



Revista
Técnico-Científica



OTIMIZAÇÃO DA TAXA DE ECLOSÃO DE ÂRTEMIA POR MÉTODO QUÍMICO

Claucia Aparecida Honorato¹, Weliton Vilhalb², Larissa Seline Dorce³, Henrique Momo Ziemniczak³, Daclei Hertes Neu⁴

¹ Doutora em Ciências Fisiológicas, Professora da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, Faculdade de Ciências Agrárias – FCA, clauciaahonorato@gmail.com ; ² Engenheiro de Aquicultura, Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, Faculdade de Ciências Agrárias – FCA, weliton_evam@hotmail.com ; ³ Mestre em Zootecnia Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, Faculdade de Ciências Agrárias – FCA, larissadorce@hotmail.com ; ⁴ Doutor em Zootecnia, Professora da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, Faculdade de Ciências Agrárias – FCA, dacleyneu@ufgd.edu.br

RESUMO: A *Artemia franciscana* se apresenta como um bom candidato para o direcionamento de esforços acadêmicos e mercadológicos. O presente estudo teve como intuito comparar as taxas de descapsulação de náuplios em ambientes com diferentes níveis de pH alterados com bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e identificar níveis de toxicidade. O ensaio realizado foi analisado em delineamento casualizado em esquema fatorial 4x3, os ambientes que foram alterados com NaHCO₃ apresentaram maiores taxas de eclosão. Ambiente com pH 9 demonstrou ser tóxico, já pH 6 em comparação as taxas de eclosão, se adequa a uma equação linear, a exposição ao pH 7 em relação ao tempo se adequaram a uma equação quadrática o que revela que para esta solução o ideal é a exposição de no máximo 15 minutos. Conclui-se que soluções de pH podem ser utilizadas como descapsulante para *artêmia*, obtendo um melhor resultado com pH 6 em tempo de 30 minutos.

Palavras-chave: Bicarbonato de sódio. Descapsulação. Toxicidade.

OPTIMIZATION OF THE ARTEMIA ECLOSION RATE BY CHEMICAL METHOD

ABSTRACT: *The Artemia Franciscana is a good candidate targeting academic and market efforts. The present study aimed to compare the hatching rates of their nauplii in environments with different levels of pH altered with sodium bicarbonate (NaHCO₃) and identify the toxicity levels. The assay was analyzed in a completely randomized*

design in a 4x3 factorial scheme and the environments that were altered with bicarbonate had higher hatching rates. The environment with pH 9 proved to be toxic, and with pH 6 in comparison with the hatching rates are adjusted to a linear equation, the exposure to pH 7 in relation to time was adjusted to a quadratic equation which reveals that the ideal for this solution is the exposure of a maximum of 15 minutes. It is concluded that pH solutions can be used as artemia hatchery getting a better result in the environment with pH 6 in 30 minutes exposure.

Keywords: Sodium bicarbonate. Decapsulation. Toxicity.

INTRODUÇÃO

Atualmente há uma grande pressão no mercado na otimização da artêmia como alimento para organismos aquáticos. Esse crescimento é respaldado por seu elevado teor proteico, lipídico, de aminoácidos essenciais, pigmentos, dentre outros (Zuanon et al., 2011). Ela é largamente utilizada na larvicultura Ut et al. (2007), na cadeia de produção de peixes ornamentais (Takahashi et al., 2018).

No entanto, um dos entraves do processo de eclosão da artêmia está o processo que precede a incubação dos cistos. O processo de descapsulação é utilizado para romper o córion que reveste o embrião. Através das substâncias químicas o córion é dissolvido, que além de elimina-lo fazem a assepsia da superfície dos cistos, assim estes podem conter patógenos que ameaçando o ciclo produtivo podem reduzir a eficiência na larvicultura (Da Rocha, et al., 2005).

O processo de hidratação pode ser aprimorado se utilizarmos substâncias que podem diminuir ou alterar o envoltório, aumentando a eclodibilidade (Takata, 2007). Dentre as substâncias descapsulantes que se reporta na literatura está o hipoclorito Da Rocha et al. (2005), mas está se não for bem retirada no processo de lavagem pode promover morte do cisto de artêmia (Takata, 2007). O uso de soluções com distintos pH pode ser uma alternativa para o uso na descapsulação, uma vez que há melhor desenvolvimento dos cistos de artêmia em pH mais alcalinos (Lavens; Sorgeloos, 1996).

