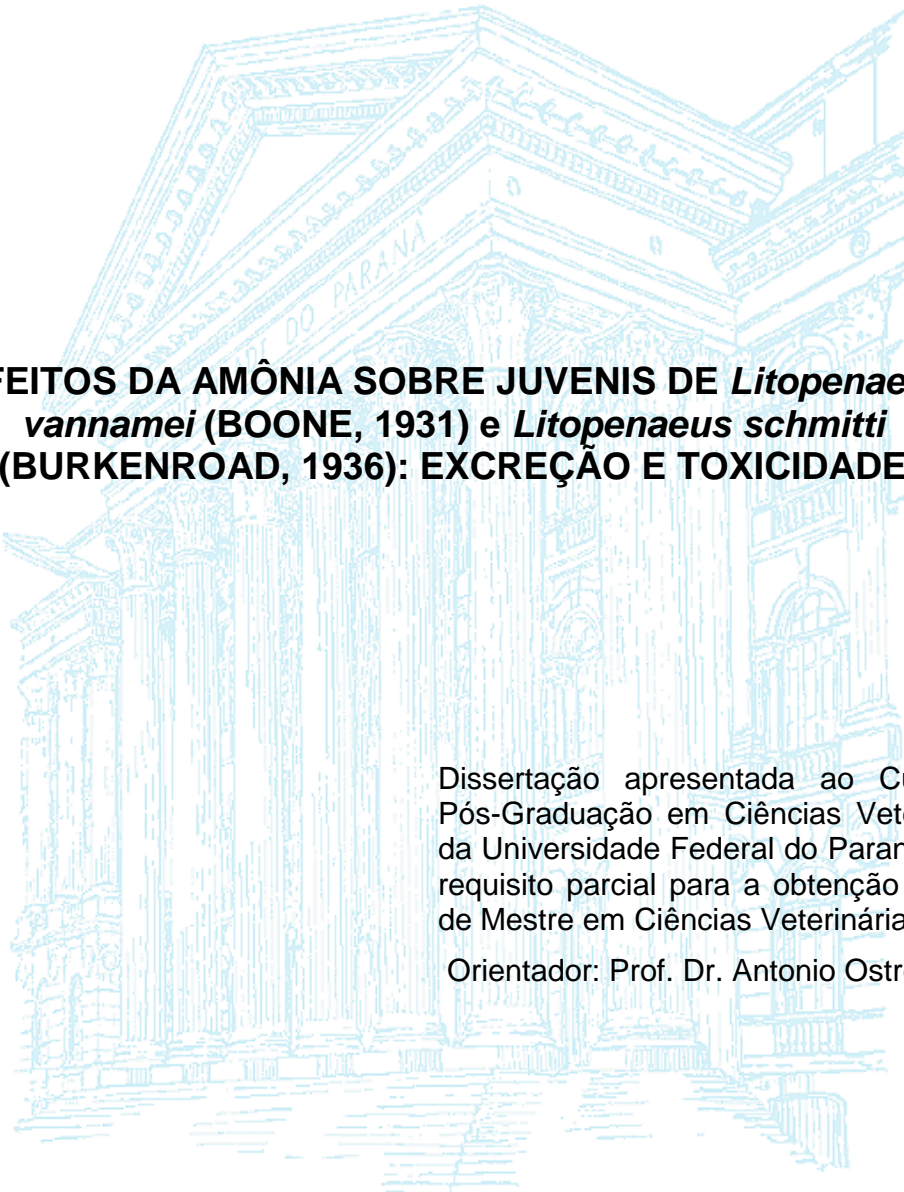


MARCUS VINICIUS FIER GIROTTO



EFEITOS DA AMÔNIA SOBRE JUVENIS DE *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) e *Litopenaeus schmitti* (BURKENROAD, 1936): EXCREÇÃO E TOXICIDADE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ostrensky

CURITIBA

2010

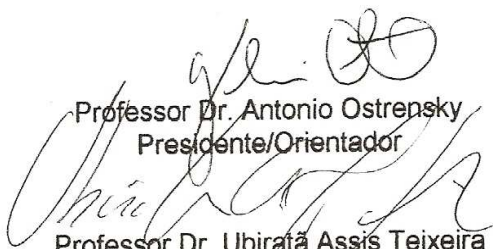
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS




PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “EFEITOS DA AMÔNIA SOBRE JUVENIS DE *Litopenaeus schmitti* (BURKENROAD, 1936) E DE *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931): EXCREÇÃO E TOXICIDADE” apresentado pelo Mestrando Marcus Vinicius Fier Giroto, declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou o candidato apto para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 23 de fevereiro de 2010


Professor Dr. Antonio Ostrensky
Presidente/Orientador

Professor Dr. Ubiratã Assis Teixeira
Membro


Professor Dr. Kleber Campos Miranda Filho
Membro

AGRADECIMENTOS

Agradeço, antes de tudo, a Deus, por todas as oportunidades que me deu. A minha mãe e meu irmão, que mesmo estando longe, me apoiaram. A minha avó Uracy que me suporta em sua casa há quase dez anos. A Karin pelo amor, carinho e compreensão. Aos produtores de isca-viva, que além de fornecerem os camarões, foram o motivo do presente trabalho. Aos meus amigos, aqueles “de verdade” que sempre tem uma festa e uma cerveja pra partilhar. Ao povo do GIA (Manu, Tico, Débora, Pedro, Diogo, Francesco, Cris, Fran, Roberval, Alexandre, Thayzi, Andrezão, Madruga, Aline e Gi). A esses quatro últimos agradeço em dobro, pois colaboraram muito com esse trabalho. Ao meu orientador, Antonio, que além da oportunidade de tornar um Mestre, me mostrou como ser um profissional.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

A presente dissertação de mestrado aborda aspectos relacionados a influência da amônia em camarões *Litopenaeus schmitti* e *Litopenaeus vannamei*, utilizados como isca-viva, abordando a excreção do composto durante o transporte, a sobrevivência em soluções com essa substância e aos seus efeitos nos tecidos das brânquias e hepatopâncreas. Esse trabalho foi uma iniciativa do Projeto Cultimar, que atua com maricultores e pescadores no litoral do Paraná. O objetivo do projeto é a geração de renda nas comunidades litorâneas, através do repasse de tecnologias desenvolvidas pelo GIA – Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, da Universidade Federal do Paraná. Assim, a presente dissertação está estruturada na forma de 3 capítulos independentes, elaborados no formato de publicação científica. No capítulo 1, foi investigado a influência da densidade de juvenis de *L. schmitti* e de *L. vannamei* sobre as concentrações totais de amônia e sobre as taxas individuais de amônia excretadas. Os camarões foram acondicionados em sacos de 30 L contendo 1 L de água e 2/3 do volume de ar, por 2,5 horas, em três densidades (2, 3 e 5 animais/L), com 10 réplicas cada. Amostras de água foram coletadas para medição da temperatura, do pH, da salinidade e das concentrações de nitrogênio na forma de amônia total (N-AT) e não ionizada (N-NH₃). Observou-se que as concentrações de amônia na água foram diretamente proporcionais às densidades testadas, com valores médios de 0,77, 1,23 e 1,60 mg/L de N-AT, para *L. schmitti*, e de 0,47, 0,68 e 0,85 mg/L de N-AT para *L. vannamei*, nos tratamentos 2, 3 e 5 camarões/L, respectivamente. As taxas de excreção de amônia apresentaram relação inversa ao peso dos animais no caso de *L. schmitti* e nenhuma tendência foi observada nos testes com *L. vannamei*. Os testes mostraram uma melhor adaptação de *L. schmitti* às condições de transporte testadas. No capítulo 2, foi determinada a tolerância à amônia desses animais. Os *L. schmitti* foram submetidos a 5 tratamentos, com 3 triplicatas cada, contendo 0, 5, 10, 20 e 45 mg/L de N-AT já nos testes com *L. vannamei* as concentrações foram: 0, 20, 45, 65 e 90 mg/L de N-AT. Observou-se que as CL₅₀ (concentração letal para 50% dos indivíduos) em 96 horas para *L. schmitti* foram de 2,48 mg/L de N-T e de 0,09 mg/L de N-NH₃ respectivamente. Já as CL₅₀ 96 horas para juvenis de *L. vannamei* foram de 21,69 mg/L de N-AT e de 0,76 mg/L de N-NH₃. Já no capítulo 3, avaliaram-se alterações teciduais provocadas pela amônia, com 5 animais por tratamento que foram mantidos por 24 horas, em triplicata, nas seguintes concentrações: 0, 5, 17, 100, 250 e 1.000 mg/L N-AT. A mortalidade foi contabilizada e foram coletadas e fixadas amostras de brânquias e hepatopâncreas em Solução de Davidson, Foram determinados os índices de impactos branquial (IIBr) e hepatopancreático (IIH). Alterações na cutícula lamelar das brânquias variaram com o aumento na concentração de amônia. IIBr apresentou diferença significativa entre o controle e 17 e 250 mg/L N-AT. No hepatopâncreas houve poucas alterações histológicas. O tratamento 250 mg/L N-AT apresentou diferença significativa do IIH, em relação ao tratamento controle. Há evidências de que a amônia, quando em altas concentrações, possa provocar maior aderência da cutícula no epitélio. Alterações hepatopancreáticas identificadas não demonstraram correlação com as concentrações de amônia testadas.

Palavra-chave: carcinicultura, isca-viva, maricultura, tanque-rede, lesões teciduais, patologia

ABSTRACT

The present dissertation addresses issues related to the influence of ammonia in shrimp *Litopenaeus schmitti* and *L. vannamei*, used as live bait, related excretion of ammonia during the transport, survival in solutions with this substance and its effects in the tissues of gills and hepatopancreas. This work was an initiative of Projeto Cultimar, which works with shellfishermen and fishermen on the coast of Paraná. The project goal is to increase the income in traditional coastal communities through the transfer of techniques and technologies developed by the GIA - Integrated Group for Aquaculture and Environmental Studies of Federal University of Paraná. Thus, this dissertation is structured in the form of 3 separate chapters, as the format of scientific publication. Each chapter also have independent structure. In Chapter 1, were simulated transport conditions and investigated the influence of density of juveniles of *L. schmitti* and *L. vannamei* on total concentrations of ammonia and on the individual rates of ammonia excreted. The shrimps were packed in bags of 30 L containing 1 L of water and 2/3 of the volume of air for 2.5 hours at three densities (2, 3 and 5 animals/L), with 10 replicates for each. On arrival at the laboratory, water samples were collected for measurement of temperature, pH, salinity and concentrations of nitrogen, in the form of total ammonia (N-AT). It was observed that the concentrations of ammonia in water were directly proportional to the densities, with the values of 0.77, 1.23 and 1.60 mg/L N-AT, for *L. schmitti*, and 0.47, 0.68 and 0.85 mg/L N-AT for *L. vannamei* in treatments 2, 3 and 5 shrimps/L, respectively. The rates of ammonia excretion showed an inverse relationship to the weight of the animals in the case of *L. schmitti*, but no trend was observed in tests with *L. vannamei*. This tests showed a better adaptation of *L. schmitti* to transport conditions tested. In chapter 2 was o determined ammonia tolerance. The *L. schmitti* were subjected to 5 treatments with 3 triplicates each containing 0, 5, 10, 20 and 45 mg/L of N-AT, however in tests with *L. vannamei* concentrations were 0, 20, 45, 65 and 90 mg/L of N-AT. It was observed that the LC₅₀ (lethal concentration for 50% of individuals) in 96 hours for *L. schmitti* were 2.48 mg/L for N-AT and 0.09 mg/L N-NH₃. Moreover, the LC₅₀ 96 hours for juvenile *L. vannamei* were 21.69 mg/L N-AT and 0.76 mg/L N-NH₃. The chapter 3 evaluates the tissues changes caused by ammonia, 5 animals per treatment were maintained for 24 h, in triplicate at the following concentrations: 0, 5, 17, 100, 250 and 1,000 mg/L N-AT. Samples of gills and hepatopancreas were collected and fixed in Davidson Solution (ALFAC) and the mortality was recorded . Rates of gill impacts (IIBr) and rates of hepatopancreatic impacts (IIH) were determined. Changes in lamellar cuticle of the gills varied with the increase in the concentration of ammonia. IIBr presented significant difference between control and 17 and 250 mg/L N-AT. In hepatopancreas were few alterations. The treatment of 250 mg/L N-AT presented significant difference in IIH compared to the control. There is evidence that ammonia, when in high concentrations can lead to greater adherence to the cuticle in the epithelium. Changes identified in hepatopancreas showed no correlation with the concentrations of ammonia tested.

Key – words: carciniculture, live bait, mariculture, cage, tissue injury, pathology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa indicando a localização da Baía de Guaratuba, no litoral do estado do Paraná.	17
Figura 2 - Concentração de amônia total excretada, por juvenis de <i>Litopenaeus schmitti</i> durante duas horas e meia de transporte, em três densidades (N-AT = nitrogênio na forma de amônia total).	22
Figura 3 - Concentração de amônia total excretada, por juvenis de <i>Litopenaeus vannamei</i> durante duas horas e meia de transporte, em três densidades (N-AT = nitrogênio na forma de amônia total).....	22
Figura 4 - Taxa de excreção de amônia total de <i>Litopenaeus schmitti</i> por unidade de peso de animal vivo (EAP), durante duas horas e meia de transporte, em três densidades.	23
Figura 5 - Taxa de excreção de amônia total de <i>Litopenaeus vannamei</i> por unidade de peso de animal vivo (EAP), durante duas horas e meia de transporte, em três densidades.	24
Figura 6 - Brânquias de camarões em coloração de HE. Barras = 100 µm. a) descolamento de cutícula; b) pigmentação da cutícula; c) podócitos em marrom; d) deformação das lamelas; e) dilatação lacunar; f) núcleos picnóticos; g) célula basófila; h) parasitos; i) corpúsculos de inclusão.....	62
Figura 7 - Prevalência de alterações branquiais em camarões submetidos a tratamentos com diferentes concentrações de amônia.....	64
Figura 8 - Prevalência de descolamento de cutícula em brânquias submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de amônia. As letras sobre as barras indicam os grupos homogêneos identificados através de teste a posteriori de Doom.....	65
Figura 9 - Prevalência de pigmentação de cutícula em brânquias submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de amônia (mg/L N-AT). Não houve diferença estatística entre os tratamentos testados.....	66
Figura 10 - Índice de impacto branquial (IIBr) observado nos diferentes tratamentos (p=0,0000).....	67

Figura 11 - Hepatopâncreas de camarões em coloração de HE. Barra = 100 μ m. a) necrose; b) grânulos nos túbulos hepatopancreáticos; c) parasito.	69
Figura 12 - Prevalência de alterações de hepatopâncreas em camarões submetidos a tratamentos com diferentes concentrações de amônia.	70
Figura 13 - Índice de impacto no hepatopâncreas (IIH) observado nos diferentes tratamentos. As letras sobre as barras indicam os grupos homogêneos identificados através de teste a <i>postiori</i> de Doom.	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados obtidos durante o transporte de juvenis de <i>Litopenaeus schmitti</i> em diferentes densidades (média e desvio padrão entre parênteses), após duas horas e meia de transporte.....	25
Tabela 2 - Resultados obtidos durante o transporte de juvenis de <i>Litopenaeus vannamei</i> em diferentes densidades (média e desvio padrão entre parênteses), após duas horas e meia de transporte.....	26
Tabela 3 – Comparação dos resultados obtidos durante o transporte de juvenis de <i>Litopenaeus schmitti</i> e <i>Litopenaeus vannamei</i> em diferentes densidades, após duas horas e meia de transporte.	27
Tabela 4 – Comparação das CL ₅₀ , e intervalo de confiança em termos de amônia total (N-AT) e de amônia não-ionizada (N-NH ₃) para juvenis de <i>Litopenaeus schmitti</i> e de <i>L. vannamei</i> em 24, 48, 72 e 96 h.	42
Tabela 5 - Comparação das CL ₁₀₀ , em termos de amônia total (N-AT) e de amônia não-ionizada (N-NH ₃) para juvenis de <i>Litopenaeus schmitti</i> e de <i>L. vannamei</i> em 24, 48, 72 e 96 h.	42
Tabela 6 - Pesos secos médios e respectivos desvios padrões dos juvenis de <i>Litopenaeus schmitti</i> e de <i>L. vannamei</i> expostos à amônia por 96 h (n = 8 animais por unidade experimental).	43
Tabela 7 - Comparação entre resultados obtidos em testes de toxicidade da amônia para diferentes espécies de camarões.	46
Tabela 8 - Tempo médio de sobrevivência dos camarões expostos à amônia em cada tratamento.	59
Tabela 9 - Prevalência de lesões branquiais nos campos analisados e número de animais avaliados (n) por tratamento.	61
Tabela 10 - Prevalência de lesões hepatopancreáticas nos campos analisados e número de animais avaliados (n) por tratamento.	68

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	IV
ABSTRACT	V
LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABELAS	VIII
APRESENTAÇÃO	11
CAPÍTULO 1 - EFEITOS da densidade DE TRANSPORTE SOBRE AS TAXAS DE EXCREÇÃO DE AMÔNIA DE JUVENIS DE <i>Litopenaeus schmitti</i> (BURKENROAD, 1936) E DE <i>Litopenaeus vannamei</i> (BOONE, 1931)	13
1. Resumo.....	13
2. Abstract.....	13
3. Introdução.....	14
4. Material e métodos.....	16
5. Resultados.....	21
6. Discussão.....	28
7. Conclusão.....	32
8. Referências.....	33
CAPÍTULO 2 - TOXICIDADE AGUDA DA AMÔNIA PARA JUVENIS DE <i>Litopenaeus schmitti</i> (BURKENROAD, 1936) E DE <i>L. vannamei</i> (BOONE, 1931) UTILIZADOS COMO ISCA-VIVA NA PESCA ESPORTIVA.	36
1. Resumo.....	36
2. Abstract.....	36
3. Introdução.....	37
4. Material e métodos.....	38
5. Resultados.....	41
6. Discussão.....	43
7. Conclusão.....	48
8. Referências.....	49

CAPÍTULO 3 - HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIAS E DE HEPATOPÂNCREAS DE juvenis de <i>Litopenaeus vannamei</i> (Boone, 1931) EXPOSTOS À AMÔNIA.....	52
1. Resumo	52
2. Abstract	52
3. Introdução	53
4. Material e Métodos	54
5. Resultados.....	58
6. Discussão	71
7. Conclusão	74
8. Referências	75
CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
VITA.....	80

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação de mestrado aborda aspectos relacionados a influência da amônia em camarões *Litopenaeus schmitti* e *L. vannamei*, incluindo a excreção do composto durante o transporte, a sobrevivência em soluções com essa substância e aos seus efeitos nos tecidos das brânquias e hepatopâncreas .

O trabalho com essas espécies foi uma iniciativa do Projeto Cultimar, que atua com maricultores e pescadores no litoral do Paraná. O objetivo do projeto é aumentar a geração de renda nas comunidades litorâneas, por meio do repasse de técnicas e tecnologias desenvolvidas pelo GIA – Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, da Universidade Federal do Paraná.

Pelo contato com os pescadores e maricultores da região de Guaratuba, observou-se que um dos anseios dos comerciantes de isca-viva era obter informações que aumentassem a eficiência dos camarões comercializados para pescadores esportivos. Para isso a presente dissertação pretendeu responder a esses produtores com experimentos relacionados a influência da amônia nos camarões, simulando as situações cotidianas na comercialização de iscas-vivas. Assim, desde o início dos trabalhos, o GIA vem executando pesquisas nesta área, como é o caso dos estudos que deram origem à presente dissertação.

