxas de sobrevivência, no estágio de megalopa, não são excessivamente influenciadas pela densidade, na presença de sedimento, o que permite sua concentração no momento da liberação. Por outro lado, a competição por juvenis de outras espécies pode ter um efeito significativamente deletério sobre as taxas de sobrevivência dos juvenis de *U. cordatus*.

Experimentos em que as larvas foram liberadas em cercados experimentais No campo permitiram que se estimasse as taxas de sobrevivência das megalopas liberadas no ambiente, sob a influência das intempéries. Ficou demonstrado que as megalopas produzidas em laboratório são capazes de sobreviver apenas com o alimento que puderem encontrar no ambiente. O experimento final da tese combinou o efeito das condições naturais e da presença de competidores de outras espécies para estimar as taxas de sobrevivência em uma situação mais próxima daquilo que naturalmente a larva encontraria no sedimento. O resultado confirmou o que já havia sido observado no experimento que utilizou os aquários, isto é, que a competição interespecífica pode afetar negativamente as taxas de sobrevivência dos juvenis de *U. cordatus*.

Em termos práticos, os resultados dos experimentos de competição demonstram que dependendo das densidades de juvenis de outras espécies presentes no sedimento, as liberações de megalopas em locais abertos poderão ser desaconselháveis. Provavelmente, este fato venha a exigir, em um futuro próximo, que se realize um segundo cultivo antes da

liberação definitiva, para que se possa aumentar as chances do juvenil de *U. cordatus* na competição com as demais espécies presentes no sedimento.

#### Prespectivas futuras

Os próximos passos no desenvolvimento da tecnologia de repovoamento do *U. cordatus* envolvem formas alternativas de reduzir os efeitos da MDS durante a larvicultura. As análises do condicionamento larval através de indicadores, como foi estabelecido pelos experimentos descritos no capítulo I poderão auxiliar no processo de aperfeiçoamento das técnicas de cultivo larval. A descoberta de diferenças morfológicas nas larvas em estágios anteriores ao início das mortalidades permitirá que se avalie melhor os passos durante os cultivos e se proponham alterações na metodologia.

Outra necessidade é comparar as larvas produzidas em laboratório com as larvas coletadas no ambiente natural. É esperado que existam diferenças, mas que estas sejam apenas de cunho comportamental, já que a excessiva domesticação é reconhecidamente um efeito do cultivo em laboratório. Não se admite, no entanto, que estas larvas sejam irreversivelmente menos capazes de lutar por sua sobrevivência quando liberadas no ambiente. Neste caso, a própria razão em se produzir larvas para o repovoamento poderia não fazer sentido biológico.

Porém, entre os aspectos a serem estudados em um futuro próximo, nenhum terá maior impacto no desenvolvimento da tecnologia de repovoamento do *U. cordatus* que o controle artificial do ciclo reprodutivo da espécie. Atualmente, os experimentos só podem ser realizados durante o curto período de pouco mais de dois meses, em que é possível coletar fêmeas ovíferas do ambiente. Outras espécies de Decapoda já tiveram seu ciclo reprodutivo controlado, o que facilitou o aperfeiçoamento de todas as fases de cultivo. No caso do *U. cordatus*, este controle permitiria realizar larviculturas experimentais em pequena escala durante todo o ano, reservando o período natural de reprodução para os cultivos em larga escala.

Assim, mesmo após o encerramento da presente tese, o desenvolvimento da tecnologia para o repovoamento do caranguejo-uçá deverá continuar seguindo a passos largos no sentido de sua consolidação.



Walter Boeger (2006)