Assim o presente trabalho teve o objetivo de analisar a viabilidade e a descapsulação de cistos de artêmia frente a soluções com diferentes pH alterados por NaHCO₃ e avaliar a taxa de sobrevivência para náuplios de artêmia frente a estas variações.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD (Dourados MS).

Foram utilizados quatro soluções de pH (6, 7, 8 e 9) com 0g, 0.5g, 4.0g e 8.0g de NaHCO₃ respectivamente. Foi utilizada a espécie *Artêmia franciscana*, (BioArtêmia®, em Grossos-RN).

Os cistos de artêmia foram submetidos ao processo de hidratação com as suas respectivas substâncias descapsulantes (pH: 6, 7, 8 e 9) em distintos tempos de exposição (5, 15, 30 minutos).

Neste processo, os cistos foram colocados em um recipiente na densidade de 1g de cisto por 80 ml de água, e colocados para incubação sob aeração constante com salinidade de 20 ‰ (20g/L-1 de NaCl) com temperatura de 28°C. Os cistos foram submetidos à iluminação constante durante todo período de incubação. Após 36 horas os cistos foram avaliados.

As estimativas da taxa de sobrevivência foram realizadas com auxílio de pipeta de 1 ml, a olho nu, sendo realizadas em triplicata, considerando náuplios mortos aqueles que se encontrarem imóveis dentro da pipeta.

A taxa de eclosão foi calculada pela relação entre o número de náuplios observados após os três dias de incubação e o total de cistos colocados para eclodir, conforme a fórmula, observado e adaptado de Rosa e Avila. (2000).

$$\text{Taxa de eclosão} = \frac{\text{Náuplios eclodidos}}{\text{Náuplios incubados}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Para o teste de tolerância do cisto de artêmia a soluções de pH foram utilizadas artêmias eclodidas submetidas à solução salinizada de 20‰ (20g NaCl para 1 litro de água). As soluções de distintos pH foram ajustado com bicarbonato de sódio (NaCO₃). Foram utilizados 10 náuplios de artêmia submetidos a soluções salinas nas seguintes concentrações de pH: 6; 7; 8; 9. O ensaio foi realizado em quintuplicata por tratamento, sendo a contagem dos náuplios realizadas nos períodos 1, 6, 12, 24h.

Os dados de porcentagem de náuplios de artêmia mortas em 24h em relação a concentração do pH ajustou-se a uma equação linear para estimar a Dose letal de

50% da população ao bicarbonato de sódio. Sendo a equação solucionada para encontrar a dose letal de 50% da população.

O ensaio de taxa de eclosão foi analisado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x3, quatro tratamentos e três repetições, em esquema de parcelas subdivididas, tendo como tratamento principal os distintos produtos e técnicas, como tratamento secundário os períodos de exposição (5, 15 e 30 minutos).

Para o teste de toxicidade o ensaio foi analisado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x5, quatro tratamentos e cinco repetições, foi realizado uma análise de regressão sendo o fator principal as soluções com distintos pH e tratamento secundário o tempo (1, 6, 12 e 24 horas). As análises de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS

O grupo controle apresentou a taxa de eclosão de 23%, de forma geral todos os tempos de descapsulação apresentaram maior taxa de eclosão independente do tempo de exposição e o pH da solução (Figura 1). As maiores taxas de eclosão foram observadas para o pH 6 e 7, não apresentando diferença estatística entre ambas.