É possível afirmar que diversas interações dos camarões Penaeidae com a amônia dissolvida na água já estão relativamente bem dominadas. Porém, os trabalhos específicos para iscas vivas e para situações encontradas

em Guaratuba ainda estão muito aquém, por exemplo, daqueles obtidos nos cultivos comerciais de camarões.

A falta de informações específicas ocorre principalmente em função de que a atividade da comercialização da isca-viva era pouco comum, e isso não atraía muitos investimentos em pesquisas. Com o aumento do turismo e da pesca esportiva na região nos últimos anos a atividade se desenvolveu, e gerou renda, mas a base da tecnologia veio do conhecimento dos pescadores locais, assim diversas práticas adotadas ainda podem ser melhoradas.

Um dos grandes problemas observados é a falta de informações acerca da densidade a ser utilizada durante o transporte das iscas-vivas nos viveiros dos barcos dos pescadores esportivos, que influencia na sobrevivência e eficiência desses animais. Em resposta a esse fato, o primeiro capítulo do presente estudo compara a excreção de amônia em *L. vannamei* e *L. schmitti*, em durante o transporte em densidades diferentes.

Outro fator que também prejudica a saúde das iscas-vivas é a toxicidade da amônia nas duas espécies, que foi descrita no capítulo 2, os efeitos histológicos sobre as brânquias e hepatopâncreas foi descrito no capítulo 3. Assim, a presente dissertação está estruturada na forma de capítulos independentes, elaborados no formato de publicação científica. Os capítulos, por sua vez, também possuem estruturas independentes. O objetivo desta formatação é facilitar a posterior publicação dos resultados aqui obtidos.

CAPÍTULO 1 - EFEITOS DA DENSIDADE DE TRANSPORTE SOBRE AS TAXAS DE EXCREÇÃO DE AMÔNIA DE JUVENIS DE *Litopenaeus schmitti* (BURKENROAD, 1936) E DE *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931).

1. Resumo

O uso de camarões como isca-viva por pescadores esportivos é bastante comum no litoral paranaense. Os camarões são acondicionados em viveiros localizados nas próprias embarcações, sem aeração ou renovação de água. Durante todo o tempo que precede sua utilização, os animais excretam amônia na água de transporte, comprometendo a sua qualidade, a sobrevivência dos próprios animais e sua utilização como isca-viva. Neste estudo foram simuladas as condições de transporte e investigada a influência da densidade de juvenis de *Litopenaeus schmitti* e de *Litopenaeus vannamei* sobre as concentrações totais de amônia e sobre as taxas individuais de amônia excretadas. Os camarões foram obtidos de cultivos realizados em tanques-rede localizados na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil, e acondicionados em sacos de transporte de 30 L contendo 1 L de água e dois terços do volume de ar. Foram testadas três densidades (2, 3 e 5 animais/L), com 10 réplicas para cada tratamento. Depois de acondicionados, os animais foram transportados durante 2,5 horas. Após a chegada ao laboratório, amostras de água foram coletadas para medição da temperatura, do pH, da salinidade e das concentrações de nitrogênio na forma de amônia total (N-AT) e amônia gasosa (N-NH₃) em cada unidade experimental. Observou-se que as concentrações de amônia na água foram diretamente proporcionais às densidades testadas, com valores médios de 0,77, 1,23 e 1,60 mg/L de N-AT, para *L. schmitti*, e de 0,47, 0,68 e 0,85 mg/L de N-AT para *L. vannamei*, nos tratamentos 2, 3 e 5 camarões/L, respectivamente. As taxas de excreção de amônia apresentaram relação inversa ao peso dos animais no caso de *L. schmitti* e nenhuma tendência foi observada nos testes com *L. vannamei*. Os testes mostraram uma melhor adaptação de *L. schmitti* às condições de transporte testadas.

Palavra-chave: carcinicultura, isca-viva, maricultura, tanque-rede, amônia

*EFFECTS OF TRANSPORT DENSITY ON AMMONIA EXCRETION RATES OF JUVENILE *Litopenaeus schmitti* (BURKENROAD, 1936) AND *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)*

2. Abstract

The use of shrimp as live bait by sport fishermen is quite common on the coast of Paraná. The shrimp are packed in nurseries located in the boats without aeration and water renewal. Throughout the time before its use, the animals excrete ammonia in water transport, compromising its quality, the survival and

their use as live bait. This study simulated the conditions of transport and investigated the influence of density of *Litopenaeus schmitti* and *Litopenaeus vannamei* juveniles on the total concentrations of ammonia and on the individual rates excreted. The shrimps were obtained from cultures performed in cages located in the Bay Guaratuba, Parana, Brazil and packed into a transport bag of 30 L containing 1 L of water and two thirds of the volume of air. Three densities (2, 3 and 5 animals / L) was tested with 10 replicates for each treatment. After preparation, the animals were transported for 2.5 hours. Upon arrival at the laboratory, water samples were collected for measurement of temperature, pH, salinity and concentrations of nitrogen in the form of total ammonia (N-AT) in each experimental unit. It was observed that the concentrations of ammonia in water were directly proportional to the densities, with values of 0.77, 1.23 and 1.60 mg/L N-AT, for *L. schmitti*, and 0.47, 0.68 and 0.85 mg/L N-AT for *L. vannamei* in treatments 2, 3 and 5 shrimps/L, respectively. The rates of ammonia excretion showed an inverse relationship to the weight of the animals in the case of *L. schmitti* and no trend was observed in tests with *L. vannamei*. The tests showed a better adaptation of *L. schmitti* to transport conditions tested.

Keyword: shrimp, live bait, mariculture, cage, ammonia

3. Introdução

O uso de camarões como isca-viva é bastante comum entre os pescadores esportivos no litoral paranaense, sendo desenvolvida como atividade econômica há mais de 40 anos na Baía de Guaratuba, um complexo estuarino de aproximadamente 250 km² (IBGE, 2008) localizado no litoral sul do Paraná.

Até o início desta década, os camarões eram capturados no máximo um dia antes de serem comercializados, pois não havia tecnologia disponível na região para manter os animais vivos por períodos superiores. Com a instalação de empreendimentos comerciais destinado ao cultivo de camarões marinhos em tanques-rede na Baía de Guaratuba (Pereira, 2004), foi desenvolvido um sistema que permite a manutenção dos animais em cativeiro por períodos mais longos.

Os tanques-redes empregados na manutenção dos camarões são confeccionados em polietileno, tendo 2 m de comprimento, 2 m de largura e 2 m de profundidade. A estrutura conta ainda com 4 ou 6 flutuadores (bombonas plásticas de 100 ou 150 L) e com um flutuante de madeira posicionado ao redor dos tanques e que serve de plataforma de apoio para realização das atividades de manejo.

Duas espécies costumam ser comercializadas pelos pescadores artesanais locais, sendo uma nativa, o camarão branco, *Litopenaeus schmitti*, cuja área de distribuição estende-se entre o Caribe até a o litoral da região Sul do Brasil (Silva e Nakamura, 1981), e o camarão cinza (*L. vannamei*), uma espécie oriunda da costa pacífica das Américas, encontrado desde Sonora, México até o norte do Peru (Frías-Espericueta *et al*, 2000).

Os espécimes nativos são geralmente capturados no interior da baía de Guaratuba utilizando-se embarcação a remo ou motorizada (Mendonça, 1998) e com auxílio de tarrafas ou de gerival (uma rede cônica, de 2,5 a 3m de largura arrastada por corda pela embarcação) (Chaves e Robert, 2003). Depois de capturados, os camarões são acondicionados em tanques plásticos na própria embarcação de pesca. Já os juvenis de *L. vannamei* têm se tornado cada vez mais frequentes na pesca esportiva local, por serem facilmente adquiridos de fazendas de cultivo localizadas na região norte do estado de Santa Catarina e pelo fato de sua disponibilidade não estar sujeita às variáveis climáticas e sazonais, como ocorre com os camarões oriundos da pesca.

Em ambos os casos, os camarões são transportados até a área onde estão localizados os tanques-rede, nos quais são mantidos até o momento da venda.

Após a venda aos pescadores esportivos, os animais são retirados dos tanques-rede com auxílio de um puçá e colocados em bombonas plásticas de cerca de 50 L ou nos compartimentos existentes nas próprias embarcações utilizadas na pesca esportiva, conhecidos como "viveiros". Lá são mantidos por períodos que costumam variar de duas a até seis horas, até serem empregados como isca-viva na pesca de espécies como robalo (*Centropomus* spp), oveva (*Larimus breviceps*), escrivão (*Eucinostomus* spp), betara (*Menticirrhus americanus* e *M. littoralis*) e caratinga (*Eugerres brasilianus*) (Chaves e Robert, 2003).

Durante todas as etapas de transporte, os camarões eliminam seus metabólitos e excretas nitrogenados diretamente na água de transporte. A amônia é o principal produto da excreção nitrogenada de crustáceos e também é um composto reconhecidamente tóxico (Dall *et al.*, 1990; Weihrauch *et al.*, 2004; Freire *et al.*, 2008).

O presente estudo teve como finalidade avaliar se as densidades usualmente empregadas no transporte dos camarões *L. schmitti* e *L. vannamei* afetam as taxas de excreção de amônia, comprometem a qualidade da água e a sobrevivência desses animais.

4. Material e métodos

Os juvenis de *L. schmitti* foram capturados por pescadores profissionais na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil (25°51'20" S 48°34'39" O). Já os juvenis de *L. vannamei* foram adquiridos em uma fazenda de cultivo localizada Santa Catarina. Neste caso, Os animais foram previamente despescados dos viveiros de cultivo e transportados em sacos plásticos, contendo cerca de 20 L de água

e 40 L de oxigênio, durante aproximadamente de 3 a 4 h. Ambos os grupos foram mantidos durante três dias em tanques-rede posicionados em frente à Ilha da Pescaria, na região de Guaratuba, Paraná, Brasil (salinidade 12ups e 22ups; temperatura 22,9°C e 22,8°C nos experimentos de *L. schmitti* e *L. vannamei* respectivamente) (Figura 1).



Figura 1 - Mapa indicando a localização de Guaratuba, no litoral do estado do Paraná.

Após este período, os animais foram retirados dos tanques-rede com um puçá, e transferidos para um tanque de polipropileno de 100 L, onde foram contados e selecionados. Os indivíduos que apresentavam ferimentos e/ou natação errática foram descartados.

Para simular as condições de transporte nos viveiros das embarcações empregadas na pesca esportiva, os animais foram transferidos para sacos plásticos com capacidade para 30 L, contendo um litro de água do mar. A água

foi coletada no mesmo local de cultivo e previamente filtrada através de um filtro tipo “bag”, com 25 µm de abertura de malha, minimizando assim eventuais influências do zooplâncton no processo de liberação de amônia na água.

Os camarões foram testados em três densidades: 2, 3 e 5 indivíduos/L, com dez repetições em cada tratamento. Além disso, outros três sacos foram utilizados como controle, para avaliar as variações naturais das concentrações de amônia na água durante o transporte. Esses sacos continham apenas um litro de água do mar filtrada, sem nenhum camarão.

Cada embalagem foi vedada individualmente com elásticos, de forma a manter 2/3 do volume preenchido com ar, não sendo adicionado oxigênio artificialmente. Depois de fechados, os sacos foram acondicionados em caixas térmicas, para minimização da variação da temperatura durante o transporte.

Os camarões foram transportados até o Laboratório de Pesquisa com Organismos Aquáticos (LAPOA), do Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, da Universidade Federal do Paraná (GIA - UFPR), em Curitiba, a 110 km de distância do local de cultivo. O tempo de transporte foi de 2,5 horas.

Após a chegada foram contabilizados os animais mortos e coletadas amostras de água de cada saco de transporte, para mensuração do pH (pHâmetro portátil Hanna – HI8424[®]), da temperatura (termômetro digital Hanna – HI8424[®]), da salinidade (refratômetro Bernauer[®]) e da concentração de amônia (pelo método colorimétrico de Solorzano, 1972, descrito por Baptista *et al.*, 1987).

Para quantificar a porcentagem de amônia gasosa foram utilizadas as equações descritas por Ostrensky (1991):

$$[N-NH_3] = ([N-AT]) / (1 + 10^{(pKa-pH)})$$

$$pKa = (pKs + 0,0324 \times T) / (298 - (273 + T))$$

$$pKs = 9,2516 + 0,153 \times F$$

$$F = 19,9273 \times S / (1000 - (1,005109 \times S))$$

Sendo:

NH_3 – Amônia não-ionizada

NH_4^+ – Amônia ionizada

$N-NH_3^-$ Concentração de nitrogênio na forma de amônia não-ionizada

$N-AT$ – Concentração de nitrogênio na forma de amônia total ($NH_3 + NH_4^+$)

T - Temperatura (em °C)

S - Salinidade

Em seguida, os camarões foram sacrificados por asfixia. Depois, esses animais, e também aqueles que já chegaram mortos ao laboratório, foram secos em estufa a 60°C durante 24 horas e posteriormente pesados, para obtenção do peso seco individual.

No caso das análises de amônia, o valor médio obtido nos controles foi subtraído das concentrações medidas em cada unidade experimental. Assumiu-se que os resultados obtidos expressam as concentrações de amônia excretadas pelos camarões em cada tratamento durante o transporte. Os cálculos realizados foram os seguintes:

$$EAI = AT/N_0$$

$$EAV = AT/(N_0 - N_1).$$

$$EAP = EAV/PS$$

Sendo:

EAI – Taxa de excreção de amônia total por animal (em mg/L de N-AT)

EAV – Taxa de excreção de amônia total por animal vivo (em mg/ L de N-AT)

EAP - Taxa de excreção de amônia total por peso de animal vivo (em mg/ L de N-AT/g)

AT – Concentração de amônia total em cada unidade experimental (em mg/ L de N-AT)

N_0 – Número inicial de camarões na unidade experimental

N_1 – Número de camarões vivos na unidade experimental no final do período de transporte

PS – Peso seco individual médio por tratamento (em mg)

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posteriormente à ANOVA, seguida por teste a posteriori utilizando-se o método de Scheffé, sempre com nível de significância de 5%. Dados que não se ajustaram à curva normal de Gauss foram analisados através do teste de Kruskal-Wallis (Siegel, 1975)

Para a avaliação da eventual influência da decomposição dos animais mortos na liberação de amônia, foi realizado o teste “t”, comparando, de forma

agrupada, os valores obtidos para EAI e para EAV nas diferentes densidades de transporte. O mesmo teste foi utilizado para comparar as diferenças das mesmas densidades para as duas espécies testadas.

Na chegada ao laboratório, dois sacos de transporte de *L. vannamei*, na densidade de 3 camarões/L estavam furados. Assim, essas duas unidades não foram consideradas nos resultados.

5. Resultados

Os resultados quantificados para *L. schmitti* estão apresentados na Tabela 1e para *L. vannamei* na Tabela 2. A temperatura e a salinidade ao longo do experimento foi a mesma para ambas as espécies ($p > 0,05$). Entretanto, houve uma tendência de redução do pH com o aumento da densidade testada, provavelmente devido a respiração dos animais, e não houve variação da temperatura desde o momento da coleta até o final do transporte.

Foram detectadas diferenças significativas [$F(2,27)=42,6$, $p<0,001$] nas concentrações totais de amônia identificadas em cada tratamento empregado nos testes com *L. schmitti* (Figura 2) e com *L. vannamei* ([$F(2, 25)=3,37$, $p=0,051$)] (**Figura 3 - Concentração de amônia total excretada, por juvenis de *Litopenaeus vannamei* durante duas horas e meia de transporte, em três densidades (N-AT = nitrogênio na forma de amônia total).**Figura 3). Como seria esperado, quanto maior foi a densidade de camarões testada, maior foi a concentração de amônia total quantificada em cada saco de transporte. Por outro lado, não houve diferença significativa entre as concentrações de amônia não-ionizada quantificadas nos diferentes

tratamentos de *L. vannamei* ($F(2, 25)=,35$, $p=0,71$), já para *L. schmitti* houve diferenças ($F(2,27)=0,61$, $p=0,048$).

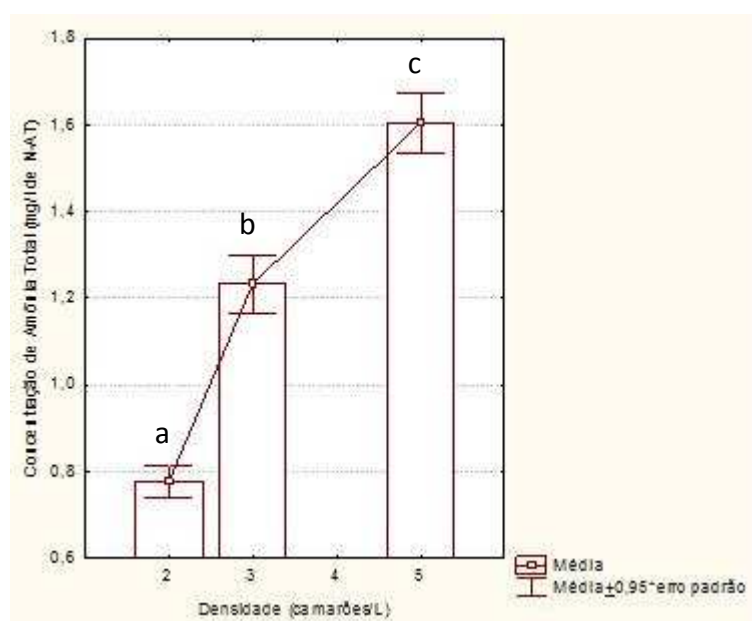


Figura 2 - Concentração de amônia total excretada, por juvenis de *Litopenaeus schmitti* durante duas horas e meia de transporte, em três densidades (N-AT = nitrogênio na forma de amônia total).

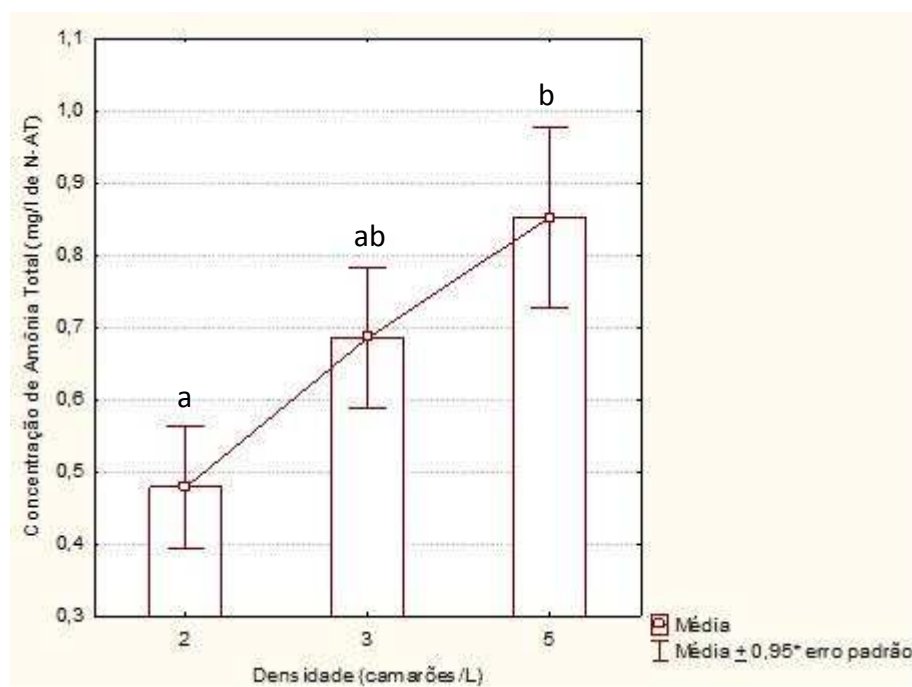


Figura 3 - Concentração de amônia total excretada, por juvenis de *Litopenaeus vannamei* durante duas horas e meia de transporte, em três densidades (N-AT = nitrogênio na forma de amônia total).