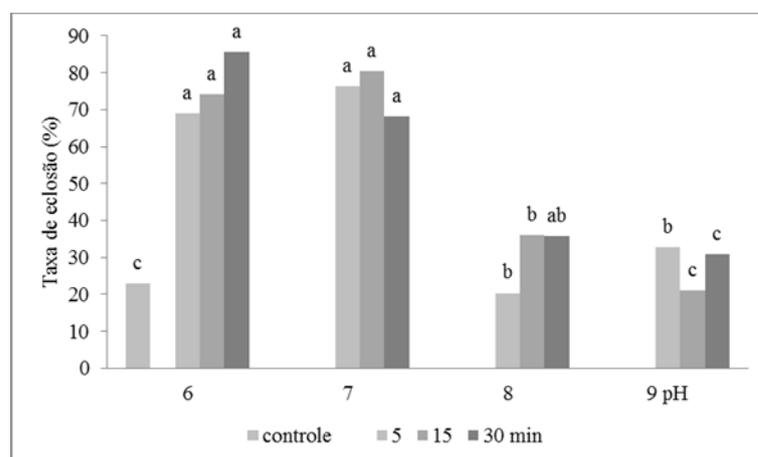


FIGURA 1. Relação da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempos de hidratação dos cistos de artêmia a soluções de distintos pH alterados por bicarbonato de sódio.

Os cistos de artêmia submetidos à solução de pH 6, nota-se que o tempo de exposição se adequa uma equação linear, demonstrando que quanto maior o tempo de exposição maior a taxa de eclosão. Já a exposição ao pH 7 em relação ao tempo se

adequaram a uma equação quadrática o que revela que para esta solução o ideal é a exposição de no máximo 15 minutos. Para o pH 8 e 9 apesar das baixas taxas de eclosão o aumento do tempo de exposição da solução promoveu aumento das taxas de eclosão (Figura 2c, d).

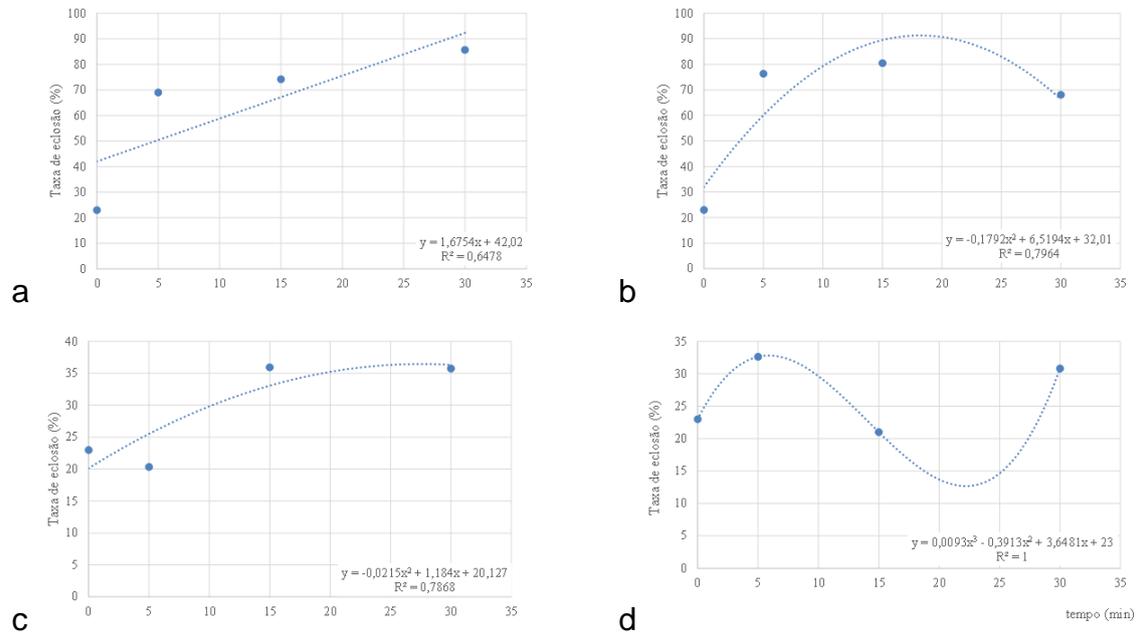


FIGURA 2. Análise de regressão da taxa de eclosão (%) sobre o tempo de hidratação dos cistos de artêmia a solução de pH 6(a), solução de pH 7(b), solução de pH 8 (c) e solução de pH 9 (d).

O teste de toxicidade de naúplios de artemia submetidos a soluções com diferentes pH promoveu um ajuste a a análise gráfica conferindo uma DL50 = 7,27 (Figura 3).