Os resultados obtidos em termos de concentração de amônia total (mg/L de N-AT), de amônia não-ionizada (mg/L de N-NH₃), de amônia total/peso seco de animal vivo (mg de N-AT/g) e de mortalidade durante o experimento estão representados na Tabela 1 e na Tabela 2.

Apesar das mortes, não houve diferença significativa entre as concentrações de amônia quantificadas em relação ao número de indivíduos vivos no final do experimento (EAV), quando comparado ao número inicialmente estocado em cada saco de transporte (EAI), para ambas as espécies. Assim, é possível afirmar que a morte dos camarões não teve interferência nas concentrações de amônia quantificadas. Com isso, para efeitos de cálculo, foram utilizados os resultados de excreção considerando os animais vivos no final do experimento.

A EAP quantificada para *L. schmitti* [$F(2,27)=1,90$, $p=0,17$] em cada tratamento está representada na Figura 4 e para *L. vannamei* [$F(2, 25)=0,04$, $p=,95$] na Figura 5. Na Tabela 3 é apresentada uma análise comparativa dos resultados obtidos para as duas espécies.

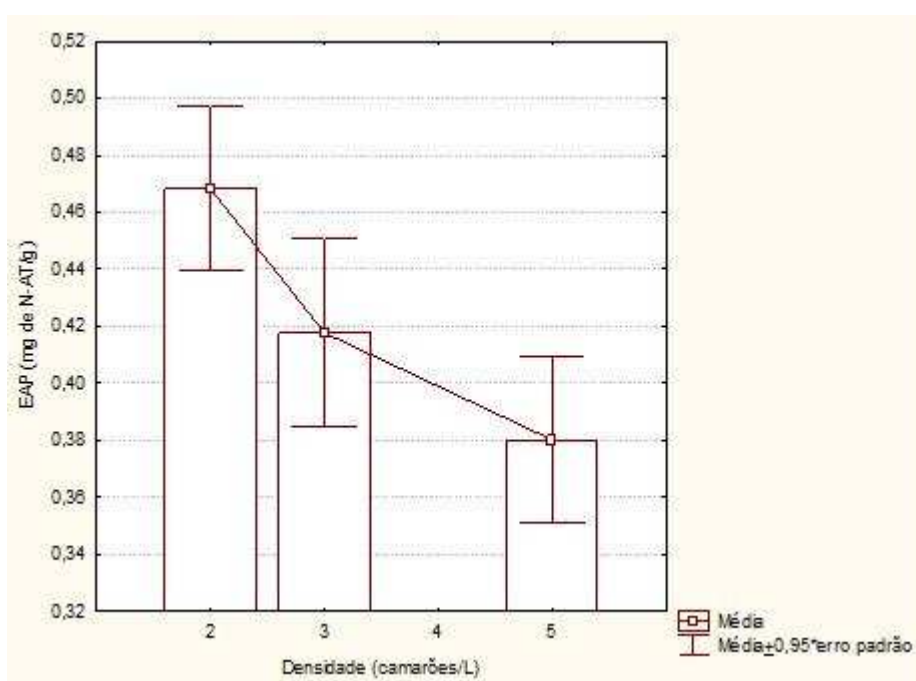


Figura 4 - Taxa de excreção de amônia total de *Litopenaeus schmitti* por unidade de peso de animal vivo (EAP), durante duas horas e meia de transporte, em três densidades.

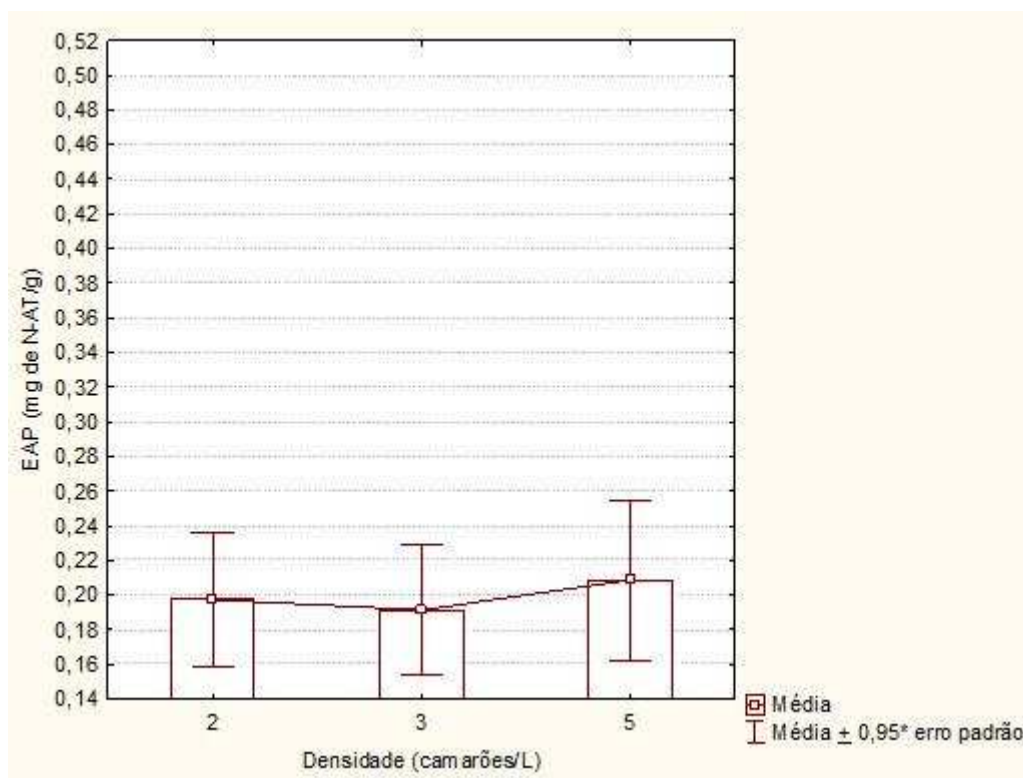


Figura 5 - Taxa de excreção de amônia total de *Litopenaeus vannamei* por unidade de peso de animal vivo (EAP), durante duas horas e meia de transporte, em três densidades.

Tabela 1 - Resultados obtidos durante o transporte de juvenis de *Litopenaeus schmitti* em diferentes densidades (média e desvio padrão entre parênteses), após duas horas e meia de transporte com dez repetições para cada tratamento.

Tratamento	Peso seco (g)	pH	Temperatura (°C)	Salinidade	Concentração de amônia total por unidade experimental (mg/L de N-AT)	Concentração de amônia não-ionizada por unidade experimental (mg/L de N-NH ₃)	Concentração de amônia total /peso seco de animal vivo (mg de N-AT/g)	Mortes
2 camarões/L	0,843(±0,16) ^{a*}	7,1(±0,27) ^a	23,1 (± 0,7)	12,2(± 0,86)	0,77(± 0,12) ^a	0,0045(± 0,001) ^a	0,46(±0,096)	0 ^a (0%)
3 camarões/L	1,049(±0,30) ^b	7,0(±0,36) ^b	23,2 (± 0,6)	12,4(± 0,51)	1,23(± 0,22) ^b	0,0073± 0,0006) ^b	0,41(±0,11)	1 ^{ab} (3,3%)
5 camarões/L	1,004(±0,29) ^{ab}	6,9 (±0,38) ^b	22,9 (± 0,5)	12,5(± 0,52)	1,60(± 0,23) ^c	0,0093(± 0,0007) ^c	0,38(±0,096)	6 ^b (12%)

*Letras diferentes representam diferença estatística na mesma coluna, com nível de significância de 5%.

Tabela 2 - Resultados obtidos durante o transporte de juvenis de *Litopenaeus vannamei* em diferentes densidades (média e desvio padrão entre parênteses), após duas horas e meia de transporte.

Tratamento	Peso seco (g)	pH	Temperatura (°C) - mediana	Salinidade	Concentração de amônia total por unidade experimental (mg/L de N-AT)	Concentração de amônia não-ionizada por unidade experimental (mg/L de N-NH ₃)	Concentração de amônia total /peso seco de animal vivo (mg de N-AT/g)	Mortes
2 camarões/L	1,38(±0,22)	7,28(±0,28)	22,9 (±0,07)	22	0,47 (±0,27) ^a	0,0038(±0,007)	0,19(±0,12)	1 (5%) ^a
3 camarões/L	1,43(±0,2)	7,22(±0,2)	22,8 (±0,08)	22	0,68 (±0,27) ^{ab}	0,0048 (±0,027)	0,19(±0,1)	3 (10%) ^{ab}
5 camarões/L	1,37(±0,19)	7,1(±0,16)	22,8 (±0,1)	22	0,85 (±0,39) ^b	0,0045 (±0,004)	0,20(±0,14)	13 (26%) ^b

*Letras diferentes representam diferença estatística na mesma coluna, com nível de significância de 5%.

Tabela 3 – Comparação dos resultados obtidos durante o transporte de juvenis de *Litopenaeus schmitti* e *Litopenaeus vannamei* em diferentes densidades, após duas horas e meia de transporte.

Tratamento	Peso (g)	Concentração de amônia total por unidade experimental (mg/L de N-AT)	Concentração de amônia não-ionizada por unidade experimental (mg/L de N-NH ₃)	Concentração de amônia total /peso seco de animal vivo (mg de N-AT/g)	Mortes
2 camarões/L	<i>L.vannamei</i> > <i>L. schmitti</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L. schmitti</i> = <i>L.vannamei</i>
3 camarões/L	<i>L.vannamei</i> > <i>L. schmitti</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L.vannamei</i> > <i>L. schmitti</i>
5 camarões/L	<i>L.vannamei</i> > <i>L. schmitti</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L. schmitti</i> > <i>L.vannamei</i>	<i>L.vannamei</i> > <i>L. schmitti</i>

*Comparação com teste "t", com nível de significância de 5%. Sinal de maior ou menor representa diferença estatística na comparação entre as espécies.

6. Discussão

Apesar das maiores concentrações de amônia terem sido identificadas nos tratamentos com a maior densidade, as taxas de excreção por unidade de peso apresentaram uma tendência inversa para *L. schmitti* e se mantiveram constantes para *L. vannamei*. Possivelmente, estes resultados foram decorrência de processos osmorregulatórios característicos de cada espécie.

Em camarões, o processo de excreção da amônia ocorre principalmente através das brânquias. Em situação normal, a concentração de amônia na hemolinfa é maior que nas células branquiais. Assim, o transporte para o interior das células branquiais é passivo. Já para eliminação da amônia para o meio aquático, o transporte é ativo, através de uma troca de cátions, Na^+ - NH_4^+ e envolve a ATPase. Para que o íon Na^+ seja transportado da célula branquial até a hemolinfa, há a necessidade de outro transporte ativo (Frías-Espéricueta e Páez-Osuna). Em ambientes com elevadas concentrações de amônia ocorre um aumento no consumo de energia, por conta da necessidade de eliminação dos excretas nitrogenados contra um gradiente ainda maior (Chen e Lin, 1995; Racotta e Hernández-Herrera, 2000).

Segundo Romano e Zeng (2007), em indivíduos expostos a altas concentrações de amônia, observa-se que a concentração de Na^+ na hemolinfa tende a ser menor que em situações normais, e também menor em relação a do meio. Outro fator destacado pelos autores é que nesse processo de controle ativo é comum que as concentrações de amônia total na hemolinfa sejam mantidas abaixo das concentrações externas.

Seguindo esses princípios, pode-se inferir que no experimento realizado com *L. schmitti*, a medida que a concentração de amônia no meio se elevava, aumentava a dificuldade para a manutenção das taxas de excreção por parte dos camarões, exigindo um maior gasto energético para que o processo se efetivasse. No caso dos testes com *L.vannamei* isso provavelmente não ocorreu, o que explica uma menor taxa total de amônia excretada.

Gomez-Jimenez *et al.* (2004) e Willason e Johnson (1986) observaram que pós-larvas de *L. vannamei*, em águas marinhas (salinidade 35ups), apresentam taxas de excreção de amônia menores que quando submetidas a salinidades de 1,5. Esse aumento de excreção devido à salinidade baixa pode resultar em uma menor tolerância à amônia (Lin e Chen, 2001), podendo ser um dos motivos das mortes observadas. Lemos *et al.* (2001), trabalhando com pós-larvas de *Farfantepenaeus. paulensis*, observaram que nas salinidades de 5 e 15ups a taxa de excreção individual/hora foi significativamente maior que em salinidades de 25 e 34ups. No caso de salinidades altas, as taxas de excreção costumam ser maiores durante as duas primeiras horas, já no caso das salinidades baixas o pico de excreção tende a ocorrer nos 5 primeiros minutos de exposição (Gomez-Jimenez *et al.*, 2004).

É sabido que quando a salinidade atinge valores inferiores ao ponto isosmótico, o camarão inicia um processo de catabolismo de aminoácidos livres para poder manter a concentração interna adequada, assim ocorre um aumento na produção de amônia (Dall *et al.*, 1990). A exposição às altas concentrações de amônia também desencadeia o mesmo processo metabólico (Chen *et al.*, 1994).

Wasiolesky (1999), estudando juvenis de *F. paulensis*, identificou que o ponto de equilíbrio osmótico dessa espécie ocorre na salinidade 22,9 ups. Já Chen *et al.* (1992) obtiveram um menor valor para *Fenneropenaeus chinensis*, 16,5 ups. Tais fatos salientam a influencia da salinidade na quantidade de amônia excretada, mas também, é importante ressaltar que os animais já se encontravam aclimatados àquela salinidade quando iniciado o experimento.

Sperandio (2004), testando pós-larvas de *Macrobrachium rosenbergii* (camarão de água doce), durante 4 horas de transporte, observou diminuição das taxas de excreção de amônia total com o aumento da salinidade (0, 2, 4, 6 e 8ups). Em outro experimento, testou juvenis da mesma espécie, em duas diferentes densidades (9 e 18/L) durante um transporte por 6 horas. Após o período, houve uma maior excreção no tratamento de maior densidade. Moraes (2004) também observou a mesma tendência no transporte de *L. vannamei* por 8 horas em diferentes densidades. No presente trabalho esta tendência foi observada para as duas espécies testadas.

Utilizando os dados obtidos de excreção de amônia total, de densidade e de peso obtidos por Sperandio (2004) em seu experimento com *M. rosenbergii* é possível calcular a excreção por unidade de peso que aqueles autores obtiveram. O cálculo mostra que também naquele caso houve uma tendência de maior taxa de excreção por unidade de peso ser observada no tratamento de menor densidade. Esses resultados corroboram com o que foi observado no presente estudo com *L. schmitti*.

O manejo de transporte em si também é considerado um fator estressante, podendo causar mortes imediatas ou modificar o comportamento do camarão

(Weibel *et al.*, 2001). O estresse causado pelo manejo e pela exposição a altas concentrações de amônia faz com que o camarão utilize a energia das proteínas musculares, aumentando a concentração de amônia na hemolinfa (Chen *et al.*, 1994). Como o manejo foi semelhante para todos os tratamentos, isso exclui a sua influência diferenciada nos resultados de excreção aqui observados.

Em soluções aquosas a amônia total é o resultado do equilíbrio entre amônia não-ionizada (NH_3) e a amônia ionizada (NH_4^+) (Allan *et al.* 1990). A amônia ionizada é consideravelmente menos tóxica que a não-ionizada (Frías-Espéricueta e Páez-Osuna). Assim, considerando-se os valores de N- NH_3 , quantificados nas unidades experimentais (próximos a 0,01 mg/L de N- NH_3), é provável que a maior taxa de mortalidade observada na densidade de 5 camarões/L tenha sido causada pela toxicidade da amônia nos sacos de transporte. O mais provável é que essa mortalidade seja resultante da combinação de fatores relacionados ao estresse metabólico provocado pelo aumento da densidade, pela manipulação dos animais ou o mesmo eventualmente pelo estresse prévio que os camarões são submetidos antes de chegarem aos tanques-rede. O importante é que todos esses fatores também estão presentes na situação que foi aqui avaliada, de transporte de camarões para sua utilização como isca-viva.

7. Conclusão

Juvenis de *Litopenaeus schmitti* e *Litopenaeus vannamei* foram afetados pelo aumento da densidade durante o transporte. O efeito subletal mais evidente do aumento da densidade foi a redução das taxas individuais de excreção de amônia por unidade de peso para *L. schmitti*. Porém, o aumento da densidade de transporte de 2 para 5 camarões/L também provocou aumento significativo das taxas de mortalidade dos animais durante o experimento, principalmente no caso do *L. vannamei*, que apesar de ser reconhecido como uma espécie de alta rusticidade apresentou maior taxa de mortalidade que a verificada para *L. schmitti*.

Portanto, *L. schmitti*, mostrou-se mais bem adaptado às condições empregadas no comércio de iscas-vivas de Guaratuba. Além de ser uma espécie nativa, e portanto sua eventual fuga não representar nenhum tipo de risco ambiental, o *L. schmitti* apresentou menor mortalidade durante o experimento, possui um menor custo de obtenção e, conseqüentemente, possibilita maiores margens de lucro para comerciantes locais. Os resultados sugerem a viabilidade do uso da densidade de 3 camarões/L durante o transporte.

8. Referências

- ALLAN, G.L., MAGUIRE, G.B., HOPKINS, S.J. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. **Aquaculture** v.91. p. 265-280. 1990.
- BAPTISTA, J.M.R., BAUMGARTEM M. G., NIENCHESKI L. F. H. **Caderno de Análises em Oceanografia Química**. Rio Grande. 1987. p. 50.
- CHAVES, P.T. e ROBERT, M.C. Embarcações, artes e procedimentos da pesca artesanal no litoral sul do estado do Paraná, Brasil. **Atlântica**, Rio Grande, n. 25, 53-59. 2003.
- CHEN, J.C., CHENG, S.Y., CHEN, C.T. Changes of oxyhemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part** .n.109A. p. 339–347. 1994.
- CHEN, J.C., LIN, C.Y.. Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels. **Aquaculture** v.136, 243–255. 1995.
- CHEN, J.C., LIN, M.N., LIN, J.L., TING, Y.Y.,. Effect of salinity on growth of *Penaeus chinensis* juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 102A. p. 343–346. 1992.
- DALL, W., HILL, B.J., ROTHLSBERG, P.C., SHARPLES, D.J., 1990 The Biology of the Penaeidae. In: Blaxter and Soutward (ed.) **Advances in Marine Biology**, v. 27. Academic Press, San Diego, p 489.
- FREIRE, C.A., ONKEN, H., MCNAMARA, J.C. A structure-function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. *Comparative Biochemistry and Physiology*. n. 151A. p. 272–304. 2008.
- FRÍAS-ESPERICUETA, M.G., HARFUSH-MELENDZ, M., PÁEZ-OSUNA F. Effects of ammonia on mortality and feeding of postlarvae shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. n. 65. p. 98-103. 2000.
- FRÍAS-ESPERICUETA, M.G., E PÁEZ-OSUNA, F. Toxicidad de los Compuestos del Nitrógeno em Camarones. **Camaronicultura y Medio Ambiente**. p. 253- 276.
- GOMEZ-JIMENEZ S., URIAS-REYES A.A., VAZQUEZ-ORTIZ F., HERNANDEZ-WATANABE G. Ammonia efflux rates and free amino acid levels in *Litopenaeus vannamei* postlarvae during sudden salinity changes. **Aquaculture**. v. 233. p. 573–581. 2004.

- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE.
Disponível em: www.ibge.gov.br> Acesso em: abril, 2008.
- LEMOS, D., PHAN, V.N., ALVAREZ, G. Growth, oxygen consumption, ammonia-N excretion, biochemical composition and energy content of *Farfantepenaeus paulensis* Pérez-Farfante (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) early postlarvae in different salinities. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v. 261. p. 55-74. 2001.
- LIN, Y.C., CHEN, J.C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v. 259, 109–119. 2001.
- MENDONÇA, J.T. **A pesca na região de Cananéia – SP, nos anos de 1995 e 1996**. São Paulo, 1998. 138f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Curso de Oceanografia Biológica, Universidade de São Paulo.
- MORAES, R.C. **Influência da densidade e idade no transporte de pós-larvas do camarão marinho *Litopenaeus vannamei***. 2004. Florianópolis. 33f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.
- OSTRENSKY, A.. **Toxicidade da amônia e do nitrito no processo produtivo de pós larvas de *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante 1967**. 1991. Curitiba. 104f. Tese (Mestrado em ciências biológicas). Pós-Graduação em Ciências Biológicas- Zoologia, Universidade Federal do Paraná.
- PEREIRA, L.A. **Cultivo do camarão branco do pacífico, *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931), em tanques-rede no litoral paranaense: estudo de caso**. 2004. Curitiba. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.
- RACOTTA, I.S., HERNÁNDEZ-HERRERA, R. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology** n. 125A. p. 437–443. 2000.
- ROMANO, N., ZENG, C. Acute toxicity of ammonia and its effects on the haemolymph osmolality, ammonia-N, pH and ionic composition of early juvenile mud crabs, *Scylla serrata* (Forskål). **Comparative Biochemistry and Physiology**. n. 148A. p. 278-285. 2007.
- SIEGEL, S. **Estatística Não-paramétrica para as Ciências do Comportamento**. São Paulo, McGraw-Hill, 350p. 1975.
- SILVA, J.L., NAKAMURA, I.T. Espécies de *Penaeus Fabricius*, 1798 (Crustacea, Penaeidae) do litoral do estado do Paraná, Brasil. **Acta Biológica Paranaense**. n.10/11, p. 199-214. 1981.

- SPERANDIO, L. M. **Transporte de pós-larvas e juvenis de camarão de água doce**. Jaboticabal, 2004. 51. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Programa de Pós –Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista.
- WASIELESKY, W.J. Produção de camarão marinho *Penaeus paulensis* no sul do Brasil: cultivo em estruturas alternativas. **Prêmio Jovem Cientista 1997, Publicação resumida dos trabalhos vencedores**. Conselho Nacional de desenvolvimento científico e tecnológico. Rio de Janeiro. 1999.
- WEIBEL, C., COYLE, S. TIDWELL, J.H., VANARNUM, A. The effect of biomass density on transport survival of juvenile freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**. v.11. n. 3. p. 517-63. 2001.
- WEIHRAUCH, D., MORRIS, S., TOWLE, D.W.. Ammonia excretion in aquatic and terrestrial crabs. **Journal Experimental Biology**. n. 207. p. 4491–4504. 2004.
- WILLASON, S.W., JOHNSON, K.S. A rapid, highly sensitive technique for the determination of ammonia in seawater. **Marine Biology**. v. 91. p. 285– 290. 1986.

**CAPÍTULO 2 - TOXICIDADE AGUDA DA AMÔNIA PARA JUVENIS DE
Litopenaeus schmitti (BURKENROAD, 1936) E DE *L. vannamei* (BOONE,
1931) UTILIZADOS COMO ISCA-VIVA NA PESCA ESPORTIVA.**

1. Resumo

Camarões empregados como isca-viva na pesca esportiva praticada no litoral do estado do Paraná, Brasil, são usualmente acondicionados em viveiros localizados nas próprias embarcações, onde são transportados durante duas ou mais horas até as áreas de pesca. Durante este período, os camarões excretam amônia na água em que são transportados, o que pode comprometer a qualidade dessa água e a própria sobrevivência dos animais. Neste estudo foi determinada a tolerância à amônia dos juvenis das duas principais espécies de camarões utilizadas como isca-viva no estado, *Litopenaeus schmitti* e *Litopenaeus vannamei*. Os animais foram obtidos com pescadores/comerciantes de isca-viva, que os mantêm em tanques-rede instalados na Baía de Guaratuba e submetidos a 5 tratamentos contendo as seguintes concentrações de amônia: 0, 5, 10, 20 e 45 mg/L de N-(NH₃ + NH₄⁺) nos experimentos com *L. schmitti* e 0, 20, 45, 65 e 90 mg/L de N-(NH₃ + NH₄⁺) nos experimentos com *L. vannamei*. Todos os tratamentos foram testados em triplicata. Observou-se que as CL₅₀ (concentração letal para 50% dos indivíduos) em 96 horas para *L. schmitti* foram de 2,48 mg/l de N-(NH₃ + NH₄⁺) e de 0,09 de N-(NH₃), respectivamente. Já as CL₅₀ 96 horas para juvenis de *L. vannamei* foram de 21,69 mg/l de N-(NH₃ + NH₄⁺) e de 0,76 de N-(NH₃).

Palavra-chave: carcinicultura, amônia, toxicidade, maricultura, tanque-rede

ACUTE TOXICITY OF AMMONIA TO JUVENILE OF *Litopenaeus schmitti*
(Burkenroad, 1936) AND *L. vannamei* (Boone, 1931) USED AS LIVE BAIT IN
SPORT FISHING

2. Abstract

Shrimp employed as live-bait by fishing sports practiced on the coast of Paraná State, Brazil, are usually kept in nurseries located in the boats where they are transported for two hours or more to the fishing grounds. During this period, the

shrimp excrete ammonia in the water in which they are transported, which can compromise the quality of water and the survival of animals. This test determined the tolerance to ammonia of juveniles of the two main species of shrimp used as live bait in the state, *Litopenaeus schmitti* and *Litopenaeus vannamei*. The animals were obtained from fishermen/salers of live bait, keeping them in cages located in the Bay of Guaratuba. The animals were subjected to 5 treatments with the following concentrations of ammonia: 0, 5, 10, 20 and 45 mg/L N-(NH₃ + NH₄⁺) in experiments with *L. schmitti* and 0, 20, 45, 65 and 90 mg/L of N-(NH₃ + NH₄⁺) in experiments with *L. vannamei*. All treatments were tested in triplicate. It was observed that the LC₅₀ (lethal concentration for 50% of individuals) in 96 hours for *L. schmitti* were 2.48 mg/L of N-(NH₃ + NH₄⁺) and 0.09 N-(NH₃) for *L. vannamei*. Since the LC₅₀ 96 hours for juvenile of *L. vannamei* were 21.69 mg/L of N-(NH₃ + NH₄⁺) and 0.76 N-(NH₃) for *L. schmitti*.

Keyword: shrimp, live bait, mariculture, cage

3. Introdução

O camarão branco, *Litopenaeus schmitti*, é uma espécie que se distribui entre o Caribe e o litoral de Santa Catarina, Brasil (Silva e Nakamura, 1981). *Litopenaeus vannamei*, por sua vez, é uma espécie originária da costa pacífica das Américas e que se distribui desde Sonora, México, até o norte do Peru (Frías-Espéricueta *et al.*, 2000). Essas duas espécies são comumente utilizadas como isca-viva na pesca esportiva praticada no litoral do estado do Paraná, Brasil, o que gera uma grande demanda por indivíduos juvenis para atendimento dessa demanda e tem criado condições para o desenvolvimento de novas técnicas de manutenção e/ou de cultivo dessas espécies em cativeiro na região.

A amônia é o principal produto nitrogenado da excreção de crustáceos (Weihrauch *et al.*, 1999, 2004), além de ser um composto reconhecidamente tóxico para a fauna marinha (Person-Le Ruyet, 1998; Lin e Chen, 2001;

Romano e Zeng, 2007; Freire *et al.*, 2008;). O acúmulo de amônia na água em sistemas de produção aquícola pode ser decorrente de fatores como o manejo inadequado das estruturas de cultivo, alimentação excessiva e do elevado nível de estresse a que os animais são submetidos (Frías-Espericueta e Paes-Osuna). A tolerância à amônia, por sua vez, é espécie específica (Rebelo *et al.*, 2000; Lin e Chen, 2001; Romano e Zeng, 2007) e por isso mesmo é importante que se conheçam os limites de tolerância apresentados pelas espécies com potencial de cultivo ou mesmo de utilização comercial de organismos vivos.

O presente estudo avalia, de forma comparativa, a toxicidade aguda da amônia para juvenis das duas principais espécies de camarões marinhos empregadas como iscas-vivas na pesca esportiva no litoral do estado do Paraná.

4. Material e métodos

Os juvenis (peso seco médio 0,46g para *L. schmitti* 1,17g para *L. vannamei*) das duas espécies utilizadas nos experimentos foram adquiridos de pescadores artesanais que também exercem o comércio de isca-viva junto aos pescadores esportivos que frequentam a Baía de Guaratuba. Os exemplares de *L. schmitti* foram capturados por esses mesmos pescadores na própria baía, enquanto os juvenis de *L. vannamei* são previamente adquiridos por eles de carcinicultores sediados em Santa Catarina. Os exemplares de ambas as espécies foram mantidos previamente por três dias em tanques-rede posicionados em frente à Ilha da Pescaria (25°51'20" S 48°34'39" O). Os

animais eram alimentados com manjubas e sardinhas picadas, uma vez ao dia. Os camarões foram retirados dos tanques-rede com auxílio de um puçá, e transferidos para um tanque de polipropileno de 100 L, onde foram contados e selecionados. Os indivíduos que apresentavam ferimentos e/ou natação errática foram imediatamente descartados.

Depois de selecionados, os animais foram colocados em galões plásticos com capacidade para 20 L, em presença de aeração constante, na densidade de 2 indivíduos/L e transportados, durante uma hora e meia, até o Laboratório de Pesquisa com Organismos Aquáticos (LAPOA), do Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais, da Universidade Federal do Paraná (GIA - UFPR), em Curitiba, a 110 km de distância. No laboratório, os animais foram retirados dos galões e transferidos para tanques com capacidade para 1.000L, contendo 250L de água, na densidade de 0,5 camarão/L, em presença de aeração constante. Nesses tanques os animais permaneceram em aclimação durante 24 horas em água do mar na mesma salinidade (20 ups) e na mesma temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) que as quantificadas no momento da sua retirada dos tanques-rede. Durante esse período não foram alimentados.

Testes preliminares foram realizados para avaliação da sensibilidade dos camarões à exposição à amônia. Soluções-teste de amônia foram preparadas a partir da dissolução de quantidades pré-pesadas de cloreto de amônio (NH_4Cl), com grau analítico, em água marinha previamente clorada, neutralizada com tiosulfato de sódio e filtrada através de filtro de cartucho de $5\mu\text{m}$. Nesses testes foram avaliados os efeitos das concentrações 1, 10, 100,

1.000mg/L de N-AT (AT = Amônia Total, $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) sobre a sobrevivência dos animais.

Nos testes definitivos foram empregadas 5 concentrações (tratamentos) com 3 repetições cada, em sistema semi-estático: 0, 5, 10, 20 e 45 mg/L de N-AT para *L. schmitti* e 0, 20, 45, 65 e 90 mg/L de N-AT para *L. vannamei*.

As unidades experimentais utilizadas eram constituídas por baldes graduados com capacidade para 20 L, contendo 8 L de solução-teste de amônia em salinidade 20ups e temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, sob aeração suave e constante, e cobertos com redes para evitar a fuga dos animais. Cada unidade foi povoada com 8 camarões. A cada 24 h era feita a renovação total das soluções-teste de cada balde e registrado o número de animais mortos, que eram concomitantemente retirados da unidade experimental, secos em estufa à 60°C por 24h e posteriormente pesados. Os experimentos tiveram duração total de 96 h,

Para a avaliação da eventual influência do peso dos animais na sensibilidade à amônia, os resultados, em termos de peso seco dos camarões, foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posteriormente à ANOVA, seguida por teste *a posteriori* utilizando-se o método de Scheffé, sempre com nível de significância de 5%. Dados que não se ajustaram à curva normal de Gauss foram analisados através do teste de Kruskal-Wallis (Siegel, 1975).

Os dados de sobrevivência ao longo das 96 horas de teste foram submetidos ao software BioStat 2008 e tratados utilizando-se os método de

Probit, com nível de significância de 5%. Desta forma, foram determinadas as CL_{50} (concentrações letais para 50% dos indivíduos) e as CL_{100} (concentrações letais para 100% dos indivíduos) em 24, 48, 72 e 96 h. Os valores obtidos, em termos N-AT, foram transformados, para cálculo das CL_{50} e das CL_{100} em termos de N-NH₃ (amônia não-ionizada), utilizando-se os valores medidos de pH, temperatura e salinidade nas soluções-teste, através das equações descritas por Ostrensky (1991):

$$[N-NH_3] = ([N-AT]) / (1 + 10^{(pKa-pH)})$$

$$pKa = (pKs + 0,0324 \times T) / (298 - (273 + T))$$

$$pKs = 9,2516 + 0,153 \times F$$

$$F = 19,9273 \times S / (1000 - (1,005109 \times S))$$

Sendo:

NH₃ – Amônia não-ionizada

NH₄⁺ – Amônia ionizada

N-NH₃⁻ Concentração de nitrogênio na forma de amônia não-ionizada

N-AT – Concentração de nitrogênio na forma de amônia total (NH₃+NH₄⁺)

T - temperatura (em °C)

S - salinidade

5. Resultados

O pH da água nas soluções-teste foi de 7,88, variando de 7,84 a 7,91. Não foram registradas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) de pH entre os diferentes tratamentos ou entre as repetições do mesmo tratamento.

Os resultados obtidos das CL_{50} e CL_{100} quantificadas para as duas espécies estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Comparação das CL_{50} , e intervalo de confiança em termos de amônia total (N-AT) e de amônia não-ionizada (N-NH₃) para juvenis de *Litopenaeus schmitti* e de *L. vannamei* em 24, 48, 72 e 96 h.

Tempo (h)	CL_{50}			
	(mg/l de N-AT)		(mg/l de N-NH ₃)	
	<i>L. schmitti</i>	<i>L. vannamei</i>	<i>L. schmitti</i>	<i>L. vannamei</i>
24	15,31 7,47 – 34,27	NC	0,54 0,26 – 1,21	NC
48	4,53 0,9 – 7,6	98,14 61,4-115,68	0,16 0,031 – 0,26	3,43 2,16 – 4,08
72	3,3 0,3 – 6,13	27,78 13,4 – 38,25	0,11 0,01 – 0,21	0,98 0,47 – 1,35
96	2,48 0,03 – 5,36	21,69 14,01 - 27,65	0,09 0,001 – 0,18	0,76 0,49 – 0,97

NC: resultados que não puderam ser calculados através do método de Probit.

Tabela 5 - Comparação das CL_{100} , em termos de amônia total (N-AT) e de amônia não-ionizada (N-NH₃) para juvenis de *Litopenaeus schmitti* e de *L. vannamei* em 24, 48, 72 e 96 h.

Tempo (h)	CL_{100}			
	(mg/l de N-AT)		(mg/l de N-NH ₃)	
	<i>L. schmitti</i>	<i>L. vannamei</i>	<i>L. schmitti</i>	<i>L. vannamei</i>
24	187,57	NC	6,65	NC
48	31,39	744,31	1,11	26,05
72	23,24	115,24	23,24	4,09
96	21,24	51,74	21,42	1,83

NC: resultados que não puderam ser calculados através do método de Probit.

Observou-se que os exemplares de *L. vannamei* utilizados nos experimentos eram mais pesados e, portanto, maiores que os de *L. schmitti* (Tabela 6).

Tabela 6 - Pesos secos médios e respectivos desvios padrões dos juvenis de *Litopenaeus schmitti* e de *L. vanammei* expostos à amônia por 96 h (n = 8 animais por unidade experimental).

Concentração	Peso seco médio <i>L. schmitti</i> (g)	Peso seco médio <i>L. vanammei</i> (g)
0	0,48 ($\pm 0,19$)	1,28 ($\pm 0,32$)
5	0,35 ($\pm 0,12$)	
10	0,51 ($\pm 0,2$)	
20	0,44 ($\pm 0,12$)	1,18 ($\pm 0,32$)
45	0,51 ($\pm 0,14$)	1,08 ($\pm 0,21$)
60		1,19 ($\pm 0,25$)
90		1,11 ($\pm 0,28$)

Nível de segurança

De acordo com Sprague (1971), *apud* Romano e Zeng (2007), para se obter uma estimativa sobre o nível de segurança da amônia para camarões (concentração máxima em que a amônia não ocasionaria efeitos tóxicos para a espécie) bastaria multiplicar o valor obtido na CL_{50} 96h pelo fator de aplicação de 0,1. Sendo assim, o nível “seguro” de N-AT para *L. schmitti* seria de 0,24 mg/L (0,009mg/L de N-NH₃) e para *L. vannamei* de 2,16 mg/L (0,076 mg/L de N-NH₃).

6. Discussão

Os mecanismos de toxicidade da amônia para camarões e para outros organismos cultivados têm sido alvo de estudos por diversos autores. A exposição de camarões a ambientes ricos em amônia leva a um acúmulo

dessa substância na hemolinfa. Exposições por longo prazo podem apresentar efeitos tóxicos persistentes, mesmo após os animais terem sido transferidos a ambientes isentos de amônia (Mugnier e Justou, 2004). Campbell (1973) identificou três possíveis mecanismos de ação da amônia sobre camarões peneídeos: a) efeito sobre o pH, que por sua vez influencia a catálise enzimática. Assim, excessos de NH_3 podem alterar o metabolismo celular pela alcalinização de regiões próximas. Como o NH_3 tende a reagir com os íons H^+ presentes meio, há uma tendência de alcalinização, que pode afetar o funcionamento enzimático e o equilíbrio iônico nas membranas biológicas; b) o excesso de amônia nas mitocôndrias leva a uma reversão da glutamato desidrogenase, diminuindo a concentração de ATP no interior das células; c) Os sais de amônio inibem o transporte ativo de Na^+ nos tecidos, o que afeta o transporte de outros íons e a reabsorção de água. Como consequência, ocorre um acúmulo de K^+ , afetando as trocas iônicas ao nível das membranas.

Desta forma, pode-se constatar que o pH, oxigênio dissolvido e a salinidade do meio em que os camarões se encontram podem influenciar decisivamente na toxicidade da amônia para uma determinada espécie. Além destes parâmetros, destaca-se a temperatura, que influencia diretamente no metabolismo de organismos heterotérmicos (Kir *et al.*, 2004; Alcaraz *et al.*, 1997). No entanto, nos experimentos aqui realizados não houve variação de temperatura.

O pH é o parâmetro que mais diretamente afeta o equilíbrio entre as proporções de amônia ionizada (menos tóxica) e não-ionizada (mais tóxica) presentes em soluções aquosas (Emerson *et al.*, 1975; Whitfield, 1974; Bower and Bidwell, 1978). No presente caso, contudo, foi observada uma tendência

de redução média de $\pm 0,1$ unidade de pH durante as 24 horas envolvidas entre as renovações das soluções-teste de amônia, valores próximos, mas ainda assim inferiores aos observados por Ostrensky (1991). Não houve diferenças estatisticamente significativas de pH das soluções-teste entre as espécies testadas. Assim, as variações de pH quantificadas no presente estudo não parecem ter também ter sido determinantes para os resultados obtidos.

Sabe-se que a exposição dos camarões a elevadas concentrações de amônia provoca um conseqüente o aumento do consumo de oxigênio (Chen e Lin, 1995; Racotta e Hernandez-Herrera, 2000). Mugnier *et al.* (2008) testaram a sobrevivência do camarão *L. stylirostris* em concentrações sub-letais de amônia em ambientes normais e com baixa concentrações de oxigênio. Em condições de baixos níveis de oxigênio a mortalidade observada foi quase 3 vezes superior, evidenciando o potencial sinergismo existente entre esses dois fatores.