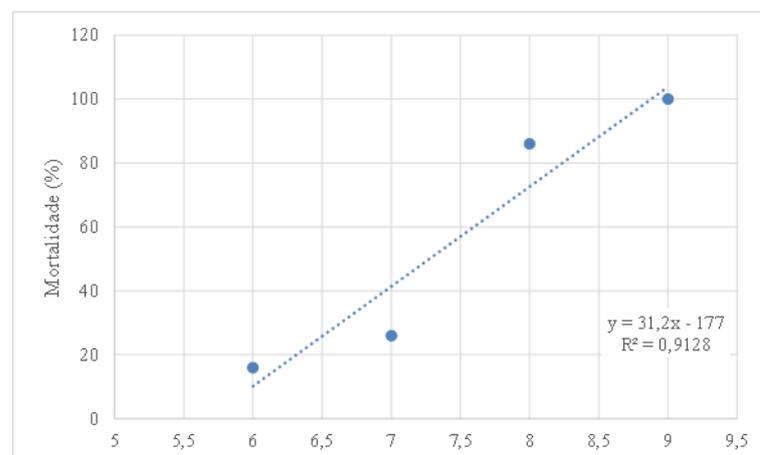


FIGURA 6. Percentual de mortalidade de naúplios de artêmia submetidos a soluções salinas com diferentes pH alterados com bicarbonato de sódio.

As Observou-se que em uma hora de exposição ao pH 9 apresentou baixas taxas de sobrevivência e esta tendência foi observada em todos os tempos analisados (Tabela 2). Estes resultados demonstram que o bicarbonato de sódio foi tóxico para naúplios de artêmia.

TABELA 1. Média (\pm DP) da sobrevivência dos naúplios de artêmia submetidos a soluções salina com diferentes pH alterados com bicarbonato de sódio.

Tempo de exposição		Sobrevivência (ml)	Sobrevivência total (%)
1 hora	pH6	10,0 \pm 0,00 a	100
	pH7	10,0 \pm 0,00 a	100
	pH8	7,8 \pm 1,30 b	78
	pH9	6,2 \pm 1,64 b	62
6 horas	pH6	10,0 \pm 0,00 a	100
	pH7	10,0 \pm 0,00 a	100
	pH8	5,6 \pm 1,81 b	56
	pH9	2,8 \pm 1,09 c	28
12 horas	pH6	10,0 \pm 0,00 a	100
	pH7	8,8 \pm 0,83 ab	88
	pH8	5,2 \pm 1,78 b	52
	pH9	0,6 \pm 0,54 c	6
24 horas	pH6	8,4 \pm 0,54 ab	84
	pH7	7,4 \pm 1,14 b	74
	pH8	1,4 \pm 1,34 c	11
	pH9	0,0 \pm 0,00 c	0

Letras distintas reportam diferença estatística em cada tempo de exposição ($p > 0,05$).

DISCUSSÃO

A baixa taxa de eclosão apresentada no grupo controle pode estar relacionada a falta de hidratação inicial do cisto. Alguns trabalhos demonstram que a utilização de substâncias para o processo de descapsulação confere maiores taxas de eclosão dos cistos de artêmia, Beux; Zaniboni-Filho (2006), Da Rocha et al. (2005), contudo com algumas ressalvas de toxicidade (Warland; Warland, 2004).

A utilização de soluções de diferentes pH para eclosão de artêmia é benéfico na taxa de eclosão Lavens; Sorgeloos, (1996), neste estudo em particular se procurou encontrar uma solução que auxilie no processo de descapsulação. Ressalta-se, no entanto que o bicarbonato de sódio pode ter promovido desidratação dos cistos de artêmia por se tratar de um sal (Furtado, 2011). O Bicarbonato de Sódio é um

regulador de alcalinidade e pH e pode ser usado como tampão contra mudanças bruscas de pH e aumentar a alcalinidade total do sistema de cultivo de peixes (De Queiroz; Boeira, 2006).