No presente experimento, os testes foram realizados em condições estáveis de oxigênio dissolvido, garantidas pela aeração empregada em todos os tratamentos, de modo que esse efeito não pode ser avaliado de forma mais conclusiva. Contudo, apesar dos camarões de ambas as espécies terem apresentado níveis de tolerância superiores aos valores excretados durante condições de transporte (vide capítulo 2), eventuais queda das concentrações de oxigênio dissolvido podem potencializar os efeitos tóxicos da amônia. Essa combinação é possível de acontecer em condições de transporte de iscas-ivas, uma vez que raramente os camarões são transportados em presença de aeração.

Tabela 7 - Comparação entre resultados obtidos em testes de toxicidade da amônia para diferentes espécies de camarões.

Número	Espécie	Idade	Salinidade	CL ₅₀ - 96 horas mg/l N-AT	CL ₅₀ - 96 horas mg/l N-NH ₃	Referência
1	<i>Penaeus monodon</i>	Pós-larva	34	11,51	1,04	Chin e Chen 1987 <i>apud</i> Romano e Zeng (2007)
2	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Pós-larva		12,2		Frias-Espericueta et al 2000
3	<i>L. vannamei</i>	Juvenil	15	24,39	1,2	
4	<i>L. vannamei</i>	Juvenil	25	35,4	1,57	Lin e Chen 2001
5	<i>L. vannamei</i>	Juvenil	35	39,54	1,6	
6	<i>L. vannamei</i>	Juvenil	34	65,2		Frias-Espericueta <i>et al</i> (1999)
7	<i>L. vannamei</i>	Adulto	34	70,9		
8	<i>Metapenaeus ensis</i>	Juvenil	25	35,59	0,87	Nam e Chen 1991 <i>apud</i> Romano e Zeng (2007)
9	<i>P. penicillatus</i>	Juvenil	25	24,88	0,99	Chen e Lin 1991 <i>apud</i> Romano e Zeng (2007)
10	<i>P. chinensis</i>	Adulto		35,1		Chen et al (1990b) <i>apud</i> Frias-Espericueta <i>et al</i> (1999)
11	<i>P. chinensis</i>	Juvenil	10	28,18	1,94	
12	<i>P. chinensis</i>		20	38,87	4,46	Chen e Lin 1992
13	<i>P. chinensis</i>		30	42,44	4,47	
14	<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Juvenil	28	38,75	1,1	Ostrensky e Wasielesky 1995
15	<i>F. paulensis</i>	Adulto	28	42,49	1,06	
16	<i>P. semisulcatus</i>	Pós-larva	15	7,07	0,34	
17	<i>P. semisulcatus</i>	Pós-larva	20	7,11	0,35	
18	<i>P. semisulcatus</i>	Pós-larva	25	8,94	0,39	
19	<i>P. semisulcatus</i>	Pós-larva	30	14,51	0,61	Kir e Kumlu 2006
20	<i>P. semisulcatus</i>	Pós-larva	35	18,72	0,75	
21	<i>P. semisulcatus</i>	Pós-larva	40	19,06	0,74	
22	<i>P. semisulcatus</i>	Juvenil	39	26,72	1,8	
23	<i>L. vannamei</i>	Juvenil	20	21,69	0,76	Presente estudo
24	<i>L. schmitti</i>	Juvenil	20	2,48	0,09	Presente estudo

Uma análise dos resultados apresentados na Tabela 7 indica uma grande diversidade resultados obtidos para diferentes espécies quando se relaciona a salinidade e a toxicidade da amônia para camarões. Uma análise de correlação dos dados apresentados nesta tabela indicou apenas uma leve tendência de redução da toxicidade da amônia total com o aumento da salinidade ($r^2 = 0,10$, $p < 0,05$). O estudo de Lin e Chen (2001) com *L. vannamei* é representativo dessa tendência. Entretanto, o baixo coeficiente de determinação dessa relação pode ser influenciado pelo estágio de vida dos camarões e pelos seus mecanismos específicos de regulação osmótica (Dall *et al.*, 1990). Lin e Chen (2001) obtiveram resultados semelhantes aos do presente estudo, apesar da diferença da salinidade utilizada nos testes.

Dados complementares sobre a osmorregulação de *L. schmitti* não foram encontrados na literatura. Contudo, como essa é uma espécie estuarina, capturada naturalmente na Baía de Guaratuba, a salinidade testada não parece ter tido qualquer efeito na alta sensibilidade da espécie à exposição à amônia. No caso de *L. vannamei*, a elevada tolerância à variação de salinidade tende a minimizar os seus efeitos sobre a toxicidade da amônia. Li *et al.* (2007) observaram que salinidades próximas de 20ups são ideais para crescimento da espécie. Este valor está dentro dos limites sugeridos por Vinatea (1997), que concluiu que a salinidade ideal a espécie variaria entre 15 e 25 ups. Ponce-Palafox *et al.* (1997) concluíram que salinidades entre 30 e 40 ups não influenciaram no desenvolvimento de *L. vannamei*.

Frías-Espéricueta *et al.* (2000) concluíram que ao longo do seu desenvolvimento ontogénico *L. vannamei* se torna mais tolerante à amônia. Quando se observa a Tabela 7 percebe-se que esta tendência se repete para várias outras espécies. Ainda assim, apenas a diferença de peso médio entre os espécimes usados nos experimentos também não parece ter sido o fator preponderante a explicar os resultados obtidos nos testes de toxicidade.

L. schmitti demonstrou ser muito menos tolerante à amônia que os juvenis de *L. vannamei*. Aliás, quando se comparam os resultados obtidos por vários autores, trabalhando com as mais variadas espécies de camarões peneídeos, observa-se que a menor CL₅₀-96h quantificada para (7,07 mg/L N-AT para pós-larvas de *P. semisulcatus* (Kir e Kumlu, 2006)), é quase três vezes maior que aquele encontrado para juvenis de *L. schmitti* no presente estudo.

7. Conclusão

Os resultados aqui obtidos ajudam, ainda que parcialmente, a entender porque os comerciantes de iscas-vivas optam por comercializar regularmente juvenis de uma espécie exótica como *L. vannamei* para a pesca esportiva. Sua grande rusticidade, aqui representada pela sua tolerância à amônia, compensa os maiores custos e as dificuldades logísticas envolvidos na sua aquisição. Contudo, por se tratar de uma espécie nativa, com grande potencial para geração de renda a partir da exploração das capturas locais, os estudos para aprimoramento da tecnologia de aproveitamento de *L. schmitti* como isca-viva para pesca esportiva devem ser estimulados.

8. Referências

- ALCARAZ, G., CHIAPPA-CARRARA, X., VENEGAS, C. Temperature tolerance of *Penaeus setiferus* post larvae exposed to ammonia and nitrite. **Aquatic Toxicology**. n. 39. p. 345– 353.1997.
- BOWER, C.E., BIDWELL, J.P. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH, and salinity. **Journal of Fisheries Research Board of Canada**. n. 35.p 1012– 1016. 1978.
- CAMPBELL, J. W. Nitrogen excretion. 1973. p.279 – 316. In C. L. Prosser (Ed.). **Comparative animal physiology**. W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- CHEN, J.C., LIN, C.Y. Lethal effects of ammonia on *Penaeus chinensis* Osbeck juveniles at different salinity levels. **Journal of experimental Marine Biology and Ecology**. n. 156. p. 139–148. 1992.
- CHEN, J.C., LIN, C.Y. Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels. **Aquaculture**. p.136. n. 243– 255. 1995.
- DALL, W., HILL, B.J., ROTH LISBERG, P.C., SHARPLES, D.J., The Biology of the Penaeidae. In: Blaxter and Soutward (ed.) **Advances in Marine Biolog.**, v. 27.p 489. 1990.
- EMERSON, K. ROSEMARIE, .C. R., RICHARD, E. L., THURSTON, R. V. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. **Journal of Fisheries Research Board of Canada**. n. 32. p. 2379 – 2383. 1975.
- FREIRE, C.A., ONKEN, H., MCNAMARA, J.C. A structure-function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. **Comparative Biochemistry Physiology**.151A, 272–304. 2008.
- FRÍAS-ESPERICUETA, M. G., e PÁEZ-OSUNA, F. Toxicidad de los Compuestos del Nitrógeno em Camarones. **Camaronicultura y Medio Ambiente**. p. 253- 276. Sem ano.
- FRÍAS-ESPERICUETA, M.G., HARFUSH-MELENDEZ, M., PÁEZ-OSUNA F. Acute Toxicity of Ammonia to Juvenile Shrimp *Penaeus vannamei* Boone. **Bulletin of Enviromental Contamination and Toxicology**. n. 62. p. 646- 652. 1999.

- FRÍAS-ESPERICUETA, M.G., HARFUSH-MELENDEZ, M., PÁEZ-OSUNA F. Effects of ammonia on mortality and feeding of postlarvae shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. n. 65. p. 98-103. 2000.
- KIR, M., KUMLU, M. Acute toxicity of ammonia to *Penaeus semisulcatus* postlarvae in relation to salinity. **Journal of World Aquaculture Society**. n. 37. p. 231–235. 2006.
- KIR, M., KUMLU, M., EROLDOGAN, O.T. Effects of temperature on acute toxicity of ammonia to *Penaeus semisulcatus* juveniles. **Aquaculture**. n. 241.p 479–489. 2004.
- LI, E., CHEN, L., ZENG, C., CHEN, X., YU, N., LAI, Q. QIN, J. G. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. **Aquaculture**. n. 265. p. 385–390.2007.
- LIN, Y.C., CHEN, J.C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. **Journal of experimental Marine Biology and Ecology**. n. 259. p. 109–119. 2001.
- MUGNIER, C., JUSTOU, C. Combined effect of external ammonia and molt stage on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* physiological response. **Journal of experimental Marine Biology and Ecology**. n. 309. p. 35–46. 2004.
- MUGNIER, C., ZIPPER, E., GOARANT, C., LEMONNIER, H. Combined effect of exposure to ammonia and hypoxia on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* survival and physiological response in relation to molt stage. **Aquaculture** n. 274. p. 398–407. 2008.
- OSTRENSKY, A. **Toxicidade da amônia e do nitrito no processo produtivo de pós larvas de *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante**, 1967. 1991. Curitiba. 104f. Tese (Mestrado em ciências biológicas). Pós-Graduação em Ciências Biológicas- Zoologia, Universidade Federal do Paraná.
- OSTRENSKY, A., WASIELESKY, W. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. **Aquaculture**, 132:339-347. 1995.
- PERSON-LE RUYET, J.; BOEUF, G. ZAMBONINO, J. INFANTE, S. HELGASON, A.; LE ROUX E. Short-term physiological changes in turbot and seabream juveniles exposed to exogenous ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology**. n. 119A. p. 511-518. 1998.

- PONCE-PALAFOX, J., MARTINEZ-PALACIOS, C.A., ROSS, L.G.,. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquaculture** 157, 107–115. 1997.
- RACOTTA, I. S., HERNANDEZ-HERRERA, R. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology**. n. 125^a. p. 437–443. 2000.
- REBELO, M.F., RODRIGUEZ, E.M., SANTOS, E.A., ANSALDO, M., Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 125, 157–164. 2000.
- ROMANO N., ZENG, C. Acute toxicity of ammonia and its effects on the haemolymph osmolality, ammonia-N, pH and ionic composition of early juvenile mud crabs, *Scylla serrata* (Forskål). **Comparative Biochemistry and Physiology**. n. 148A. p. 278–285. 2007.
- SIEGEL, S. **Estatística Não-paramétrica para as Ciências do Comportamento**. São Paulo, McGraw-Hill, 350p. 1975.
- SILVA, J. L., NAKAMURA, I. T. Espécies de *Penaeus fabricius*, 1798 (Crustacea, Penaeidae) do litoral do estado do Paraná, Brasil. **Acta Biológica Paranaense**. n.10/11, p. 199-214. 1981.
- VINATEA, L. A. **Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões**. 1. ed. Florianópolis: UFSC, 1997.
- WEIHRAUCH, D., BECKER, W., POSTEL, U., LUCK-KOPP, S., SIEBERS, D., Potential of active excretion of ammonia in three different haline species of crabs. **Journal of Comparative Physiology**. n.169B. p. 25–37. 1999.
- WEIHRAUCH, D., MORRIS, S., TOWLE, D.W.. Ammonia excretion in aquatic and terrestrial crabs. **Journal Experimental Biology**. n. 207. p. 4491–4504. 2004.
- WHITFIELD, M. The hydrolysis of ammonium ions in sea water – a theoretical study. *Journal of Marine Biology*. n. 54. p. 565 – 580. 1974.

CAPÍTULO 3 - HISTOPATOLOGIA DE BRÂNQUIAS E DE HEPATOPÂNCREAS DE JUVENIS DE *LITOPENAEUS VANNAMEI* (BOONE, 1931) EXPOSTOS À AMÔNIA

1. Resumo

A amônia apresenta efeitos tóxicos para organismos aquáticos, podendo provocar alterações teciduais que afetam processos fisiológicos e até causar a morte desses organismos. O objetivo deste trabalho foi avaliar se juvenis de *Litopenaeus vannamei* apresentam alterações teciduais específicas quando expostos a elevadas concentrações de amônia. Juvenis de *L. vannamei* provenientes de cultivos em tanques-rede em Guaratuba-PR foram aclimatados em laboratório e submetidos a diferentes concentrações de amônia por 24 h: 0 (controle), 5, 17, 100, 250 e 1.000 mg/l N-AT (nitrogênio na forma de amônia total, $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$). Os animais foram monitorados e a taxa de sobrevivência registrada. Amostras de brânquias e hepatopâncreas foram coletadas, fixadas em Solução de Davidson (ALFAC) e preservadas em álcool 70°. Utilizou-se o procedimento histotécnico de rotina, com desidratação em uma série crescente de alcóois, diafanização em xilol, parafinização a 56°C e secção em micrótomo (5 μm). Lâminas permanentes foram produzidas em Hematoxilina de Harris e Eosina e analisadas em microscópio óptico. A análise foi realizada por amostragem, com determinação de índices de impactos branquial (IIBr) e hepatopancreático (IIH). Mortalidade e alterações na capacidade de equilíbrio e natação foram mais frequentes nos tratamentos com 250 e 1.000 mg/L N-AT). Foram observadas evidências de que a amônia, quando em altas concentrações, provoca maior aderência da cutícula no epitélio branquial. Já as alterações hepatopancreáticas identificadas não demonstraram correlação com as concentrações de amônia testadas

Palavras-chave: *Lesões teciduais, toxicidade, camarão-cinza microscopia óptica, patologia*

HISTOPATHOLOGY OF GILLS AND HEPATOPANCREAS OF JUVENILE Litopenaeus vannamei (Boone, 1931) EXPOSED TO AMMONIA

2. Abstract

Ammonia is toxic to aquatic organisms, may cause tissue changes that affect physiological processes and even cause death of these organisms. The objective of this study was to evaluate whether juvenile *Litopenaeus vannamei* have specific tissue changes when exposed to high concentrations of ammonia.

L. vannamei juveniles cultivated under cages in Guaratuba-PR were acclimated in the laboratory and subjected to different concentrations of ammonia for 24 h: 0 (control), 5, 17, 100, 250 and 1,000 mg / l N-AT (nitrogen form of total ammonia, NH₃ + NH₄⁺). The animals were monitored and the survival rate recorded. Samples of gills and hepatopancreas were collected, fixed in Davidson solution and preserved in alcohol 70°. We used preceded histologic routine with dehydration in an ascending series of alcohols, diafanization in xylene, paraffinization at 56 °C and in section microtome (5µm). Slides were produced in Harris hematoxylin and eosin and examined under a light microscope. The analysis was performed on samples to determine levels of impacts gill (IIBr) and hepatopancreatic (IIH). Mortality and changes in the ability to balance and swimming were more frequent in the treatments with 250 and 1000 mg / l P-AT). We observed evidence that ammonia, while at high concentrations, causes greater adherence to the cuticle in the gill epithelium. Since the hepatopancreatic changes are identified don't showed correlation with the concentrations of ammonia tested.

Keywords: tissue injury, toxicity, gray shrimp, optical microscopy, pathology

3. Introdução

O camarão-cinza, *Litopenaeus vannamei*, é uma espécie tropical, que ocorre desde Sonora, no México, até o nordeste do Peru (Frias-Espericueta, 2000). Apresenta grande importância econômica e é uma das espécies mais cultivadas no mundo (Boscardim, 2008). No Brasil, hoje é praticamente a única espécie de camarão cultivada comercialmente.

A amônia ocorre naturalmente no ambiente (Martín e Frederico, 2001), mas, não raro, também pode aportar a partir da poluição industrial, do lançamento de efluentes domésticos e agrícolas e de mudanças ambientais (Rebelo et al., 2000). Além de ser o principal produto do catabolismo protéico de crustáceos, a amônia é um composto comprovadamente tóxico e que pode provocar alterações fisiológicas significativas, influenciando no crescimento e

na ingestão de alimentos (Racotta e Hernández-Herrera, 2000; Mugnier e Juston, 2004), afetando a sobrevivência de camarões peneídeos (Allan *et al.*, 1990; Chen *et al.*, 1990; Frias- Espericueta, 2000; Kir *et al.*, 2004).

As brânquias dos camarões são fundamentais na respiração, no balanço iônico, na regulação osmótica desses animais (Bhavan e Geraldine, 2000) e também atuam na excreção da amônia (Freire *et al.*, 2008). O hepatopâncreas, órgão análogo ao fígado de vertebrados, por sua vez, é altamente sensível a poluentes presentes na água (Vogt, 1987, Bhavan e Geraldine, 2000; Chang *et al.*, 2006). Assim, é esperado que esses órgãos apresentem alterações patológicas em caso de exposição à amônia.

A histopatologia tem sido utilizada na identificação de alterações teciduais em animais expostos à amônia (Smart, 1976; Paul e Banerjee, 1997; Miron *et al.* 2008). Estudos realizados por Rebelo *et al.* (2000) evidenciaram que o tecido branquial do caraquejo *Chasmagnathus granulata* apresentou lesões quando os animais foram exposto à amônia. Resultado semelhante foi observado por Romano e Zeng (2007), estudando o caranguejo *Portunus pelagicus*. Pouco, porém, é conhecido sobre os efeitos da amônia sobre tecidos de camarões. O objetivo deste trabalho foi avaliar se juvenis de *L. vannamei* apresentam alterações teciduais específicas quando expostos a elevadas concentrações de amônia.

4. Material e Métodos

Juvenis de *L. vannamei* (peso médio individual de $5,33 \pm 1,3$ g) foram adquiridos de produtores que os cultivam em tanques-rede na Baía de

Guaratuba (25°51'20" S 48°34'39" O), litoral paranaense. Os animais foram transportados em galões de 20 litros, em presença de aeração constante, até o Laboratório de Pesquisa com Organismos Aquáticos (LAPOA), em Curitiba, por cerca de uma hora e meia.

Em laboratório os exemplares foram aclimatados, em jejum, por 24 horas, em um tanque de polietileno (em densidade de 0,5 camarões/litro), sob temperatura controlada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) e salinidade de 20ups, condições semelhantes às encontradas no local de coleta e que foram mantidas durante todo o experimento. Ao longo do período de aclimatação os animais foram periodicamente inspecionados. Aqueles que apresentavam qualquer evidência de perda de higidez foram descartados.

Os experimentos foram realizados em aquários de 5 L, contendo 5 animais por unidade experimental. Foram testadas as seguintes concentrações de amônia, definidas com base nos testes previamente realizados (vide Capítulo 2): 0 (controle), 5, 17, 100, 250 e 1.000 mg/l de N-AT (nitrogênio na forma de amônia total, $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), todas testadas em triplicata.