As baixas taxas de eclosão são observadas para cistos de artêmia expostas a alta concentração de hipoclorito (Da Rocha et al., 2005). Neste estudo observou-se que a exposição dos cistos de artêmia a pH 8 e 9 promoveram baixas taxas de eclosão, isto pode estar associado a permeabilidade do cisto e a possível mortalidade desta quando exposto a estas concentrações de bicarbonato. Na literatura há relatos que as melhores taxas de eclosão são observadas com pH em torno de 8 e 8,5 Lavens; Sorgeloos, (1996) ressaltasse no entanto que as soluções utilizadas para alteração de pH são determinantes para o sucesso da taxa de eclosão. Segundo Lavens; Sorgeloos, (1996), descreve que para utilização de bicarbonato de sódio como produto para alterar o pH deve ser de no máximo 2 g/L-1. A baixa de toxicidade do pH 6 e 7 frente aos náuplios de artêmia está relacionado a concentração de bicarbonato de sódio utilizado nas soluções. Observa-se que quantidades superiores a 2 g.L-1 conferem problemas de utilização deste produto (Lavens; Sorgeloos, 1996).

No entanto, as substâncias descapsulantes utilizadas também apresentam algum grau de toxicidade como o hipoclorito Warland; Warland, (2004) e cloro (Da Rocha et al., 2005).

CONCLUSÃO

Conclui-se que soluções de pH podem ser utilizadas como descapsulantes para Artêmia. O tempo de exposição dos cistos de artêmia apresentam co-relação com a solução. Com base nos resultados desse estudo recomenda-se a utilização de pH 6 com tempo de 30min de exposição dos cistos de artêmia. O teste de toxicidade ao pH alterado com bicarbonato de sódio foi obtido uma DL50 para o pH 7,27. Sendo, portanto o pH 9 alterado pelo bicarbonato de sódio letal para náuplios de artêmia. Além dos resultados alcançados neste trabalho, recomenda-se que outros estudos devem ser realizados com substâncias que alterem o pH, buscando melhorar os resultados de eclosão de náuplios de artêmia.

REFERÊNCIAS

BEUX, L.F.; ZANIBONI FILHO, E. Influência da baixa salinidade na sobrevivência de náuplios de *Artemia* sp. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 32, n. 1, p. 73-77, 2018.

DA ROCHA, A.G.; Krause, C.S.; Vieira, E.D.S.; de Freitas, F.; Caimi, L.C.; Fonseca, R.R.V.P. Avaliação dos efeitos de diferentes concentrações de cloro na descapsulação e eclosão de larvas de *Artemia* (*Artemia* sp.). **Scientia agraria**, v. 6, n. 1, p. 41-45, 2005. <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v6i1.4592>

FURTADO, P.S.O efeito do hidróxido de cálcio, do carbonato e do bicarbonato de sódio na qualidade de água e no desempenho zootécnico do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado com tecnologia de bioflocos (BFT). Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011. <http://repositorio.furg.br/handle/1/2412>

LAVENS, P.; Sorgeloos, P. **Manual on the production and use of live food for aquaculture**. Food and Agriculture Organization (FAO), 1996. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/003/w3732e/w3732e00.pdf>

DE QUEIROZ, J.F.; BOEIRA, R.C. Calagem e controle da acidez dos viveiros de aqüicultura. **Embrapa Meio Ambiente-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2006. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/83130>

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965. <https://doi.org/10.2307/2333709>

TACON, A.G. Biosecure shrimp feeds and feeding practices: guidelines for future development. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 48, n. 3, p. 381-392, 2017. <https://doi.org/10.1111/jwas.12406>

TAKAHASHI, L.S.; da SILVA, T.V.; Fernandes, J.B.K.; Biller, J.D.; de SANDRE, L.C.G. Efeito do tipo de alimento no desempenho produtivo de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, n. 1, p. 1-8, 2018.

TAKATA, R. Produção de juvenis de *Artemia franciscana* e análise da utilização de dietas vivas e inertes na larvicultura intensiva do pintado *Pseudoplatystoma coruscans*. 2007. 117 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2007. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/144122>.

UT, V.N.; Le Vay, L.; Nghia, T.T.; Hong Hanh, T.T. Development of nursery culture techniques for the mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador). **Aquaculture research**, v. 38, n. 14, p. 1563-1568, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01608.x>

ZUANON, J.A.S.; SALARO, A.L.; FURUYA, W.M. Produção e nutrição de peixes ornamentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 1, p. 165-174, 2011.

WARLAND, T.; WARLAND, D. (2004). *Artemia – descapsulation, hatching, feeding, on-growing and enrichment*, South Australian Seahorse Marine Services. Disponível: <http://www.ozreef.org/reference/artemia.html>