O experimento foi monitorado continuamente. Animais moribundos ou recém-mortos foram imediatamente coletados e tiveram seu cefalotórax seccionado e fixado em ALFAC (33% álcool 95°, 22% formol, 11,5% ácido acético e 33,5% água destilada), seguindo procedimento recomendado por Bell e Lightner (1988). Este procedimento teve por objetivo evitar o surgimento de alterações *post-mortem*, que comprometessem os resultados obtidos. Após 24 h todos os animais sobreviventes tiveram seu cefalotórax coletado e fixado seguindo a mesma metodologia.

Para a confecção das lâminas histológicas, brânquias e hepatopâncreas foram retirados, desidratados em uma série crescente de álcoois, diafanizados em xilol e impregnados em parafina histológica a 56°C em um processador histológico. Após a inclusão das peças e modelagem dos blocos em parafina, os tecidos foram seccionados em 5 µm de espessura em um micrótomo (Leica® RM2125RT). Lâminas permanentes foram produzidas em colorações de Hematoxilina de Harris e Eosina (HE), seguindo o método proposto por Behmer *et al.* (1976), e analisadas em microscópio óptico.

Brânquias

Análises quantitativas foram realizadas por amostragem a partir de um corte histológico escolhido ao acaso de cada animal. Neste corte foram determinados ao acaso 7 filamentos branquiais por corte. Todas as lamelas de cada um desses filamentos foram analisadas e as alterações teciduais identificadas.

Para cada alteração detectada foi calculado o valor médio dos índices de impacto, quantificados nos campos analisados. A extensão de cada uma das alterações patológicas encontradas nas lamelas analisadas de cada um dos camarões testados gerou um Índice de Impacto Branquial (IIBr). Este índice variava entre 1,0 (valor máximo) e zero (valor mínimo = ausência de patogenias) e foi calculado individualmente para cada patologia identificada, seguindo a seguinte relação:

- Índice de impacto nas brânquias (IIBr) = (Nº de lamelas alteradas/Nº de lamelas analisadas)

Hepatopâncreas

As análises foram realizadas a partir da captura, ao acaso, da imagem de cinco campos de um corte histológico de hepatopâncreas de cada animal, observado em microscópio óptico sob aumento de 400 vezes. Foram realizadas medições da área total analisada bem como das áreas alteradas, diferenciando-se cada alteração patológica diagnosticada.

As fotomicrografias e a medição das áreas analisadas foram realizadas com auxílio do software de análises digitais LEICA QWin Lite[®], V.2.4 (Imaginig Solutions 1998). Deste modo foi possível calcular a extensão relativa dos danos provocados por cada lesão diagnosticada, segundo a seguinte relação:

- Índice de impacto hepatopancreático (IIH) = (Área alterada/Área total analisada)

Para cada alteração detectada foi calculado o valor médio dos índices de impacto, quantificados nos campos analisados. Este índice foi calculado individualmente para cada alteração estudada, apresentando valores entre 1,0 (valor máximo) e zero (valor mínimo = ausência de patogenias).

A prevalência das diferentes alterações teciduais observadas nos órgãos dos camarões foram analisadas através de estatística descritiva. Utilizando-se o software Statsoft Statistica 7.0[®] foi analisada, através do teste de Kruskal-

Wallis, a similaridade entre os Índices de Impacto tecidual e a prevalência de lesões nos diferentes tratamentos. Analisou-se também a correlação entre os dados, através dos coeficientes de determinação obtidos.

5. Resultados

Além dos efeitos agudos (morte) da amônia sobre os camarões, os testes em laboratório permitiram a identificação de alguns efeitos sub-letais, como alterações na capacidade de equilíbrio e na natação. Em um primeiro momento, os camarões expostos a elevadas concentrações de amônia passam a nadar rapidamente na coluna da água, inclinando-se continuamente lateralmente ou verticalmente. Iguns passam a caminhar rapidamente sobre o fundo, outros perdem a capacidade de equilíbrio e tombam lateralmente. Este último estado é característico de animais moribundos.

A exposição de *L. vannamei* a concentração de 1.000 mg/L N-AT promoveu massiva e rápida mortalidade (Tabela 8). Tão logo entravam em contato com esta solução, os camarões realizavam saltos e rápidos movimentos com os pereiópodos e pleópodos. Em seguida reduziam os movimentos e tombavam lateralmente no fundo do aquário. O primeiro indivíduo morreu antes de se completar uma hora de teste e o último antes de terminar a segunda hora.

Tabela 8 - Tempo médio de sobrevivência dos camarões expostos à amônia em cada tratamento.

Tratamento	Tempo médio de sobrevivência (n = 15 por tratamento)	Tempo de morte do primeiro animal	Tempo de morte do último animal	Número de animais mortos em todos os tratamentos
Controle	24 h	SM	SM	0
5 mg/l N-AT	24 h	SM	SM	0
17 mg/l N-AT	24 h	SM	SM	0
100 mg/l N-AT	24 h	SM	SM	0
250 mg/l N-AT	10 h	4 horas	14	15
1000 mg/l N-AT	1,2 h	<1hora	Entre 1 e 2 horas	15

SM = Sem mortalidade

Foram analisados por meio das técnicas de histologia 72 exemplares de *L. vannamei*. Esse número foi menor que o número total de camarões testado porque qualquer evidência de ocorrência de alterações post-mortem, causada por má fixação dos tecidos ou mesmo por demora na constatação da morte dos animais, era suficiente para que esses indivíduos fossem descartados.

Como descrito por Wu *et al.* (2009), brânquias normais possuem um eixo central, ligado à parede do cefalotórax, do qual emergiam filamentos primários e destes as lamelas, também chamadas de filamentos secundários. As lamelas possuem células pilares, vasos aferentes e eferentes, lacunas hemolinfáticas, lacunas subcuticulares e hemócitos. Todas as estruturas branquiais são revestidas por uma delgada camada de cutícula, que tem como característica o constante contato com a água.

A análise dos tecidos evidenciou uma grande variedade de alterações branquiais (Tabela 9), destacando-se o descolamento de cutícula e a dilatação lacunar como sendo as de maior prevalência.

O descolamento de cutícula se caracterizou por uma perda da

integridade lamelar, com afastamento da cutícula em relação as células epiteliais, com a formação de espaços de tamanho variável (Figura 6**Figura 6a**). A cutícula branquial de alguns indivíduos também apresentou pigmentação anormal, com coloração marrom, leve espessamento e enrugamento (Figura 6**Figura 6b**). Esta pigmentação não estava relacionada à presença de podócitos, que também apresentam coloração marrom e podem ser observados sob a cutícula lamelar (Figura 6**Figura 6c**).

A presença de podócitos pode ocorrer naturalmente, por ser uma célula relacionada à eliminação de substâncias indesejáveis. Neste estudo, no entanto, descreveu-se a presença de podócitos como sendo uma alteração pelo fato dessas células aparecerem em grandes quantidades, o que poderia indicar uma tentativa do camarão de eliminar substâncias indesejáveis.

Em alguns indivíduos havia desestruturação da lamela (Figura 6**Figura 6d**). Lamelas também apresentaram dilatação lacunar, possivelmente relacionadas à uma estase vascular (Figura 6e).

Células branquiais em processo de necrose caracterizaram-se por apresentar lesões nucleares e citoplasmáticas seguidas da perda dos limites celulares. Entre os tipos de alterações nucleares comumente encontradas em processos de necrose, identificaram-se nas brânquias analisadas núcleos em cariopcnose ou picnose (condensação da cromatina) (Figura 6f).

Células de citoplasma basófilo, com grande quantidade de grânulos em seu interior, foram vistas na base de filamentos primários e em lamelas (Figura 6g). A presença de protozoários patogênicos foi evidenciada em alguns indivíduos (0,58%) (Figura 6h) e inclusões virais (0,87%) (Figura 6i).

Tabela 9 - Prevalência de lesões branquiais nos campos analisados e número de animais avaliados (n) por tratamento.

Alterações	Tratamentos (mg/l N-AT)					
	Controle n=9	5 n=8	17 n=15	100 n=15	250 n=15	1000 n=10
Célula basófila	1	0	3	3	0	0
Deformação das lamelas	14	1	28	21	7	43
Descolamento de cutícula	62	40	99	80	62	39
Dilatação lacunar	37	26	94	64	19	1
Corpúsculos de inclusão	3	0	6	0	0	0
Núcleos picnóticos (necrose)	7	0	0	0	0	0
Parasito	0	4	0	2	0	0
Pigmentação da cutícula	14	23	34	29	17	0
Podócito	6	11	19	16	3	0
Total geral	145	105	283	221	121	90

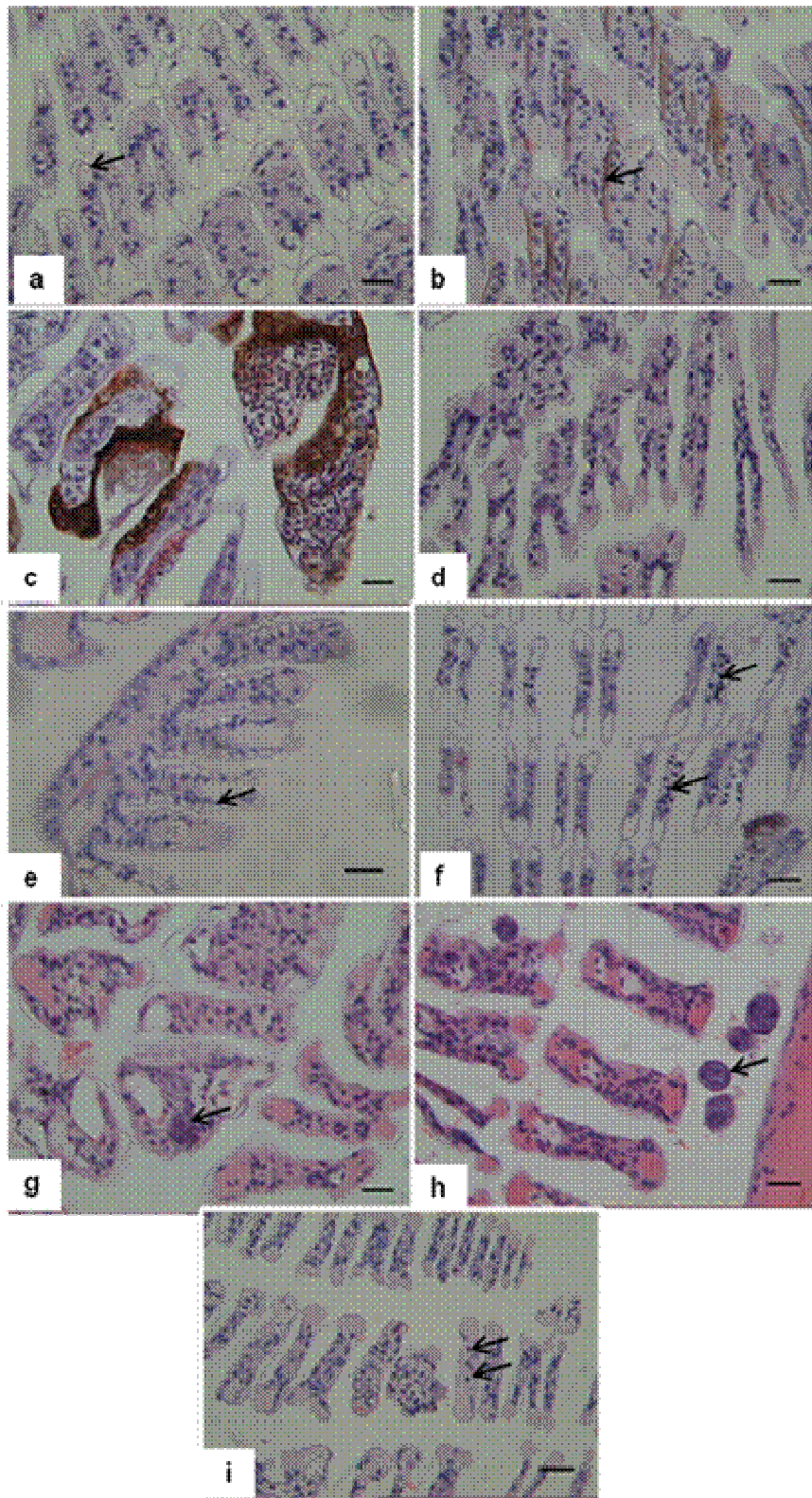


Figura 6 - Brânquias de camarões em coloração de HE. Barras = 100 μ m. a) descolamento de cutícula; b) pigmentação da cutícula; c) podócitos em marrom; d) deformação das lamelas; e) dilatação lacunar; f) núcleos picnóticos; g) célula basófila; h) parasitos; i) corpúsculos de inclusão.

A maioria das alterações teciduais não seguiu qualquer padrão de distribuição de prevalência relacionado à concentração de amônia testada (Figura 7).

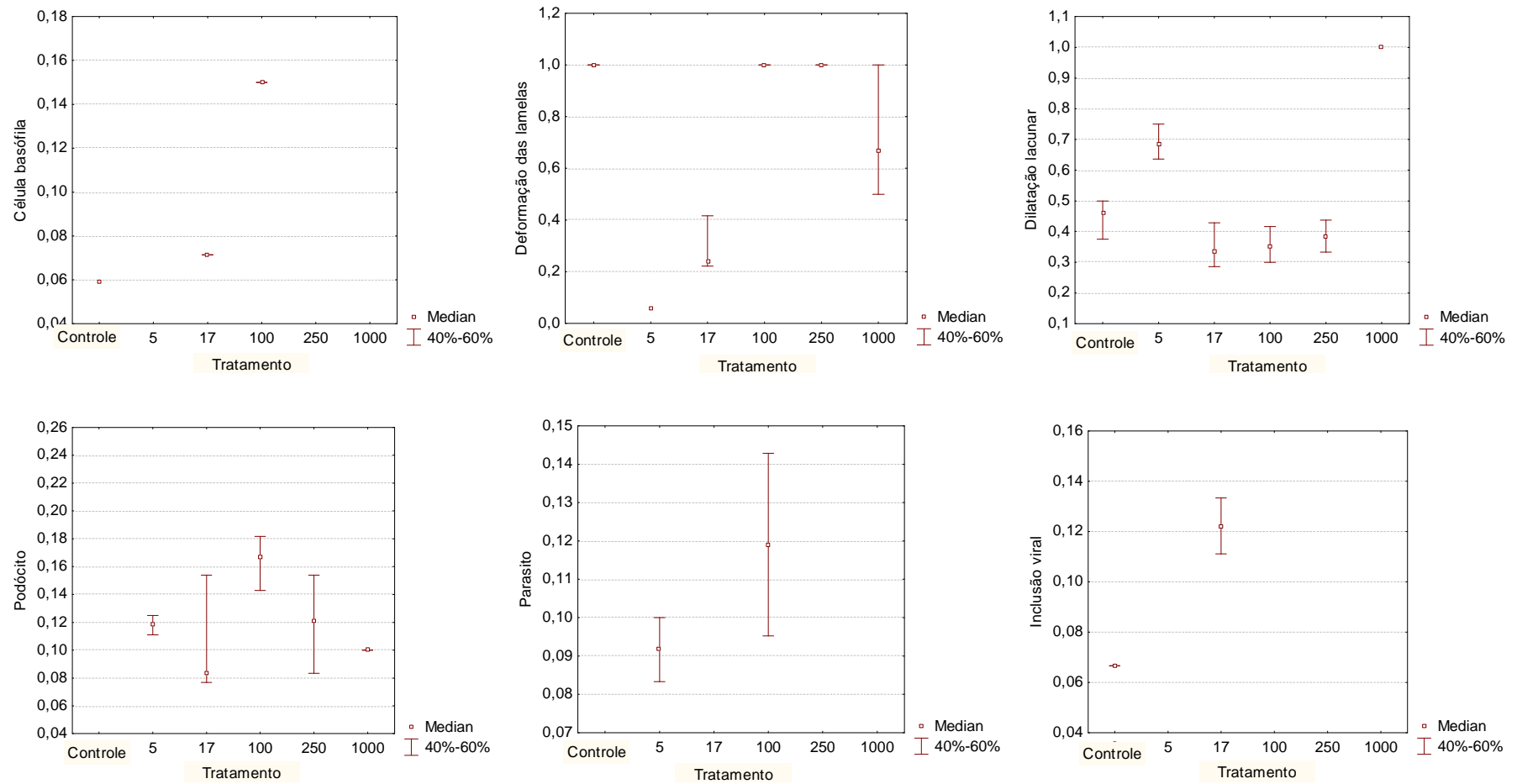


Figura 7 - Prevalência de alterações branquiais em camarões submetidos a tratamentos com diferentes concentrações de amônia.

Entretanto, alterações na cutícula lamelar variaram com o aumento na concentração de amônia. Essa relação foi inversa no caso do descolamento de cutícula (Figura 8) e direta em relação à pigmentação de cutícula (Figura 9).

Ao se testar a similaridade dos resultados de descolamento de cutícula verificou-se a ocorrência de diferenças significativas ($p=0,001$) entre o controle e os tratamentos com maiores concentrações de amônia. O coeficiente de determinação (R^2) dessa relação foi de 0,31.

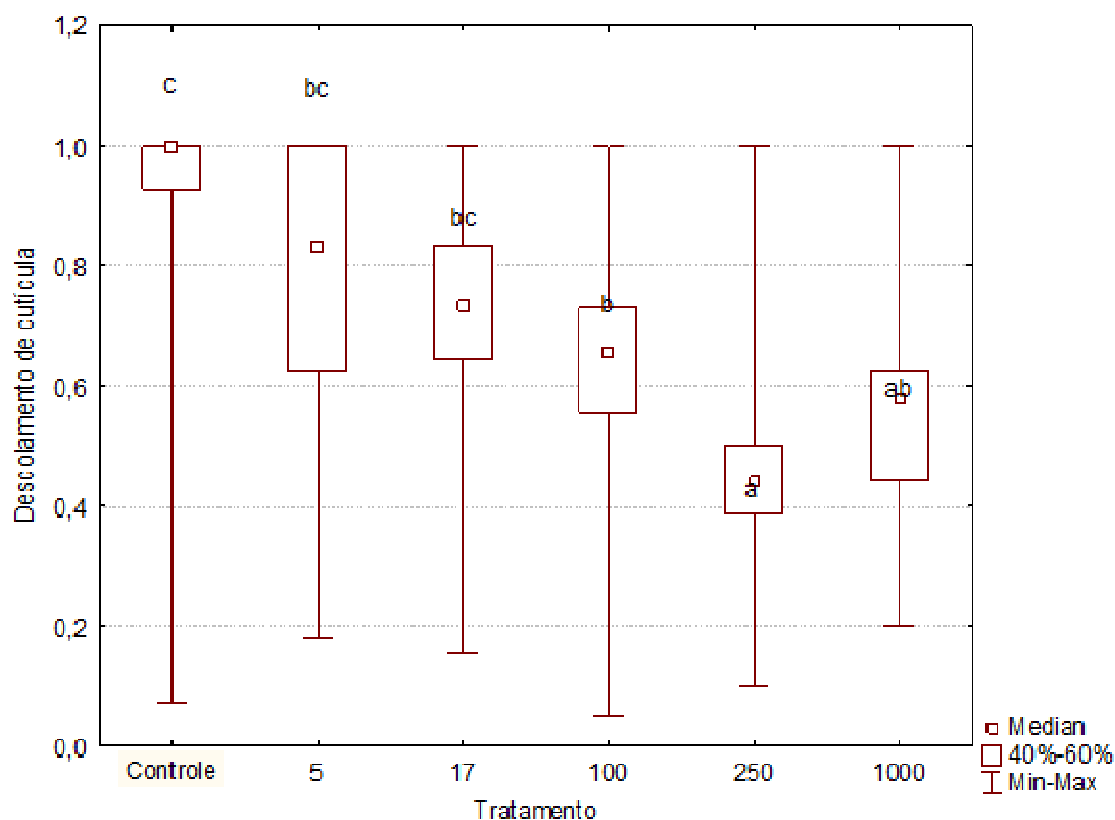


Figura 8 - Prevalência de descolamento de cutícula em brânquias submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de amônia. As letras sobre as barras indicam os grupos homogêneos identificados através de teste a *posteriori* de Doornik.

O aumento da pigmentação da cutícula de acordo com as concentrações testado não foi significativo ($p>0,05$) (Figura 9) e o coeficiente de determinação dessa relação foi baixo ($R^2=0,10$).

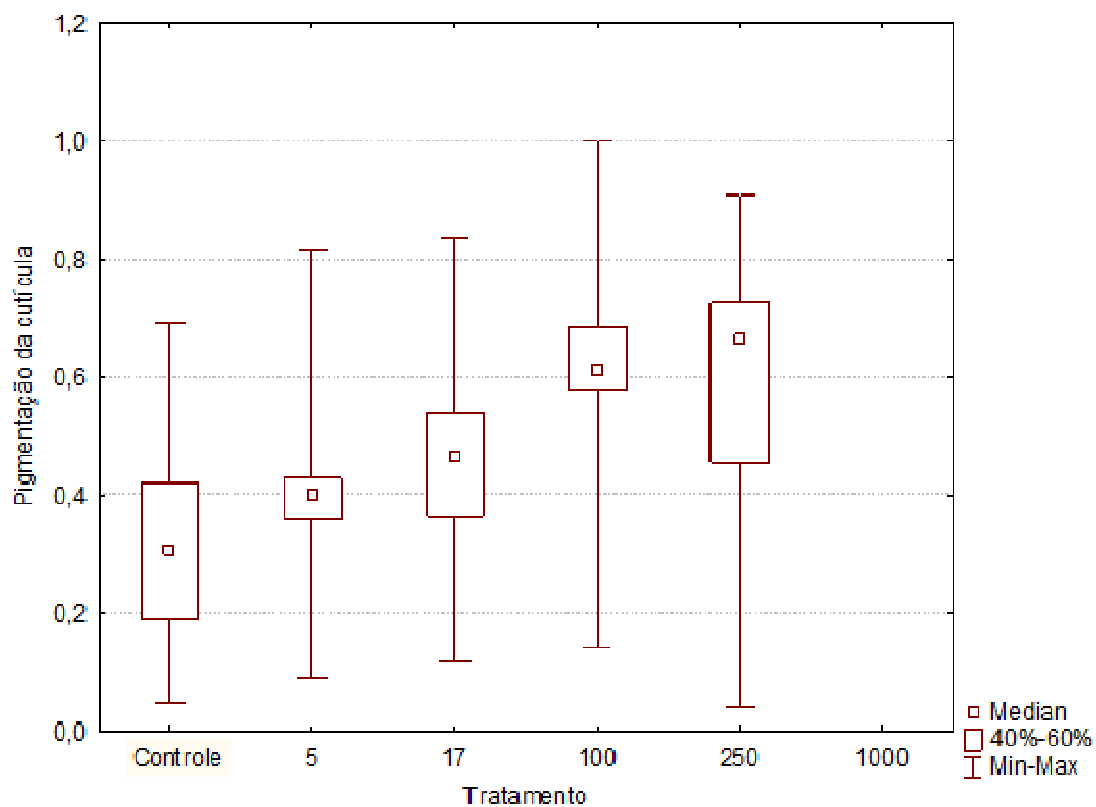


Figura 9 - Prevalência de pigmentação de cutícula em brânquias submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de amônia (mg/L N-AT).

Ao se avaliar a prevalência do IIBr nos diferentes tratamentos, verificou-se diferença significativa ($p < 0,001$) apenas entre o tratamento controle e as concentrações de 17 e 250 mg/L N-AT de amônia (Figura 10).

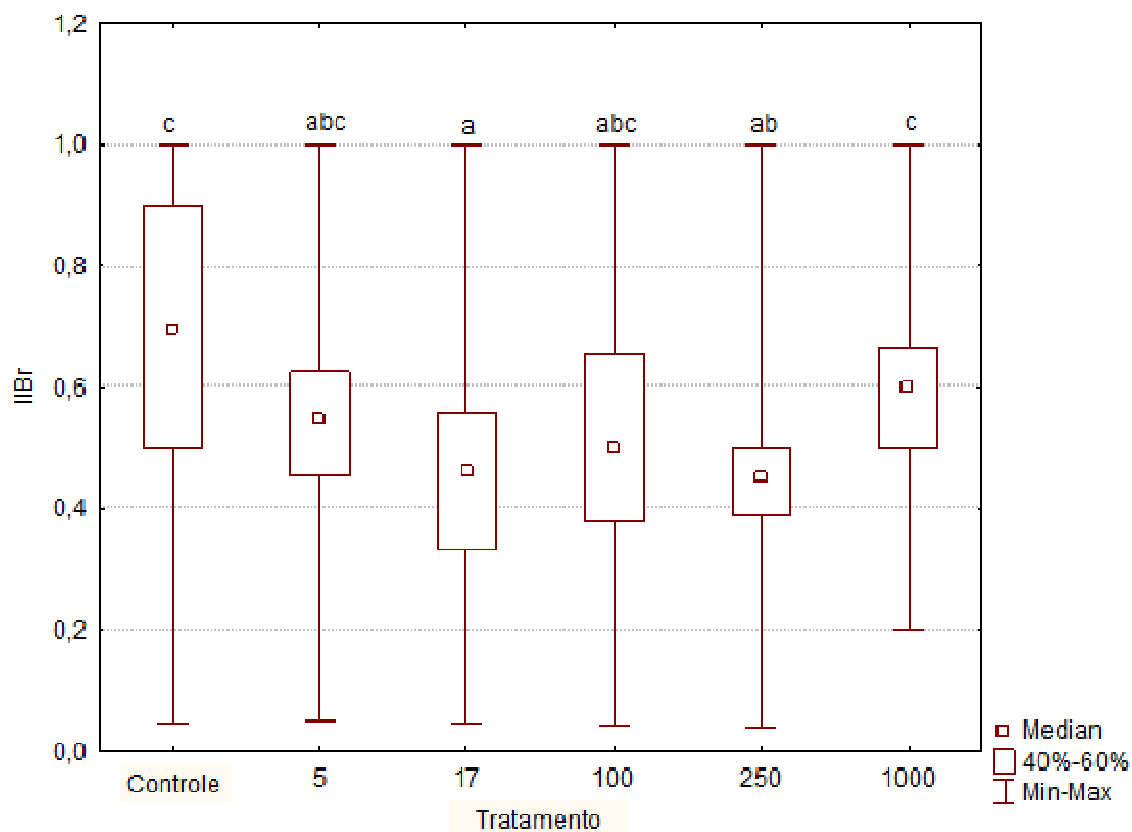


Figura 10 - Índice de impacto branquial (IIBr) observado nos diferentes tratamentos ($p=0,0000$).

Hepatopâncreas

O padrão normal do hepatopâncreas de camarões apresenta túbulos ramificados, entremeado por sinusóides hemais, tecido conjuntivo e fagócitos, (Bell e Lightner, 1988).

As células epiteliais que compõem os túbulos dos animais analisados apresentaram poucas alterações histológicas em relação a esse padrão de normalidade sendo elas: presença de grânulos nos túbulos (78,2%), necrose (21,3%) e presença de protozoários (0,5%) (Tabela 10).

Tabela 10 - Prevalência de lesões hepatopancreáticas nos campos analisados e número de animais avaliados (n) por tratamento.

.Alterações	Tratamentos (mg/l N-AT)					
	Controle n=9	5 n=8	17 n=15	100 n=15	250 n=15	1000 n=10
Necrose	0	1	11	14	9	7
Grânulos nos túbulos hepatopancreáticos	15	19	25	38	29	22
Parasito (protozoário)	0	0	0	1	0	0
Total geral	15	20	36	53	38	29

O hepatopâncreas em necrose possuía desestruturação do epitélio tubular, perda da integridade nuclear e citoplasmática e baixa afinidade pelos corantes hematoxilina de Harris e eosina.

Com a necrose ocorre no epitélio tubular a morte rápida de uma porção limitada do hepatopâncreas e é considerada como o estágio final de degeneração irreversível. As lesões identificáveis geralmente ocorrem no núcleo, citoplasma e nas células como um todo (Thomson, 1983). A necrose celular passa por quatro estágios sendo o último, cariólise dissolução da cromatina nuclear com ausência do núcleo e também a lise (dissolução) do citoplasma observadas nos hepatopâncreas dos camarões (Jones *et al.*, 2000). A medida que as células sofrem processo de morte, a proteína celular é degradada, tornando-se mais reativa com a eosina, ou seja, a célula torna-se mais eosinofílica (Figura 11a). No entanto, não houve relação estatística desta alteração em relação aos tratamentos ($p=1,000$).

A presença de grânulos densos no hepatopâncreas pode estar relacionada ao período de muda. Animais na fase pós-muda geralmente armazenam sais no tecido

hepatopancreático, sendo este considerado um achado normal (Figura 11b). Não houve relação estatística deste achado para os tratamentos testados ($p=0,684$).

A presença de parasitos foi observada em apenas um indivíduo (Figura 11c), não tendo, evidentemente, qualquer relação com a exposição à amônia ($p=1,000$) (Figura 12).

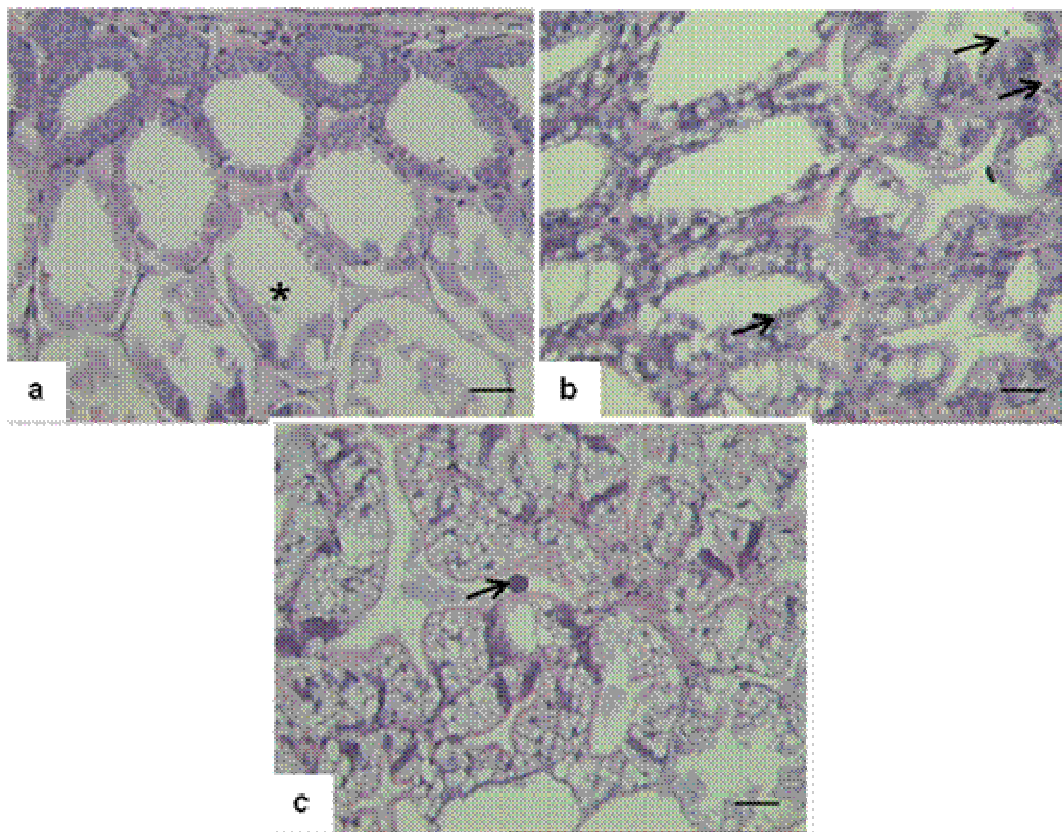


Figura 11 - Hepatopâncreas de camarões em coloração de HE. Barra = 100 μ m. a) Necrose; b) grânulos nos túbulos hepatopancreáticos; c) parasito.

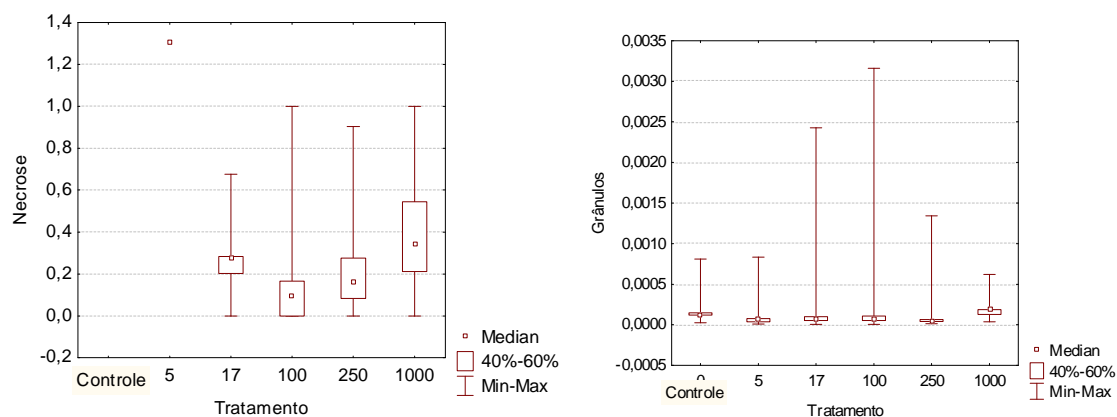


Figura 12 - Prevalência de alterações de hepatopâncreas em camarões submetidos a tratamentos com diferentes concentrações de amônia.

Apenas o tratamento 250 mg/L N-AT apresentou diferença significativa ($p=0,021$) do IIH, em relação ao tratamento controle (Figura 13).

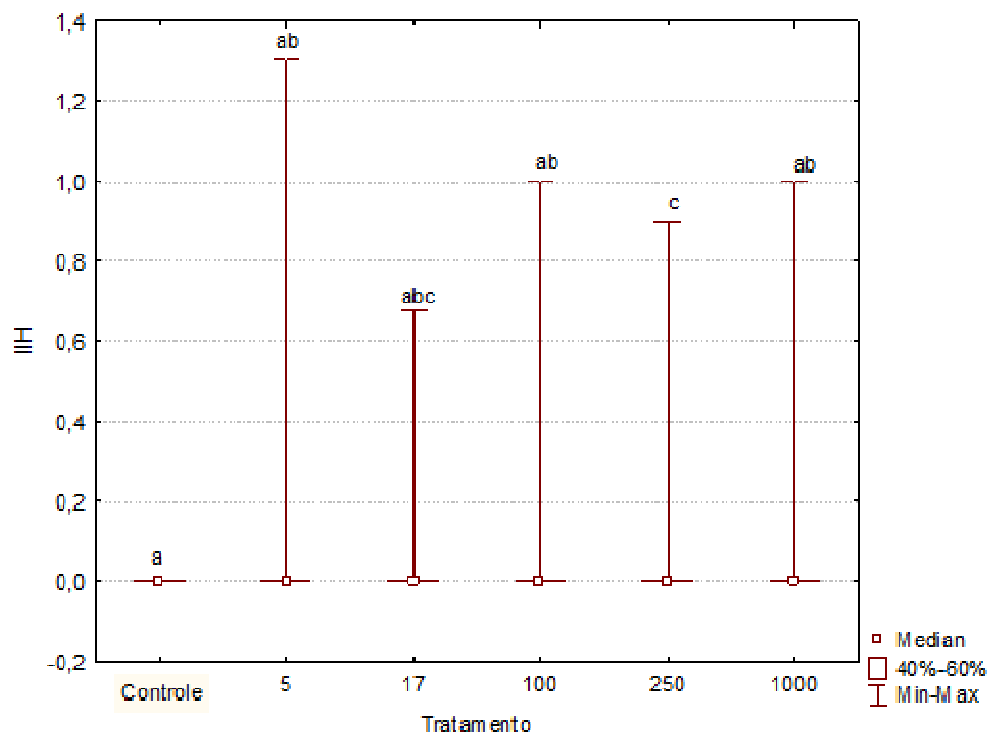


Figura 13 - Índice de impacto no hepatopâncreas (IIH) observado nos diferentes tratamentos. As letras sobre as barras indicam os grupos homogêneos identificados através de teste *a posteriori* de Doornik.

6. Discussão

Os dados obtidos sugerem que a redução na frequência de descolamentos possa ser uma alteração provocada pela exposição dos animais à amônia. A cutícula que reveste as brânquias dos camarões, assim como dos demais crustáceos, é bastante delgada (Wu *et al.*, 2009) característica que pode aumentar a susceptibilidade a agente externos. Ou seja, há evidências de que a amônia, quando em altas concentrações, possa provocar maior aderência da cutícula no epitélio.

As alterações branquiais, como o descolamento de cutícula aqui observado, são prejudiciais ao animal, pois podem ocasionar uma maior predisposição ao desenvolvimento de lesões e a perda de função. Esta afirmação é corroborada por Bhavan e Geraldine (2000), que sugerem a hipótese de que os camarões afetados por substâncias tóxicas ou irritantes produzam uma reação inflamatória intensa, na tentativa de manter as funções osmorregulatórias. No entanto, segundo estes autores, tais reações enquanto abrandam a ação tóxicas nos tecidos, podem levar à disfuncionalidade ou mesmo eventual parada de funcionamento das brânquias, resultando em asfixia.

A reação inflamatória acima citada seria observada pelo acúmulo de hemócitos nos espaços hemais, edema e fusão de lamelas e descolamento do epitélio lamelar (Bhavan e Geraldine, 2000). No entanto, estas alterações não foram observadas nos camarões aqui analisados.

A deposição de pigmento marrom, semelhante à melanina, na cutícula das lamelas branquiais pode indicar uma reação do animal a agentes agressores inespecíficos. Frías-Espéricueta *et al.* (2008) descreveram uma melanização multifocal branquial em juvenis de *L. vannamei* contaminados por metais pesados.

Na mesma espécie Wu *et al.* (2009) observaram resposta semelhante em animais contaminados por cádmio. Segundo estes autores, *L. vannamei* apresenta alta melanização devido, provavelmente, à ação da fenoloxidase ou mesmo como um resultado não específico de autólise e necrose. Clifford e Cook (2002), por sua vez, relacionam a melanização branquial, entre outros fatores, à presença de toxinas na água, ação de *Vibrio* sp., Síndrome Taura (TSV) ou injúria física.

A necrose observada no tecido branquial dos animais analisados pode provocar disfunções osmorregulatórias, de detoxificação e também respiratórias, particularmente em indivíduos que habitam regiões com variação de salinidade (Couch, 1977). Rebelo *et al.* (2000) observaram em brânquias do caranguejo *Chasmagnathus granulata*, entre outras alterações (ruptura das células pilares, colapso das lamelas e hiperplasia epitelial) a necrose do epitélio respiratório. Segundo estes autores, as mudanças histopatológicas sugerem que os danos causados pela amônia provoquem a morte do animal.

No entanto, não houve evidências de que esta alteração, assim como a presença de célula basófila, deformação das lamelas, dilatação lacunar, corpúsculos de inclusão, parasito e podócito estivessem associadas à ação tóxica da amônia nos animais testados.

As alterações hepatopancreáticas identificadas também não demonstraram correlação com as concentrações de amônia testadas. Ressalta-se, no entanto, que a necrose tubular foi registrada em todos os tratamentos em que a amônia esteve presente, não sendo registrada no tratamento controle.

Johnson (1980) cita que a necrose de túbulos do hepatopâncreas possa estar relacionada ao consumo ativo de alimento pelos animais. Neste caso, as células B

estariam repletas e mais frágeis ao contato mecânico. Este autor sugere que durante a coleta dos tecidos, as células B possam se romper facilmente, liberando seu conteúdo enzimático no hepatopâncreas e desencadeando o processo de autólise. Como os animais já estavam sem receber alimentação há, pelo menos, 24 horas, esta justificativa dificilmente se aplicaria. Outra hipótese que poderia explicar essas alterações identificadas nos animais expostos à amônia seria a necrose causada por anóxia aguda, tal como, pela obstrução do fluxo sanguíneo ou intoxicações muito agudas.

IIBr e IIH de animais expostos a 1.000 mg/L N-AT não foram diferentes do tratamento controle. Isto pode ter ocorrido devido aos camarões terem morrido em até duas horas após a exposição ao tratamento. Isto sugere que os animais tenham morrido tão rapidamente que não houve tempo suficiente para que a amônia provocasse alterações histológicas nas brânquias, nem tão pouco no hepatopâncreas.

Sabe-se que animais bênticos podem apresentar uma alta tolerância a amônia devido a uma adaptação ecológica (Weihrauch *et al.*, 2004). Esta adaptação pode ser aplicada a camarões que se enterram por períodos prolongados no sedimento (Romano e Zeng, 2007), como *L. vannamei* (Santos, 2007). Portanto, isto sugeriria que *L. vannamei* conseguiria manter altas concentrações de amônia na hemolinfa, sem grandes prejuízos à sua higidez.

No entanto, a ação tóxica da amônia, além de provocar modificações morfológicas, é responsável por alterações fisiológicas (Romano e Zeng, 2007) e comportamentais (Allan e Maguire, 1995).

As fisiológicas são principalmente ligadas a alterações de pH intracelular e no ciclo de Krebs (Frías-Espericueta e Páez-Osuna, 2001). Há redução de energia para processos fisiológicos, como por exemplo na reprodução e na osmorregulação (Frías-Espericueta e Páez-Osuna, 2001), redução na taxa de crescimento (Allan e Maguire, 1995), baixa sobrevivência (Corrêa, 2008) e redução no percentual de muda (Ostrensky e Wasielesky Jr., 1995).

Quanto as alterações comportamentais, pode-se observar, por exemplo, ausência de apetite (Frías-Espericueta *et al.*, 2000) ou redução na taxa de alimentação (Ostrensky, 1997) e alteração no equilíbrio e na forma de natação (Ostrensky e Wasielesky Jr., 1995; Ostrensky, 1997).

7. Conclusão

Há evidências consistentes de que a exposição dos camarões a altas concentrações de amônia (no caso estudado, nos tratamentos que continham pelo menos 250 mg/L N-AT) provoca a morte dos animais sem que haja tempo suficiente para que possam ser causadas alterações teciduais específicas. Assim sendo, alterações histológicas não seriam um bom marcador dos efeitos agudos da exposição de camarões à amônia.

Sugere-se, contudo, a realização de experimentos crônicos para que eventuais alterações teciduais inequivocamente associadas à exposição dos animais à amônia possam ser identificadas.

8. Referências

- Allan, G. L.; Maguire, G. B.; Hopkins, S. J. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels. **Aquaculture** n. 91(3-4). p. 265-280. 1990.
- Behmer, O. A.; Tolosa, E. M. C.; Freitas Nt., A. G. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1976.
- Bell, T. A.; Lightner, D. V. **A handbook of penaeid shrimp histology**. Arizona-USA: World Aquaculture Society, 114 p. 1998.
- Bhavan, P. S.; Geraldine, P. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. **Aquatic Toxicology**.n. 50. p. 331–339. 2000.
- Boscardim, N. A produção Aquícola Brasileira, in.: Ostrensky, A; Borguetti, J. R.; Soto, D. **Aqüicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). p.27-72 . 2008.
- Chang, C.; Lee, P.; Hsu, J.; Yeh, S.; Cheng, W. Survival, and biochemical, physiological, and histopathological responses of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to short-term trichlorfon exposure. **Aquaculture**. n. 253.p. 653– 666. 2006.
- Clifford, H. C.; Cook, H. L. Disease Management in Shrimp Culture Ponds - Part 3, **Aquaculture Magazine**. n. 28(4). p. 1-7. 2002.
- Couch, J. A. Ultrastructural study of lesions in gills of a marine shrimp exposed to cadmium. **Journal of Invertebrate Pathology**, n. 29(3). p. 267-288. 1977.
- Corrêa, M. P. O. 2008. **Cultivo superintensivo de camarões marinhos: efeitos no ajuste da relação C/N e tratamento do efluente em reatores em bateladas seqüenciais (RBS)**. 107 f. Florianópolis: dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina.
- Freire, C.A., Onken, H., McNamara, J.C. A structure-function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. **Comparative Biochemistry Physiology**.n.151A, p.272–304. 2008.
- Frias-Espericueta, M. G.; Harfush-Melendez, M.; Páez-Osuna, F. Effects of ammonia on mortality and feeding of postlarvae shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Bulletin of Environmental Contaminants and Toxicology**, n.65. p. 98-103.2000.
- Frías-Espericueta, M. G.; Abad-Rosales, S.; Nevárez-Velázquez, A. C.; Osuna-López, I.; Páez-Osuna, F.; Lozano-Olivera, R.; Voltolina, D. Histological effects of a combination of heavy metals on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. **Aquatic Toxicology**. n.89. p.152–157.2008.

- Frías-Espericueta, M. G.; Páez-Osuna, F. Toxicidad de los Compuestos del Nitrógeno em Camarones. Capítulo 12, In.: **Camaronicultura y Medio Ambiente**. México: Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, p.253-276.2001.
- Johnson. P. T. **The histology of the blue crab**. New York: Praeger Publishers.430p.1980.
- Jones, T. C.; Hunt, R. D.; King, N. W. **Patologia Veterinária**, 6ª edição. São Paulo: Editore Manole. 1415 p.2000.
- Kır; M.; Kumlu, M.; Eroldog, O. T. Effects of temperature on acute toxicity of ammonia to *Penaeus semisulcatus* juveniles. **Aquaculture**. n. 241. p. 479–489. 2004.
- Martín, F. E.; Federico, P. O. Toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones. In.: **Camaronicultura y Medio Ambiente**, Federico, P. O. (editor), El Colegio de Sinaloa, Unam, México. p. 224-242. 2001.
- Miron, D. S.; Moraes, B.; Becker, A. G.; Crestani, M.; Spanevello, R.; Loro, V. L.; Baldisserotto, B. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). **Aquaculture**. n. 277. p. 192–196. 2008.
- Mugnier, C.; Justou, C. Combined effect of external ammonia and molt stage on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* physiological response. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. n. 309. p. 35– 46. 2004.
- Ostrensky, A. 1997. **Estudos para viabilização tecnológica dos cultivos de camarões marinhos no litoral do estado do Paraná, Brasil**. 122f. Curitiba: Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Zoologia), Universidade Federal do Paraná.
- Ostrensky, A.; Wasielensky Jr., W. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the São Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Pkrez-Farfante, 1967. **Aquaculture**. n. 132. p. 339-347. 1995.
- Paul, V. I.; Banerjee, T. K. Histopathological changes induced by ambient ammonia (ammonium sulphate) on the opercular linings of the catfish *Heteropneustes fossilis*. **Diseases of Aquatic Organisms**. n. 28. p. 151-161. 1997.
- Pontes, C. S.; Arruda, M. F. Comportamento de *Litopenaeus vannamei* (Boone) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) em função da oferta do alimento artificial nas fases clara e escura do período de 24 horas. **Revista Brasileira de Zoologia**. n. 22(3). p. 648-652. 2005.
- Racotta, I. S.; Hernández-Herrera, R. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. n. 125. p. 437–443. 2000.

- Rebelo, M.F.; Rodriguez, E. M.; Santos, E. A.; Ansaldo, M. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea- Decapoda) following acute exposure to ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**. n. 125. p. 157-164. 2000.
- Romano, N; Zeng, C. Ontogenetic changes in tolerance to acute ammonia exposure and associated gill histological alterations during early juvenile development of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus*. **Aquaculture**. n. 266(1-4). p. 246-254. 2007.
- Santos, D. B. 2007. **Análise do comportamento e crescimento do camarão branco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) em diferentes substratos inconsolidados**. 115f. Natal: Dissertação (Mestrado em Oceanografia e Limnologia) Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- Smart, G. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of Fish Biology**. n. 8(6). p. 471 – 475. 1976.
- Thomson, R. G. 1983. **Patologia Geral Veterinária**, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A.
- Vogt, G. Monitoring of environmental pollutants such as pesticides in prawn aquaculture by histopathological diagnosis. **Aquaculture** n. 67. p. 157–164. 1987.
- Wu, J. P.; Chen, H. C.; Huang, D. J. Histopathological alterations in gills of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) after acute exposure to cadmium and zinc. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. n. 82. p. 90–95. 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos que deram origem a presente dissertação de mestrado foram desenvolvidos com o objetivo de responder a questionamentos gerados durante as atividades de campo junto aos comerciantes de isca-viva de Guaratuba.

A excreção de amônia durante o transporte de *Litopenaeus schmitti* e de *L. vannamei* utilizados como isca-viva era desconhecida até então, e não só foi evidenciada, como também foi possível demonstrar que foi afetada pelo aumento da densidade durante o transporte. Além disso, o *L. schmitti* apresentou uma menor mortalidade e com isso é possível determinar que a densidade de 3 animais/L é a mais indicada.

Além disso, foi observado que, apesar dos *L. vannamei* mostrarem uma maior resistência a exposição a amônia e ser regularmente comercializado, o uso da espécie nativa deve ser estimulado, pois pode ser uma fonte de renda para pescadores locais. Outro fator que merece destaque é que em nenhum tratamento com *L. schmitti*, durante o transporte, foi atingido os valores de CL₅₀ – 90 horas N-AT, o que reforça o estímulo ao uso dessa espécie como isca-viva para a pesca esportiva.

As informações aqui obtidas com relação a análise histológica também trazem importantes dados sobre a ação da amônia nos animais utilizados como isca-viva. Os resultados indicam que outros mecanismos fisiológicos foram os responsáveis pelas mortes dos camarões, e não as alterações teciduais provocadas pela amônia.

Assim, todos os dados gerados no presente estudo, mostram informações para aprimorar a tecnologia da comercialização de iscas-vivas. Contudo, mais investimentos em pesquisas tornariam mais breve o desenvolvimento de um pacote

tecnológico para a atividade, e assim, ser uma nova fonte de renda para pescadores artesanais.

VITA

Marcus Vinicius Fier Giroto

Dados Pessoais

Nome Marcus Vinicius Fier Giroto
Filiação Vinicius França Giroto e Órida Fier Giroto
Nascimento 13/01/1983 - São Paulo/SP - Brasil

Formação Acadêmica/Titulação

2008 Mestrado em Ciências Veterinárias.
 Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, Brasil
 Título: Efeitos de diferentes estratégias de captura sobre os índices zootécnicos de camarões *Farfantepenaeus paulensis* e *Litopenaeus schmitti* mantidos em tanques-rede e utilizados como isca viva.
 Orientador: Antonio Ostrensky Neto

2001 - 2006 Graduação em Zootecnia.
 Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, Brasil
 Título: Bases científicas e tecnológicas do cultivo do Polvo comum (*Octopus vulgaris*, Cuvier 1797)
 Orientador: Antonio Ostrensky Neto

1998 - 2000 Ensino Médio (2o grau).
 Colégio Bandeirantes, CB*, Sao Paulo, Brasil

Formação complementar

2009 - 2009 Curso de curta duração em Mini-curso Intermediário de Fotografia Biológica.
 Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, GIA, Brasil

2006 - 2006 Curso de curta duração em Aprender a Empreender.
 Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas do Paraná, SEBRAE/PR, Curitiba, Brasil

2005 - 2005 Curso de curta duração em Aqüicultura marinha e Ornamental.
 Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá, Brasil

Atuação profissional

1. Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais - GIA

Vínculo institucional

2006 - Atual Vínculo: Colaborador , Enquadramento funcional: Pesquisador ,
 Carga horária: 40, Regime: Integral

Atividades

12/2008 - Atual Projetos de pesquisa, GIA

*Participação em projetos:
Organização do arranjo produtivo local da ostreicultura no litoral sul do Paraná.*

06/2008 - Atual Projetos de pesquisa, GIA
*Participação em projetos:
Ostras do Cabaraquara: valorização do produto e aumento da renda dos pequenos maricultores*

12/2006 - Atual Projetos de pesquisa, GIA
*Participação em projetos:
Projeto Cultimar*

2. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina - EPAGRI

Vínculo institucional

2006 - 2006 Vínculo: Estagiário , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 40, Regime: Dedicção Exclusiva

Atividades

08/2006 - 11/2006 Estágio, CEDAP
*Estágio:
Estágio realizado com extensão, geração e transferência de tecnologia na área de maricultura*

3. Universidade Federal do Paraná - UFPR

Vínculo institucional

2002 - 2006 Vínculo: Estagiário , Enquadramento funcional: Estagiário , Carga horária: 15, Regime: Parcial

Atividades

03/2006 - 05/2006 Estágio, Departamento de Zootecnia
*Estágio:
Estágio realizado no GIA (Gupro Intregado de Aquicultura), com alevinos, na parte de nutrição e indicação de estresse.*

08/2005 - 10/2005 Estágio, Departamento de Zootecnia
*Estágio:
Estágio realizado na fazenda da Universidade com abate e manejo geral de coelhos para corte, e manejo de pastagem para coelhos*

04/2005 - 08/2005 Estágio, Departamento de Zootecnia
*Estágio:
Estágio junto ao canil da Universidade com experimentos de ração e manejo experimental.*

10/2002 - 11/2002 Estágio, Departamento de Zootecnia
*Estágio:
Estágio realizado com bovinos de leite, incluindo manejo geral de ordenha e alimentação*

Projetos

2009 - 2010 Organização do arranjo produtivo local da ostreicultura no litoral sul do Paraná.
Situação: Em Andamento Natureza: Extensão
Integrantes: Marcus Vinicius Fier Giroto (Responsável); ;

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

2008 - 2010 Ostras do Cabaraquara: valorização do produto e aumento da renda dos pequenos maricultores

Situação: Em Andamento Natureza: Pesquisa

Integrantes: Marcus Vinicius Fier Giroto (Responsável); ;

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

2005 - Atual Projeto Cultimar

Descrição: Produzir produtos marinhos de qualidade certificada. Conjugando produção com sustentabilidade ambiental. Gerar renda, valorizando a cultura e resgatando as tradições das comunidades litorâneas. Conscientizar, para que essas comunidades possam ter a verdadeira liberdade para decidir o rumo de seus próprios destinos. Esses são os principais norteadores do Cultimar, um projeto desenvolvido pelo Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais GIA da Universidade Federal do Paraná, em parceria com a Petrobrás. A proposta, bastante inovadora, concilia ações no campo da maricultura, turismo, educação ambiental e cultura. Para mais informações entre em nosso site (www.cultimar.org.br) e conheça um pouco mais essa idéia.

Situação: Em Andamento Natureza: Pesquisa

Integrantes: Marcus Vinicius Fier Giroto; Antonio Ostrensky (Responsável); Gisela Geraldine Castilho; Walter Boeger; Karin Cristina Escobar Yamashiro

Financiador(es):

Áreas de atuação

1. Aqüicultura
2. Produção Animal
3. Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca

Idiomas

Inglês	Compreende Bem , Fala Bem, Escreve Bem, Lê Bem
Espanhol	Compreende Razoavelmente , Fala Pouco, Escreve Pouco, Lê Bem
Francês	Lê Pouco
Italiano	Compreende Pouco , Lê Razoavelmente

Prêmios e títulos

2007 Prêmio concedido ao Projeto Cultimar: Prêmio Destaque no Marketing 2007 - Categoria Responsabilidade Social Empresarial, Associação Brasileira de Marketing e Negócios.

2007 Projeto Cultimar foi Vencedor do 6º Prêmio Marketing Best Responsabilidade Social, Madia Marketing School, Revista Marketing e Editora Referência.

Produção em C, T& A

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. E. SANTIN, V. O. CHIMENEZ, R. F. P. MEURER, F. S. C. Vargas, GIROTTO, M. V. F., OLIVEIRA,

E. G.

The use of mannan oligosaccharide to improve the performance of broilers vaccinated against coccidiosis In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, 2004, Lexington.

Proceedings of the 20th Annual Symposium. , 2004.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. FARIAS, Helena, CASTILHO, G. G., OSTRENSKY, A., GIROTTTO, M. V. F., BOEGER, Walter
PESQUISA DE OPINIÃO PÚBLICA PARA AVALIAR O GRAU DE CONHECIMENTO E DE EXIGÊNCIA DOS CONSUMIDORES DE FRUTOS DO MAR EM GUARATUBA, PR, AOS PADRÕES LEGAIS DE QUALIDADE DOS PRODUTOS CONSUMIDOS EM RESTAURANTES In: IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2007, Curitiba.

Anais do IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos. , 2007.

Artigos em revistas (Magazine)

1. CASTILHO, G. G., FARIAS, Helena, IVANKIU, C., GIROTTTO, M. V. F., OSTRENSKY, A., BOEGER, Walter
Gestão da qualidade em mercados municipais de pescado. Revista Aqüicultura & Pesca. , p.70 - 74, 2008.

Apresentação de Trabalho

1. GIROTTTO, M. V. F.

Nutrição e Alimentação na Piscicultura, 2008. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)

Demais produções bibliográficas

1. E. SANTIN, V. O. CHIMENEZ, R. F. P. MEURER, GIROTTTO, M. V. F., OLIVEIRA, E. G.

Efeito de Mananoligossacarídeos sobre o desempenho de frangos de corte vacinados contra coccidiose. Resumo. , 2004. (Outra produção bibliográfica)

Produção Técnica

Trabalhos técnicos

1. BOEGER, Walter, CASTILHO, G. G., OSTRENSKY, A., SILVA, U. A.T., GIROTTTO, M. V. F.
Diagnóstico de Necrose Infecciosa Pancreática em peixes da baía de Guaratuba., 2007

Eventos

Participação em eventos

1. **Oficina Caminho das Águas - Projeto Cultimar**, 2008. (Oficina)

2. **I Encontro de Conservação e Gestão da Baía de Guaratuba**, 2008. (Encontro)

3. **Seminário Internacional de Sanidade Aqüícola**, 2006. (Seminário)

4. **ZOOTEC 2006**, 2006. (Congresso)

5. **XXVI Congresso Paranaense dos Estudantes de Zootecnia**, 2005. (Congresso)

6. **Fatores Que Afetam o Trato Digestório**, 2005. (Seminário)

7. **Cropping system effects on C sequestration and soil properties under elevated atmospheric CO₂ conditions**, 2004. (Seminário)

8. **Utilização de Acidificantes e Antioxidantes na Nutrição de Aves e Suínos**, 2004. (Seminário)

9. **ZOOTEC 2003**, 2003. (Congresso)

10. **ZOOTEC 2001**, 2001. (Congresso)

11. **Gerenciamento e Consultoria em Bovinos de Corte**, 2001. (Seminário)

Organização de evento

1. DITTRICH, R. L., SCHUNTZEMBERGER, A. M. S., GONCALVES, R. P. M., GIROTTO, M. V. F., MIRA, A., OBLADEN, A. B., BACELLAR, M., BASNIAK, P.

I Ciclo de Atualização para Pós-Graduandos: Pesquisa, Docência e Empreendedorismo, 2009. (Outro, Organização de evento)